

Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar

**A béta-hidroxi-vajsav meghatározása tehenekben az ellés
körüli időszakban**

Szakdolgozat

Dr. Török Miklós

Témavezető:

Prof. Dr. habil Brydl Endre CSc, Dipl. ECBHM Professor Emeritus

**Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar
Állathigiéniai, állomány-egészségtani és állatorvosi etológiai tanszék**

Budapest, 2015.

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK.....	i
1. BEVEZETÉS	1
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	2
2.1. A ketonanyagok felhalmozódását elősegítő tényezők	2
2.2. Élettani, biokémiai áttekintés.....	4
2.3. A magas ketonanyagszint élettani következményei.....	5
3. A VIZSGÁLATOK ANYAGA ÉS MÓDSZEREI.....	6
3.1. Általános áttekintés.....	6
3.1.1. Vizsgálati módszerek.....	7
3.1.2. A mintavétel időpontjának kiválasztása	8
3.2. Saját vizsgálatok	8
3.2.1. A helyszín bemutatása.....	8
3.2.2. A BHB mérési módszer és annak technológiába illesztése	10
3.2.3. Az első mérési sorozat.....	11
3.2.4. A második mérési sorozat	12
4. AZ EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE	15
4.1.1. Az első mérési sorozat értékelése	15
4.1.2. Életkor és hyperketonémia prevalencia összefüggése	15
4.1.3. Szárazonállás időtartama és hyperketonémia prevalencia összefüggése	15
4.1.4. Az alkalmazott gyógykezelés eredményessége	16
4.1.5. Ellés körüli megbetegedések aránya a normális és az emelkedett ketonanyagszintű populációban	16
4.1.6. Második mérési sorozat értékelése és határérték meghatározás	17
4.1.7. Hyperketonémia prevalenciájának időbeli eloszlása	17
4.2. A hyperketonémia előfordulási gyakoriságának csökkentése, a kialakult kóros állapot gyógykezelése	18
5. ÖSSZEFOGLALÁS.....	30
6. SUMMARY	32
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	34
8. IRODALOMJEGYZÉK.....	35

RÖVIDÍTÉSEK

AST:	aszpartát-aminotranszferáz
BHB:	béta-hidroxi-vajsav
CoA:	Koenzim A
FFA:	szabad zsírsavak
IGF-1:	inzulinszerű növekedési faktor hormon
IGFBP2:	inzulinszerű növekedési faktor hormon kötőfehérjéje
NEFA:	nem észterifikált (szabad) zsírsavak
STH:	növekedési hormon
TMR:	teljes takarmánykeverék

1. BEVEZETÉS

„Tartósan gazdaságosan termelni csak egészséges állomány képes.” (Brydl, 2012, Kovács Ferenc után)

Az állathigiénia tudományágának kulcsmondata ösztönzött, amikor mélyebben elkezdtem foglalkozni a tejlő tehének ellés körüli időszakában felmerülő egészségügyi problémáival. A tejlő tehén életében talán a legkockázatosabb időszak ez a néhány hét, amikor számos külső környezeti és belső élettani változás éri az állatot. A változásokra a szervezet kompenzációs mechanizmusai reagálnak: ha ezen mechanizmusok jól működnek és a szervezetet érő behatások tolerálható mértékűek, akkor az állat egészséges marad (feltéve, ha a változások előtt is az volt) és felkészültté válik a genetikai képességeinek megfelelő termelés megvalósítására. Abban az esetben, ha a szervezetet érő behatások túlzott mértékűek, a kompenzációs mechanizmusok kapacitása kimerül, vagy éppenséggel azok elégtelenül működnek, termelésbeli kieséssel illetve klinikai tünetekben is megnyilvánuló betegségek kialakulásával fogunk szembesülni.

Az életműködések fenntartásához és a termeléshez energiára van szüksége a szervezetnek. A tejlő tehén energiaigénye legalább háromszorosa a szárazon álló tehénének, ezért könnyen belátható, hogy a laktáció megindulásakor drámai változásoknak kell bekövetkeznie ahhoz, hogy ez az igény kielégítésre kerüljön. A megnövekedett energiaszükséglet fedezése egyrészt külső forrásból, az elfogyasztott takarmány tápanyagaiból lehetséges, másrészt a szervezet raktáraiból, mozgósító kompenzációs folyamatok által. Kedvező esetben e két forrás együttműködése zökkenőmentessé teszi azt az időszakot, míg a kívülről bevitt energia mennyisége eléri a megnövekedett szükséglet által megkívánt mértéket.

Kedvezőtlen esetben a kívülről bevitt energiához képest túlsúlyba kerül a szervezetből mozgósított energiaforrás, ebben az esetben kóros kompenzációról beszélhetünk. Ez a kezdeti időszakban jellegzetes klinikai tünetekkel még nem jár, ezért nem könnyű felismerni. Kiegészítő klinikai laboratóriumi módszerekkel viszont jól felderíthető ez a kóros állapot, a kezelés mielőbbi megkezdése pedig a tapasztalatok szerint javítja a prognózist.

A szervezet energiahiányos állapota a védekezőképesség csökkenését okozhatja. Ezen föltevés alapján reméltem, hogy az energiahiány gyors felderítésével és az elhárítására irányuló kezeléssel számos szövődményesnek tekinthető betegség kártételét tudom majd csökkenteni és egészségesebb egyedeket tudok a gazdaságos termelés szolgálatába állítani. Dolgozatom többek között ezen munka során szerzett tapasztalatokat próbálja összegezni.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A tehenek ketózisának definíciója: „az ellés után gyakori, hypoglykaemiával és a ketonanyagok felhalmozódásával járó produkciós betegség” (Gaál, 2013). A megállapítással kapcsolatban fenntartásaim vannak: a produkciós betegség nehezen értelmezhető kifejezés, a ketózis miatt beteg tehen ugyanis nem produkál, nem termel. Duffield (Duffield, 2002) szerint a ketózis klinikai tünetekben meg nem nyilvánuló formája - a szubklinikai ketózis - nem tekinthető betegségnek, hanem inkább egy olyan állapot, amely a vérben keringő ketonanyagok megnövekedett szintjével jellemezhető. A ketonanyagok (aceton, acetecetsav, béta-hidroxi-vajsav) természetes részei a kérődző állatok intermedier anyagcseréjének és fontos energiaforrássul szolgálnak a perifériás szövetek számára abban az esetben, amikor az elérhető szénhidrátok mennyisége lecsökken a szervezetben. Ez az állapot specifikus tüneteket nem okoz, de gyakran fordul elő ellés körül jelentkező megbetegedésekkel (oltógyomor-helyzetváltozás, méhgyulladás, tőgygyulladás, sántaság) együtt, ezért feltételezhető, hogy hajlamosító tényezőként szerepel ezen betegségek kialakulása során.

A klinikai ketózis során a szénhidrátokból származó energiaforrások hiánya és az oxidatív és acidotikus ketonanyagok okozzák a klinikai tüneteket: az állatok rossz közérzetét és elsősorban idegrendszeri zavarokat. Kórjelző lehet a jellegzetes acetonszagú lehellet.

Tapasztalataim szerint klinikai ketózis jól menedzselt állományokban elvétve fordul elő.

2.1. A ketonanyagok felhalmozódását elősegítő tényezők

Az irodalom nem egységes a ketózisra való hajlam örökölhetőségével kapcsolatban. Tetens és munkatársai szerint (Tetens, 2015) genetikai különbségek vannak a vérben lévő alacsony denzitású lipoproteinek által szállított foszfatidilkolin felvételi képességében és ennek fontos szerepe lehet a korai laktációban jelentkező metabolikus zavarokban. A hyperketonémia örökölhetőségével kapcsolatban van der Drift és munkatársai (van der Drift, 2012) végeztek vizsgálatokat, melyek során megállapították, hogy az örökölhetőség alacsony, ennek ellenére a tenyésztési programok során előnyös, ha a hyperketonémiára való hajlammal szemben szelektálnak, de kihangsúlyozzák a takarmányozási és a farm-menedzsment tényezők fontosságát a ketózis kialakulásában.

A tartási és takarmányozási rendszerek eltérései a hyperketonémia előfordulására is kihatnak. Új-Zélandi legeltetett tejelő állományban (Compton, 2015) az ellés utáni 5 hétben az állatok 68%-án állapították meg szubklinikai ketózist. Itt az idősebb és gyengébb kondíciójú állatok voltak gyakrabban érintettek. Organikusan tartott teheneknél (Abuelo, 2014) magasabb a

szubklinikai ketózis aránya, de ezzel együtt is egészségesebbnek bizonyultak a hagyományos istállózott tartásmódú fajtársaikhoz képest. Argentín vizsgálatban (Garro, 2013) arra a következtetésre jutottak, hogy legeltetési technológia alkalmazása során magasabb a ketózisveszély. Hollandiában (Vanholder, 2014) közepes és kövér kondíciójú tehenekben gyakrabban alakult ki szubklinikai és klinikai ketózis, mint a soványakban. Itt is megállapították, hogy az idősebb teheneken gyakrabban fordul elő, mint az először elletteken, valamint az év első háromnegyedében gyakoribb, mint az utolsó három hónapban. Hasonló következtetésre jut egy Nyugat-Európában végzett felmérés (BergeVertenten, 2014) az évszakos eltérés és az idősebb állatok érintettsége tekintetében. Figyelemre méltó az a megállapítása, mely szerint a nagyobb állományméretnél alacsonyabb a hyperketonémia előfordulási aránya, ez valószínűleg összefügg azzal, hogy ezen állományokban kiterjedtebben alkalmazzák a teljesen összekevert takarmányt (TMR), megelőzve ezzel az állatok takarmányválogatását. A magas energiaszinten takarmányozott (Schulz, 2014) szárazonálló teheneknél ellésük után több volt a hyperketonémiás, a májuk az elzsírosodás jeleit mutatta, magasabb NEFA, AST, tejszír értékeket mértek náluk, mint az alacsonyabb energiaszinten takarmányozott társaikon, de a szubklinikai ketózis ellenére a tejtermelésük nem csökkent. Ehhez hasonló következtetésre jutott az a vizsgálat (Vickers, 2012), melyben az ellés előtt megemelt abrakadagot adtak a teheneknek. A kontrol állatokhoz képest ez megnövelte a szubklinikai ketózis előfordulási arányát, viszont többlet tejtermelést mértek az abrakolt csoportnál. Hátrányként a romló vemhesülési arányt találták. Rukkwamsuk és munkatársai (Rukkwamsuk, 1999) a szárazonállási periódusban túletetett és túlzott kondíciójú tehenek ellés utáni élettani paramétereit vizsgálták. Azt tapasztalták, hogy ezen tehenek ellés után étvágytalanok, ezért a negatív energiamérlegük kompenzálására fokozottan bontják a zsír és fehérjeraktáraikat. A vérük NEFA szintje megnő, triacil-glicerol lerakódás jelentkezik a májban, ami ezáltal elzsírosodik. Az elhízáshoz gyakrabban társulnak az ellés után jellemző megbetegedések (ketózis, ellési bénulás, oltógyomor-helyzetváltozás). Ezen állatokban csökken a vér glükóz- és inzulin-koncentrációja. Az elégtelen immunműködés a fertőzésekkel szembeni ellenállóképesség csökkenését vonja maga után. A későbbiekben szaporodási problémák jelentkeznek: késik az első észrevehető ivarzás, késik az első ovuláció, romlik a fogamzási arány, ezen okok miatt megnyúlik a két ellés között eltelt idő hossza. Feltételezik, hogy a megnövekedett NEFA koncentráció közvetlenül károsítja a petefészek-működést. A rövidebb szárazonállási idő, vagy a szárazonállás teljes elhagyása a hyperketonémia előfordulását csökkentette egy holland retrospektív vizsgálat (van Knegsel, 2013) szerint.

2.2. Élettani, biokémiai áttekintés, „A zsírszövetből szabad zsírsavak (FFA) jutnak a májba, ahol azokból a béta-oxidáció során aktív ecetsav-molekulák (acetyl-CoA) hasadnak le. Oxidációjuk a citromsavkörben energiát szolgáltat, ha a citrátkörbe való belépéshez szükséges oxálecetsav jelen van.” A tejcukorszintézishez nagy mennyiségű glükózra van szükség, amit a szervezet a glükoneogenezis folyamatában állít elő. „A glükoneogenezis elvonja az oxálecetsavat a zsírbontásból származó acetyl-CoA-molekuláktól, ezért azok kémiai partner hiányában egy metabolikus söntnek tekinthető úton acetoacetyl-CoA-vá kondenzálódnak, majd ketonanyagokká alakulnak.” (Gaál, 2013) Acetyl-CoA molekulák létrejöhetnek még a bendőből felszívódó ecetsavból, béta-hidroxi-vajsav pedig a bendőből felszívódó és a bendőhámiban átalakuló vajsavból is. Fokozott szubklinikai ketózis kockázatot találtak Vicente és munkatársai (Vicente, 2014) nagy vajsavtartalmú tömegtakarmány etetése során. Az ellés körüli időben megváltozik a bendőflóra faji összetétele, a tejsavtermelők száma emelkedik, az illózsírsav-előállítók száma lecsökken, ugyan ez jellemzi a hyperketonémiás tehének bendőflóra összetételét is (Wang, 2012). Egy etetési kísérletben azt tapasztalták, hogy (DeFrain, 2004) a bendőben emésztődő tejcukorból vajsav keletkezik, amit a bendőhám béta-hidroxi vajsavvá alakít, ám ez érdemben nem növeli a szubklinikai ketózis kockázatát.

Az ellés körüli időszak hormonális változásai: a szomatotrop hormon (STH), a glükagon, és a noradrenalin szintjének megemelkedése a perifériás zsírszövetben lebontó folyamatokat indukálnak, fokozott mennyiségű nem észterifikált szabad zsírsav (NEFA) kerül a vérkeringésbe, melyből aktivált ecetsav molekulák (acetyl-CoA) keletkeznek, elsősorban a májban. Az energiatermelő citrátkörbe akkor tudnak bekapcsolódni, ha elegendő koncentrációban jelen van az oxálecetsav. Oxálecetsav piroszőlősavból és foszfoenol-piroszőlősavból tud képződni enzimikus reakcióval. STH hatására a májban IGF-1 hormon szintetizálódik, mely hormon csökkenti a piruvát-karboxiláz és foszfoenol-piruvát-karboxikináz enzimek expresszióját (Wang, 2011), ezáltal a piroszőlősav-oxálecetsav átalakulás mértéke lecsökken, a piroszőlősav a glükoneogenezis folyamata felé irányítódik, a máj felveszi a glükózt és glikogént szintetizál belőle. A glükagon és a kortizol hormonok is a glükoneogenezist támogatják. A reakciópartner nélkül maradt aktivált ecetsav-molekulák nagyon reakcióképes vegyületek, egymással összekapcsolódva acetecetsavvá, majd ebből acetonná és béta-hidroxi-vajsavvá (BHB) alakulnak. A ketonanyagok képződése lassul, ha a bendőből származó propionsav van a reakció-környezetben, mert ez a vegyület konkurál az aktiváló szerepet játszó koenzimA kötőhelyéért. Az inzulin hormon gátolja a glükoneogenezist és a perifériás zsírszövet bontását is, ezáltal antiketogén hatásúnak tekinthető. A ketózis által érintett tehenknél a vér glükóz-, leptin-, inzulin-szintje és az

inzulin/glükagon aránya alacsonyabb, a NEFA és BHB szintje pedig magasabb, mint az alacsonyabb ketonszintű társaiké (Xia, 2012). A leptin hormon és a hormon-szenzitív lipáz enzim képződése kisebb mértékű a ketózis által érintett tehenek zsírszövetében, ez egyféle adaptációs válasznak is tekinthető, mely ellene hat az étvágytalanságnak és a fokozott zsírbontásnak. További adaptációs válasznak tekinthető a BHB önállóan jelentkező zsírmobilizációt csökkentő hatása, melyet in vitro kísérletben tapasztaltak (van der Drift, 2012), bár ez a hatás a laktáció első hetében kevésbé kifejezett.

2.3. A magas ketonanyagszint élettani következményei

A ketonanyagok a szervezet számára oxidatív stresszt okoznak, gyulladós folyamatokat generálhatnak (Shi, 2014). A ketonanyagok gyorsítják a máj véráramlását, csökkentik a citokin-szekréciót, mely anyagok a bakteriális és virális fertőzések elleni védekezésben kapnak szerepet (Ho, 2013). Ha gyorsul a máj véráramlása, valószínűleg fokozódik a szteroidhormonok eliminációja is, ezzel összefügghetnek a ketózisban érintett állatok szaporodásbiológiai zavarai. In vitro vizsgálatokban (Suriyasathaporn, 1999) a ketonémiás tehenekből származó fehérvérsejtek kemotaxisos aktivitása gyengébb volt, mint az alacsony ketonszintű tehenekből származó sejteké, ez a különbség csak tovább nőtt, ha ketotikus közegben vizsgálták az aktivitásukat. A BHB egy másik vizsgálatban (Cerone, 2007) a tejből származó fehérvérsejteknek csökkentette az oxidatív aktivitását, fagocitózis- és kemotaxis-képességét. Ebből arra lehet következtetni, hogy a tejmirigy fogékonysága nagyobb a fertőzésekre ketotikus állapotban. Az ellés utáni involúciós problémák a negatív energiamérleg következtében létrejövő elégtelen immunműködés és gyulladós hajlam miatt alakulhatnak ki (LeBlanc, 2012). Az anyagforgalmilag kevésbé terhelt állományokban kevesebb a laminitis és a fertőző eredetű sántaság (Nielsen, 2013). Több európai országot érintő vizsgálat eredménye szerint az emelkedett BHB-szinthez gyakrabban társul méhgyulladás, klinikai ketózis, oltógyomor-helyzetváltozás és sántaság (Suthar, 2013).

A ketonanyagok eliminációjára extrahepatikusan van lehetőség. A vegyületek lipofil tulajdonságúak, ezért inzulin jelenléte nélkül is be tudnak lépni bármely sejtbe. Azon perifériás szövetekben (pl. izomszövet), ahol nem történik glükoneogenezis, megfelelő mennyiségű oxálcetsav áll rendelkezésre ahhoz, hogy a vegyület beléphessen a citrátkörbe és energetikailag értékesüljön. Néhány napos látenciát követően mitokondriális transzferáz enzim aktiválódik az éhezési szignál hatására, mely segíti, hogy az aktivált ketonvegyület béta-oxidációban járuljon hozzá a sejt energiaellátásához.

3. A VIZSGÁLATOK ANYAGA ÉS MÓDSZEREI

3.1. Általános áttekintés

A ketonémia egy olyan kóros állapot, amely klinikai vizsgálattal nem, vagy csak nagyon kevés esetben állapítható meg. Ennélfogva csak laboratóriumi, klinikai laboratóriumi illetve műszeres vizsgálattal diagnosztizálható.

A ketonanyagok direkt meghatározásán kívül több alternatív módszer létezik az energiaháztartás zavarának megállapítására. Ellés előtti időszakban a vér NEFA koncentrációjának meghatározása adja a leghitelesebb információt (Ospina, 2010). Teoretikusan a nem kielégítő metabolikus adaptáció korai előrejelzője lehet az IGF-1 és kötőfehérjéje, az IGFBP2 vérszintjének meghatározása az ellést megelőzően (Piechotta, 2015). Összefüggéseket próbáltak felfedezni a próbafejések során mért tejzsír és tejfehérje aránya és a metabolikus állapot terheltsége között, de a vizsgálatok arra mutattak rá, hogy a ketózis csupán ebből az adatból nem ismerhető fel egyértelműen (Duffield, 1997). Az ellés előtti viselkedés megfigyelése során a későbbi energiaforgalmi zavart előre jelezte a rövidebb evési idő, a kevesebb etetőasztal-látogatási alkalom, illetve a csökkent napi szárazanyag-felvétel (Goldhawk, 2009).

A ketonanyagok valamennyi testfolyadékban megtalálhatók, koncentrációjuk viszont eltér a vérben, a tejben és a vizeletben. Anyagminőségük szerint is jelentkeznek eltérések és összefüggések egyaránt. Az acetón és az acetecetsav vérszintje jól korrelál egymással (Enjalbert, 2001). A tej és a vér acetonszintje között is szoros az összefüggés. A tej és a vér BHB szintje rosszul korrelál az egyéb ketontestek szintjével. Ezen összefüggéseket és különbségeket figyelembe kell venni a diagnosztikai próbák megbízhatóságának értékelése során. Az állatorvosi gyakorlatban használt, a ketonanyagok testfolyadékokban mérhető relatív arányát leíró tejketon : vérketon : vizeletketon = 1 : 5 : 10 szabályt az előbb leírtak miatt némi fenntartással kell kezelnünk.

Vizelet vizsgálata: spontán ürítés esetén a mintavétel egyszerű, de időigényes lehet, katéteres vizeletnyerés gyakorlatot, segéderőt és megfelelő rögzítést feltételez, valamint frissen ellett tehén esetén fertőzésveszélyt is hordoz magával. A vizeletben a ketonanyagok nagy koncentrációban lehetnek jelen, átmeneti éhezéssel állapot vagy a vizelet koncentrációja esetén sok fals pozitív vizsgálati lelet adódhat.

Tej vizsgálata: a mintavétel a fejés során egyszerűen kivitelezhető. A tej ketonanyagtartalma jobban korrelál a vérben lévő szinthez, mint a vizelet esetében, azonban a tejben mérhető szint

lényegesen alacsonyabb, gyakran előfordul, hogy a kimutathatósági szint alatti. Emiatt gyakori lehet a fals negatív vizsgálati lelet.

Vérplazma vizsgálata: a vérvétel gyakorlattal viszonylag könnyen kivitelezhető, jó ha megfelelően lehet hozzá rögzíteni az állatot, hogy a megfelelő mintamennyiséghez hozzá lehessen jutni. A minta feldolgozása idő és eszközigényes, ezért nem gyakorlatias a módszer. Hüen tükrözi a vérben keringő ketonanyag szintjét. A laboratóriumi fotometriás módszer ezt a mintatípust használja.

Teljes vér vizsgálata: csak speciális, erre a célra konstruált mérőeszközzel vizsgálható. A mintavétel gyakorlattal csak minimális rögzítést igényel, nagyon kis mintamennyiség szükséges a vizsgálathoz. Hüen tükrözi a vérben keringő ketonanyag szintjét, számszerű eredményt ad.

3.1.1. Vizsgálati módszerek

A ketonanyagok közül az acetecetsav és kisebb mértékben az acetone színes termék keletkezése közben reagál a nitroprusszid-nátriummal. A szín intenzitása jelzi a reagáló ketonanyag mennyiségét. Különböző segédanyagokkal kiegészítve több különféle elnevezésű reagenst állítanak elő: Ross-reagens, Rothera-reagens, Bioketon por, Utrecht por, Ketocheck por. Hasonló elven működik a Ketostix vizelet tesztsík, vagy a tej vizsgálatára elkészített Pink-teszt. Alkalmazásuk korlátja, hogy a BHB-t nem mutatják ki. A vizsgált minta anyagminősége befolyásolja specificitását és az érzékenységüket, legjobb esetben is csak szemikvantitatív meghatározást tesznek lehetővé.

További színreakciót adó kémiai módszerek a ketonanyagok kimutatására: vas(III)-kloridos tesztek (Gerhardt-teszt) vizeletből acetecetsav kimutatására, szalicilaldehides tesztek vérből, vizeletből, tejből acetontartalom meghatározására. (Baticz, 2002)

Enzimes reakción alapuló BHB és acetecetsav kimutatásra is lehetőség van vérből, vizeletből és tejből egyaránt. A korábbi tesztek színreakció elbírálásán alapultak, az újabb fejlesztések, a BHB mikrofolyadék bioszenzorok (Weng, 2015) a kémiai reakció során bekövetkező elektromos változásokat mérik.

A ketonanyagok mennyiségi meghatározására laboratóriumi körülmények között használt eljárások: spektrofotometria, enzimes meghatározás, fluorimetriás detektálás, kolorimetriás mérés, folyadék- és gáz-kromatográfia.

A vizsgálati módszerek kiválasztása során több szempontot is figyelembe vehetünk. Ha a célunk gyors egyedi diagnózishoz jutás az állat szükség szerint végzendő azonnali gyógykezelése érdekében, akkor a tejből és a vérből az állat mellett elvégezhető tesztek

ajánlhatóak. A vizeletből elvégzett próbáknak a szenzitivitása magas, de a specificitása alacsony, így sok fals pozitív egyed kerülhetne feleslegesen gyógykezelésre. Amennyiben a kóros állapot állományon belüli elterjedtségét és súlyosságát kívánjuk felderíteni, úgy a mennyiségi meghatározásra alkalmas laboratóriumi vizsgálatok elvégzése, illetve az istállópróbaként elvégezhető műszeres mérések használata javasolt. A vizelet tesztsík és a kémiai reagensek használata mellett szól az alacsony árú az enzimreakción alapuló tesztsíkokhoz képest.

3.1.2. A mintavétel időpontjának kiválasztása

A gyakorlati tapasztalatokon alapuló ketonuriás index (Gaál, 2013) elve szerint az ellést megelőzően minél előbb jelentkezik a ketonanyagok felhalmozódása, annál súlyosabb következményekkel számolhatunk, az ellés utáni időszakban pedig az elléstől távolodva egyre nagyobb mértékű ürítést fogad el természetesként a rendszer. A test zsírtartalékainak mozgósítását a NEFA értékek emelkedése jellemzi, a zsírsavak lebomlása ezt követi, a zsírsav bomlási termékek esetleges aggregálódása időben ezen a biokémiai történések után jöhet létre. Ezt az időbeli eltolódást figyelembe kell vennünk a vizsgálati rendszerünk kialakítása során. Az ellés utáni első napon elvéve találtam olyan egyedet, amelynek a BHB szintje a határértéket meghaladta, az ellés utáni második napon mérve már előfordult emelkedett szint, az ellés utáni hetedik nap körül vizsgálva lényegesen gyakoribbá vált. Ha a célunk a terhelt egyedek mielőbbi megtalálása és gyógykezelése, akkor az elléshez a lehető legközelebb indokolt vizsgálnunk, figyelembe véve a fokozott zsírmobilizáció és a ketonanyagok megjelenése közötti időeltolódást. Irodalmi adatok (McArt, 2013) szerint a hyperketonémia legnagyobb prevalenciája az ellés utáni ötödik napon van, ezért ha az állományban való elterjedtségére keresünk adatokat, ezen időpont körül kell a vizsgálatot végeznünk. A napszak és a takarmány kiosztási ideje is befolyással lehet a mérési eredményekre, ezért a jobb összehasonlíthatóság érdekében törekedni kell az azonos időintervallumban végzett mintavételekre a napi munkaszervezés folyamán.

3.2. Saját vizsgálatok

3.2.1. A helyszín bemutatása

Munkámat a Gorzsai Mezőgazdasági Zrt. központi tehenészeti telepén folytattam. A telep az ország délkeleti szegletében, Csongrád megye középső részén található. 1989-ben adták át, a létesítmények azóta érdemben nem lettek felújítva. Az állatok kötetlen tartásmódúak, holstein

fríz fajtájúak, elhelyezésükre 10 termelőcsoportban 960 pihenőboxos férőhely áll rendelkezésükre három oldalról zárt, a déli oldal felé nyitott viszonylag alacsony belmagasságú istállókban. Az etető-felhajtó út merőlegesen helyezkedik el az istálló tengelyéhez képest, ez a karámrész fedetlen, emiatt az állatok táplálkozásuk során teljesen ki vannak téve az időjárásnak. A felhajtó út mögötti térrész burkolatlan karám, amelyet kedvezőtlen időjárási körülmények esetén villanypásztorral választanak le a tehenek életterétől. Karámonként három nyílt vizű itató gondoskodik az állatok vízigényének kielégítéséről. A telepen egy 32 állásos fejőházban a teljes állományt naponta háromszor fejik meg. Az állatoknak a távolabbi csoportokból fejésenként akár 600 métert is meg kell tenniük. A szárazonálló teheneknek és az előrehaladottan vemhes üszők számára nincsen a telepen megfelelően kialakított elhelyezési lehetőség: nyári időszakban kényszerlegelőkön, az év többi részében a telepen lévő használaton kívüli szénapajták alatt és kiürült beton silótéren tartják villanypásztorral korlátozva őket az elkóborlástól. Rendszeresen előfordul, hogy a szárazonálló tehenek kitörését a gondozók többlet tömegtakarmány nyújtásával próbálják megelőzni, ez az ellenőrzés nélküli etetés azonban túlkondícióhoz a tapasztalatok szerint nem vezet, inkább csak a mostoha körülmények okozta kondícióvesztést mérsékli. Az ellésre kiválogatott tehenek elhelyezése először szintén villanypásztoros karámban történik, majd tőgyelés alapján kerülnek be az elletőistállóba. Az elletőistállóban 10 kisebb bokszt található, eredetileg 6 tehen férőhelyigényének megfelelő méretben. A gyakorlatban 8 tehenet helyeznek el egy térrészre, melynek fedett részét szalmával almozzák. Az elletői 4 állásos fejőházhoz közelebb eső csoportokban tartják a már leellett teheneket, egy karámot fenntartanak az ellésre, a többi helyen a még szárazonálló tehenek nyernek elhelyezést. Általában egy további karámot leköt a termelőcsoportokból egészségügyi okok miatt kivett tehenek elhelyezése. Az elletőistállóban speciálisan kialakított rögzítési lehetőség nincsen, szükség esetén ezt türelemmel és találékonysággal igyekszünk pótolni. A zsúfoltságra jellemző, hogy a matematikailag 48 összférőhelyre nem ritkán 80 állat van az elletőben elhelyezve. Általánosságban elmondható, hogy a telep túl van népesítve, legalább 10 százalékkal a kívánatoshoz képest.

Az átlagos laktációs tejhozam 10.000 kg körül van, a tehenek átlagos élettartama 2,3 laktáció. A takarmányozás során kukorica-szilázst, cirok-szilázst, borsó- és búza szalmát, hangyasav-propionsav keverékkel tartósított nedvesen betárolt roppantott szemes kukoricát, darált szárított kukoricát, nedves répaszeletet, sörtörkölyt, extrahált napraforgódarát használnak fel. Lucerna- és kalászos szenázs, lucernaszéna és főleg a gypsészéna csak korlátozott mennyiségben hozzáférhető rendszerint. A vegetációs időszakban zöldtakarmányokkal

egészítik ki az ilyenkorra már megfogyatkozó takarmánykészletet. A vitamin és ásványianyag szükségletet, valamint a fehérjeforrások jelentős részét vásárolt kész táppal biztosítják. Az etetés naponta két alkalommal történik, önjáró és öntöltő, mérleggel ellátott etetőkocsi végzi a feladatot. A takarmány helyreigazítása technológia szerint naponta egy alkalommal, gépi erővel történik. A takarmányozásra jellemző a stabilitás hiánya és az önkényes eltérés az optimalizált recepturától.

A telepen Afifarm telepirányítási rendszer működik, a teheneket lépésszámlálóval ellátott lábscat-transzpanderrel azonosítják. Automatikus az adatgyűjtés a fejésenkénti tejhozamról, a tej elektromos vezetőképességéről és a mozgás-aktivitásról. Ez utóbbin alapul a szaporodásbiológiai gondozás ivarzásmegfigyelése, a külön ivarzásfigyelő szakembert nem alkalmaznak, a mesterséges termékenyítők alkalmasszerűen végzik ezt a tevékenységet is. Az éves átlagos termékenyítési index 3 körül van, a két ellés közötti idő 440 nap fölött. Az átlagos vemhesülést hozó őszi, téli és tavaszi hónapok után a nyár során az eredményesség jelentősen lecsökken, kevesebb az észlelt ivarzó és a termékenyítés, jelentősen megnő az embrionális mortalitás (vizsgálataink szerint a kialakult vemhességek egyharmadát érintve). Ezáltal a borjadzásban jelentős ciklikusság alakul ki: tavasszal kevés az ellés, majd a nyár elejétől dömping jellegűvé válik, leterhelve az amúgy is szűk keresztmetszetű elletőistállót, ezzel hozzájárulva az ellés körüli anyagforgalmi problémák kialakulásához.

3.2.2. A BHB mérési módszer és annak technológiába illesztése

A vizsgálatokat az Abbott cég által gyártott Optimum Xceed készülékkel kezdtem el, melyet az egyik gyógyszerforgalmazó cég képviselőjétől kaptam. A későbbi vizsgálat során a Novavet BHB mérőt is módomban volt kipróbálni, ekkor össze is hasonlítottam a két készülék tulajdonságait. A szakirodalomban állatorvosi alkalmazásban nem találtam az Optimum Xceed készülékről adatokat, viszont annál több hivatkozása van a Freestyle Precision, Precision Xtra készülékekkel végzett méréseknek. A gyártó cég azonos, a készülékek a feliratokat leszámítva külsőleg megegyeznek és hozzájuk használatos tesztcsíkok is kompatibilisek, ezért azt gondolom, hogy lényegében ugyan arról a tesztrendszeréről van szó, melyek más néven kerülnek forgalomba (1. kép). A szakirodalmi adatokat tehát alkalmazhatónak tekintem az általam használt készülékekre. Ezen adatok alapján úgy érzem, szerencsém volt, hogy ezt a készüléket használhattam munkám során. A Precision Xtra készülék működését hasonlították össze a Ketostix tesztcsík és Ketolac tejteszt mérési eredményeivel, valamint a standardnak tekintett szérumban BHB fotometriás meghatározással (Iwersen, 2009). Azt találták, hogy a Precision Xtra által adott eredmények legjobban a

szérum fotometriás mérés eredményeihez korreláltak. A Freestyle Precision és a Glucomen LX Plus készülékek működésének összehasonlítása során az előbbi készüléket találták pontosabbnak és megbízhatóbb eredményt adónak (Iwersen, 2013). Az Optimum béta-keton tesztcsíkok deklarált megbízhatósági értékei az alacsony (0,34 mmol/l) és közepes (2,36 mmol/l) mérési tartományban a szórás tekintetében egy mérési egységen belül (0.1 mmol/l) vannak, a magas (6,32 mmol/l) tartományban 2 mérési egységnél (0,2 mmol/l). Ezeket magam is leellenőriztem azonos minták többszöri lemérésével és meggyőződtem, hogy a mérési eredmények ismételtetésére vonatkozó állítások igazak. A készülék mérési tartománya 0,0 és 8,0 mmol/l BHB koncentráció között van. A Novavet BHB mérőhöz használt tesztcsíkról ilyen megbízhatósági információkat nem találtam. A két mérési rendszert párhuzamosan használva azt tapasztaltam, hogy a Novavet készülék mérési eredményei sokkal nagyobb szórásokat mutatnak azonos mintából vizsgálva. Talán ez annak tulajdonítható, hogy sokkal kisebb mintamennyiséget fogad be a tesztcsík. A vérminták BHB-koncentrációját Abbott Freestyle Optimum Beta-Ketone tesztcsík felhasználásával, a vércukorszintet szűrőpróbaszerűen Abbott Optimum Plus tesztcsíkkal mértem meg.

3.2.3. Az első mérési sorozat

Az elletői technológia során az ellés utáni második napon rektális vizsgálattal állapítjuk meg a méh tónusát, az esetleges magzatburok-visszamaradást, az állat testhőmérsékletét, a bélsár konzisztenciáját, a bendő és a belek teltségét. A vizsgálat időszakában ehhez kapcsoltam hozzá a BHB vérszintjének ellenőrzését. A vérvételhez 2 ml-es egyszer használatos fecskendővel használtam 20 G 1'-es egyszer használatos tűvel, melyet előzetesen fiziológiás sóoldattal háromszorosára hígított Na-heparinnal (Heparibene injekció) öblítettem át. A vérvételhez a farokvénát használtam, a minta mennyisége kb. 1 ml. volt. A vizsgálatra a mintavételtől számított 30 percen belül sor került, a vért a fecskendőből - melyről a tűt lehúztam – cseppentettem föl a tesztcsíkra. A tesztcsík készülékbe helyezésekor aktiválódik a készülék, a vér felcseppentése után 10 másodpercet visszaszámol, majd a kijelzőjéről leolvasható a számszerű eredmény mmol/l koncentrációban. A mérési eredményeket és a klinikai megfigyeléseket az elletőben lévő tehenekről a gazdaságban vezetett nyilvántartásba jegyeztem föl. Ezen méréseket 2012. június 13. és 2012. szeptember 21. között végeztem, 270 frissen ellett tehén vizsgálata során ([2. kép](#)).

Korábbi tapasztalatokat alapul véve a 0,8 mmol/l feletti béta-hidroxi-vajsav koncentrációt tekintettem emelkedettnek, az ezen értéket meghaladó állatokat részesítettem gyógykezelésben. A kezelés enyhébb mértékű emelkedés (0,9-1,5 mmol/l) esetén 3 napon át

intramuszkulárisan adagolt 25 ml. Catosal injekció, ennél nagyobb értékek esetén, illetve klinikai tünetek jelentkezésekor a Catosal kúra mellett 500 ml. Sorbivert infúzió intravénás adagolása, illetve Energan Panzenstarter paszta szájon át történő beadása volt. Lehetőség szerint a kezelt egyedeken a kúra végeztével kontroll vérvizsgálatot végeztem. Szűrőpróbaszerűen megmértem a normál és emelkedett béta-hidroxi-vajsav koncentrációjú egyedek vércukorszintjét is.

3.2.4. A második mérési sorozat

Ez a mérési program 2013. október 8-tól 2014. július 15-ig tartott, egy gyógyszer-kipróbálási kísérlet részeként. A mintavételezés az ellés utáni 7. napon történt. A vérvételhez az előzőekhez hasonlóan 2 ml-es egyszer használatos fecskendőt használtam 20 G 1'-es egyszer használatos tűvel, de itt a heparinos átöblítést elhagytam, mert a minták azonnal mérésre kerültek a vérvételt követően. A vérvételhez a farokvénát használtam, a minta mennyisége kb. 1 ml. volt. A mérési eredményeket és a klinikai megfigyeléseket Excel táblázatban és az Afifarm telepírányítási rendszerben rögzítettem. A kísérlet során 598 frissen ellett tehén vérének BHB-koncentrációja került megállapításra. A mérések 85 százalékát az Optimum Xceed készülékkel Abbott Freestyle Optimum Beta-Ketone tesztsík felhasználásával végeztem, a mérési sorozat végén Novavet BHB mérőt és a hozzá való tesztsíkot használtam.



1. kép: Mikrofolyadék szenzoros BHB mérők



2. kép: Mintavétel, mérés és gyógykezelés

4. AZ EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE

4.1.1. Az első mérési sorozat értékelése

Az első mérési sorozatban a vérből mért BHB értékek 0,2 és 4,6 mmol/l koncentráció között alakultak. Az értékek megoszlását az [1. ábra](#) mutatja be. A normál eloszlás és az ezt meghaladó értékek alapján az állományra és a mérési módszerre való normális-emelkedett határvonal 0,8 és 0,9 mmol/l koncentráció-érték között van. 0,8 mmol/l BHB koncentráció fölött 38 egyedet találtam (14,07%), 0,9 mmol/l fölött 23 egyedet (8,51%). Vércukor mérést 17 állatnál végeztem, ebből 3 állatnál, melyek gyógykezelésben részesültek, ismételten megmértem a szintet. A mért értékek 2,5 és 4,6 mmol/l koncentráció között alakultak. A gyógykezelés nem volt hatással a vércukorszintre e három állat esetében. A [2. ábrán](#) ábrázoltam a BHB szintek és a vércukorszint összefüggését a méréseim alapján. Ebből megállapítható, hogy a magasabb BHB értékek következetesen alacsonyabb vércukor értékekkel párosulnak.

4.1.2. Életkor és hyperketonémia prevalencia összefüggése

A [3. ábrán](#) a mért értékek és a laktáció számának összefüggését mutatom be. Két csoportra osztottam a 270 megvizsgált tehenet, az első, a fiatalabbik, 1.-3. laktációs teheneké (215 állat), a második az idősebb, 4.-7. laktációs teheneké (65 állat). A fiatalabb csoportban a 0,8-es határérték fölött 19 állat (8,8%), a 0,9-es határérték fölött 9 állat (4,2%) található, az idősebb csoportban a 0,8-es határérték fölött 19 állat (29,2%), a 0,9-es határérték fölött 14 állat (21,5%) található. Az ábráról leolvasható, hogy az idősebb tehenek esetében is a 0,8 és 0,9 közé eső határértékekkel számolhatunk, náluk is itt találjuk a normál eloszlás határát. Esetükben sokkal több az ettől eltérő, kiugró értékkel jellemezhető egyedek száma.

4.1.3. Szárazonállás időtartama és hyperketonémia prevalencia összefüggése

Megvizsgáltam a szárazonállás idejének és az emelkedett BHB-szintek összefüggését. Három csoportot alakítottam ki: az első a 60 napnál kevesebbet szárazonállók, a második a 60 és 70 nap közötti szárazon töltött idővel rendelkezők, a harmadik a 70 napnál tovább szárazon állók. Az első csoport 60 egyede közül a 0,8 mmol/l szint fölött 8 egyed (13,3%), a 0,9 mmol/l szint fölött 4 egyed (6,7%) volt. A második csoport 112 egyede közül a 0,8 mmol/l szint fölött 17 egyed (15,2%), a 0,9 mmol/l szint fölött 11 egyed (9,8%) volt. A harmadik csoport 32 egyede közül a 0,8 mmol/l szint fölött 11 egyed (34,4%), a 0,9 mmol/l szint fölött 7 egyed (21,9%) volt. Az eloszlásokat a [4. ábra](#) szemlélteti.

4.1.4. Az alkalmazott gyógykezelés eredményessége

A 0,8 mmol/l határértéket meghaladó BHB-koncentrációt mutató egyedek közül 22 állat került gyógykezelésre és a kezelés utáni ellenőrző vérvizsgálatra. 16 egyed esetében az ismételt vérvizsgálat BHB-szint csökkenést mutatott, 6 esetben a szint emelkedett. A BHB-szint emelkedése azokra az egyedekre volt jellemző, amelyek az első mérésben is fokozottan magas értékeket mutattak. Az [5. ábra](#) szemlélteti a gyógykezelések előtti és utáni BHB-koncentrációkat. A gyógykezelés sikeressége eltér attól függően, hogy mi volt a kiindulási BHB-koncentráció a vérben. A 0,9-1,3 mmol/l BHB-koncentráció intervallumban a gyógykezelés szignifikáns javulást okozott, míg az 1,4 mmol/l BHB szint fölött az alkalmazott gyógykezelés érdemi BHB-szint csökkenést nem tudott elérni.

4.1.5. Ellés körüli megbetegedések aránya a normális és az emelkedett ketonanyag szintű populációban

Összehasonlítottam az elletőben észlelhető klinikai tünetek eloszlását a normál és az emelkedett (0,8 mmol/l vérszint feletti) BHB koncentrációjú tehenek között ([1. táblázat](#)). A nehézellés előfordulási aránya a két csoportban megegyezett, a holtellés 3,2-szer gyakoribb volt a magasabb BHB szinttel jellemezhető csoportban. A tehenek 2,2-szer gyakrabban hullottak el a terhelt egyedek közül. A vágóhídi értékesítés 5,4-szer gyakoribb volt a magas BHB-szinttel jellemezhető tehencsoportban, ehhez hozzájárult, hogy a selejtezési döntés során felhasználtuk a véreredményt. Érdekes megfigyelés, hogy a kalciumforgalmi zavarral jellemezhető kórképek (ellési bénulás, véres tej) nem fordultak elő az emelkedett BHB-szintű egyedeknél. Az emésztőszervi problémák arányában hasonló volt a két csoporton belül a megoszlás, ami azért érdekes, mert a ketózist a hiányos táplálékfelvétellel szoktuk összefüggésbe hozni, az adatok pedig ezt nem igazolják. A klinikai tüdőgyulladás aránya is megegyezett a két csoport tekintetében, hasonlóan a méhgyulladás előfordulásához, ellentmondva a szakirodalmi adatoknak, melyek a ketózis miatt föllépő immunszuppressziót említik. Sántaság a magasabb BHB-szinttel rendelkező csoportban gyakrabban fordult elő, mintegy 2,7-szeres eséllyel. A gyenge kondíciójú, sovány teheneket a ketózis 1,7-szer gyakrabban érintette. Az állományra a szárazonállás végén nem volt jellemző a túlkondíció, amely a fokozott zsírmobilizáció folytán a szakirodalmi adatok szerint (Rukkamsuk, 1999) fokozná a ketózisra való hajlamot. A magzatburok-visszamaradás a hyperketonémiás egyedek között 2,2-ször gyakrabban fordult elő. Lázzal járó fertőző betegség a magasabb BHB-szintű csoportban nem fordult elő.

Az emelkedett, 0,8 mmol/l BHB vérkoncentrációt meghaladó 38 állat közül 21-nek (55,3%) nem volt semmilyen klinikailag észlelhető tünete, kísérő betegsége.

4.1.6. Második mérési sorozat értékelése és határérték meghatározás

A második mérési sorozatban a vérből mért BHB értékek 0,2 és 6,1 mmol/l koncentráció között alakultak, illetve volt egy ketózisban beteg állat, melynek a vérszintje meghaladta a 8 mmol/l-es mérési felső határt. Az értékek megoszlását a [6. ábra](#) mutatja be. 0,8 mmol/l-es vér BHB koncentráció fölött 140 állatot találtam (23,4%), 0,9 mmol/l fölött 107 egyed volt (17,9%), 1,0 mmol/l fölött 97 állat volt (16,2%).

A normálisnak tekinthető és a kórosan emelkedett értékek között célszerű megállapítani egy határértéket. Erre nem találtam elég tudományosnak azt a megállapítást, mely szerint ez „az ábrából látszik”, ezért megpróbáltam megalkotni egy olyan matematikai eljárást, mely számszerűsíti az élettani értékek határát. Az eljárást a „súlyozott különbségek módszerének” neveztem el. A módszer lényege, hogy kiszámolom az adott koncentrációértékkel jellemezhető állatcsoport populáción belüli arányának változását az egyes léptékek között, a kapott értéket pedig megszorozom léptékkel jellemezhető állatcsoport populáción belüli arányával. A szorzat nagysága – előjeltől függetlenül – ahol egy ezred alá csökken, ott ér véget a normálisnak tekinthető tartomány. Attól függően, hogy a mérési módszernek mekkora a pontossága, annyi egymást követő egy ezred alatti érték jelzi a normál eloszlás végét.

A számítást elvégeztem mindkét mérési sorozaton. Ezek eredményét táblázatba foglalva ([2. táblázat](#)) mutatom be. Ezek alapján mindkét mérési sorozatban a normális eloszlás határértéke 1 mmol/l BHB koncentrációnak adódott. Ez az érték magasabb, mint a korábban empirikusan megállapított határérték. A módszerem valószínűleg korrekcióra, finomításra szorul a későbbiekben.

4.1.7. Hyperketonémia prevalenciájának időbeli eloszlása

A második mérési sorozat időben 10 hónapot ölelt fel, így lehetőség van az adatok időbeli összefüggésének elemzésére is. Az elemzést dekádonként végeztem, megállapítottam, hogy hány egyed vérének volt az adott időszakban 0,9 mmol/l értéknél magasabb a BHB-koncentrációja és mennyi volt ugyanekkor az összes vizsgált egyed. Ebből kiszámítottam a hyperketonémia prevalenciáját az adott időszakra. Az értékeket a [7. ábra](#) mutatja meg grafikus formában. Október hónapban a prevalencia 20-30 százalék között volt, majd november elejétől egy alacsonyabb, 10 százalék alatti prevalenciájú időszak következett január elejéig. Január közepétől 10-20 százalékos prevalencia jellemzi az április közepéig tartó időszakot.

Május közepétől június végéig 30-40 százalékra növekedik a prevalencia. Mindezen változásoknak takarmányozási és éghajlati tényezők lehetnek a kiváltó okai. Az októberi magasabb szintet a takarmányozásbeli hiányosságoknak tulajdoníthatjuk, ekkorra már erősen fogyóban volt az előző évben betárolt tömegtakarmány és az azévi termés még a silóban érett, áthidalásképpen pedig változó fenológiai állapotú zöldtakarmányt etettek. A téleleji alacsony szint a kiegyensúlyozott takarmányozásnak tudható be. A koranyári jelentős prevalencia-emelkedés a meleg időjárásnak és változó sikerrel végrehajtott zöldtakarmány-etetésnek lehetett a következménye. A július elején tapasztalható prevalencia-csökkenéshez hozzájárulhatott, hogy a kedvezőtlen mérési eredmények hatására sikerült elérni, hogy a fogadócsoport egyedei napi 200 g propilén-glikol kiegészítésben részesüljenek fejenként. Ebből az elemzésből is kitűnik, hogy amikor az állataink takarmányozása az igényeiket kielégíti és a tartási és klimatikus feltételek is megfelelőek számukra, abban az esetben a hyperketonémia előfordulása elhanyagolható mértékű. Ennélfogva a kóros állapot kialakulásának megakadályozása érdekében legfontosabb az állatok jólétének és jóllétének biztosítása.

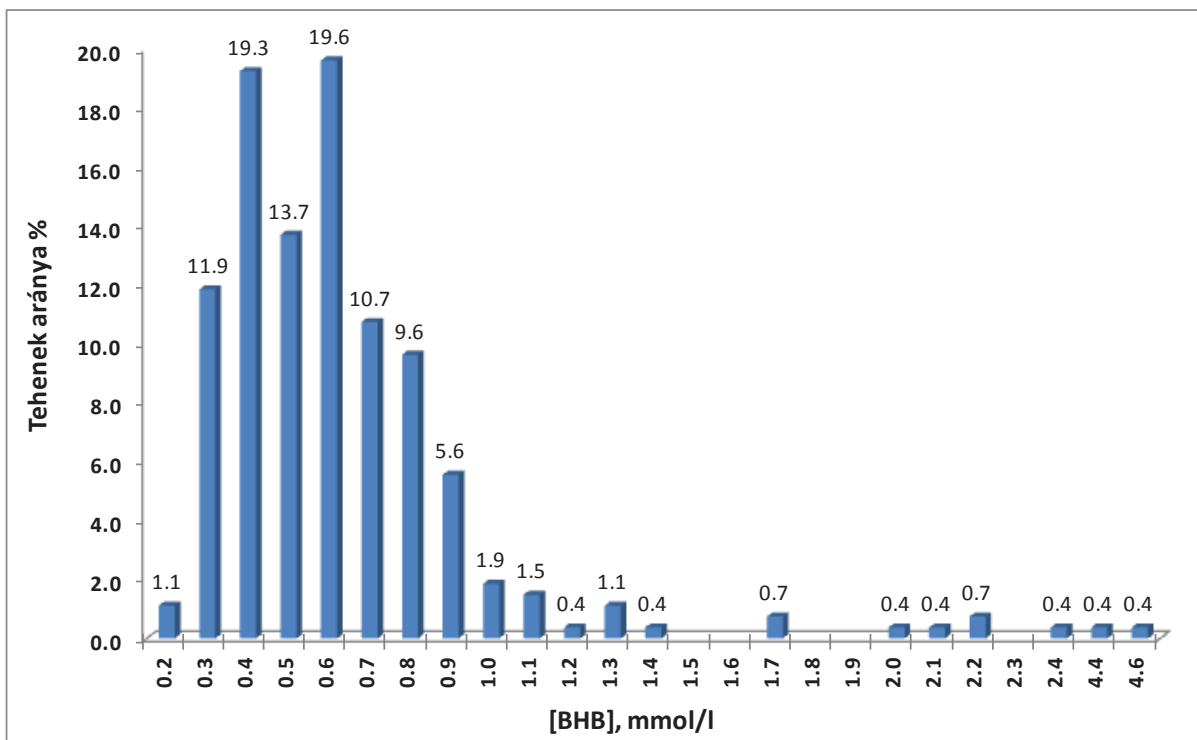
4.2. A hyperketonémia előfordulási gyakoriságának csökkentése, a kialakult kóros állapot gyógykezelése

Ha az állományban rendszeresen végezzük a szűrővizsgálatokat, felmerül az igény, hogy az emelkedett ketonanyag-koncentráció által terhelt állatokat, állatcsoportokat valamilyen gyógykezelésben részesítsük. Ha a hyperketonémia prevalenciája állományszinten nem haladta meg a 25 százalékot, gazdaságosabbnak találták a BHB szűrővizsgálatok elvégzését és csak az érintett egyedek gyógykezelését a teljes állomány propilén-glikolos kúraszerű kezeléséhez képest (McArt, 2014). Tehenként 300 g/nap propilén-glikol adagolása segítette a hyperketonémia és a klinikai ketózis visszaszorításában, a tejhozamot is napi 0,5 kg-al megnövelte (McArt, 2011). A propilén-glikol kezelésben részesített tehének számára adott egyszeri glükokortikoid injekció hatására alacsonyabb lett a vérük BHB-koncentrációja, ellenben a vércukor és inzulin szint megnőtt (van der Drift, 2015). Dextrózinfúzió hatására átmenetileg, a beadás után 12 órára csökkent a vér BHB és NEFA koncentrációja, 24 óra elteltével visszaállt a kiindulási szintre (WagnerSchimek, 2010). Inzulin és dextróz kombinációs terápia segíthet májelzsírosodás és ketózis esetén (Hayirli, 2006). A kortikoszteroid injekciónak önmagában nem, csak glükózzal kiegészítve volt kedvező hatása a ketózis gyógykezelése során, növelte a vércukorszintet és csökkentette a ketonanyagok vérbeli koncentrációját (Shpigel, 1996). A megelőzőképpen adott monenzin-kapszula egy új-

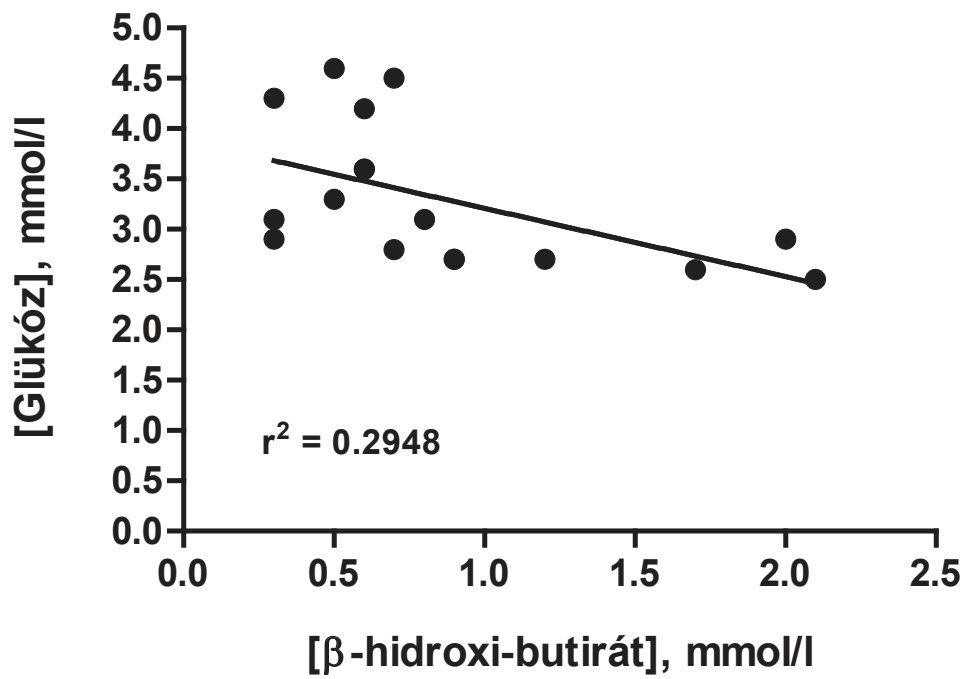
zélandi legeltetett szarvasmarha állományban jelentősen csökkentette a hyperketonémia előfordulási arányát (Compton, 2015). A butafoszfán injekciónak idősebb tehenek esetén volt kimutathatóan kedvező hatása a vér ketonanyag-koncentrációjának csökkenésére (Rollin, 2010).

A gyógykezelés során figyelembe kell vennünk az élelmezés-egészségügyi várakozási időket a tejre és a húsról egyaránt, a gyógykezelés elérhetőségét és kivitelezhetőségét, költségét és az általa elérhető eredmény viszonyát. Az én gyakorlatomban a glükokortikoidos gyógykezelés a várakozási idők betartása miatt nem került szóba, az inzulinkezelés az ára és a tisztázatlan élelmezés-egészségügyi várakozási idő miatt nem járható út. A szájon át adható drenchek ebben a gazdaságban az állatok rögzítésének nehézségei miatt nehezen beadhatóak, ugyan ez érvényes az intravénás glükózpótlásra is. A takarmányra adagolt propilén-glikolt és glicerint az állatok szívesen fogyasztják, ez a kiegészítés a gyakorlatomban is bevált. A butafoszfán injekció kúraszerű alkalmazását is jól sikerült beilleszteni a technológiába mind az elletőben, mind a fejőházban.

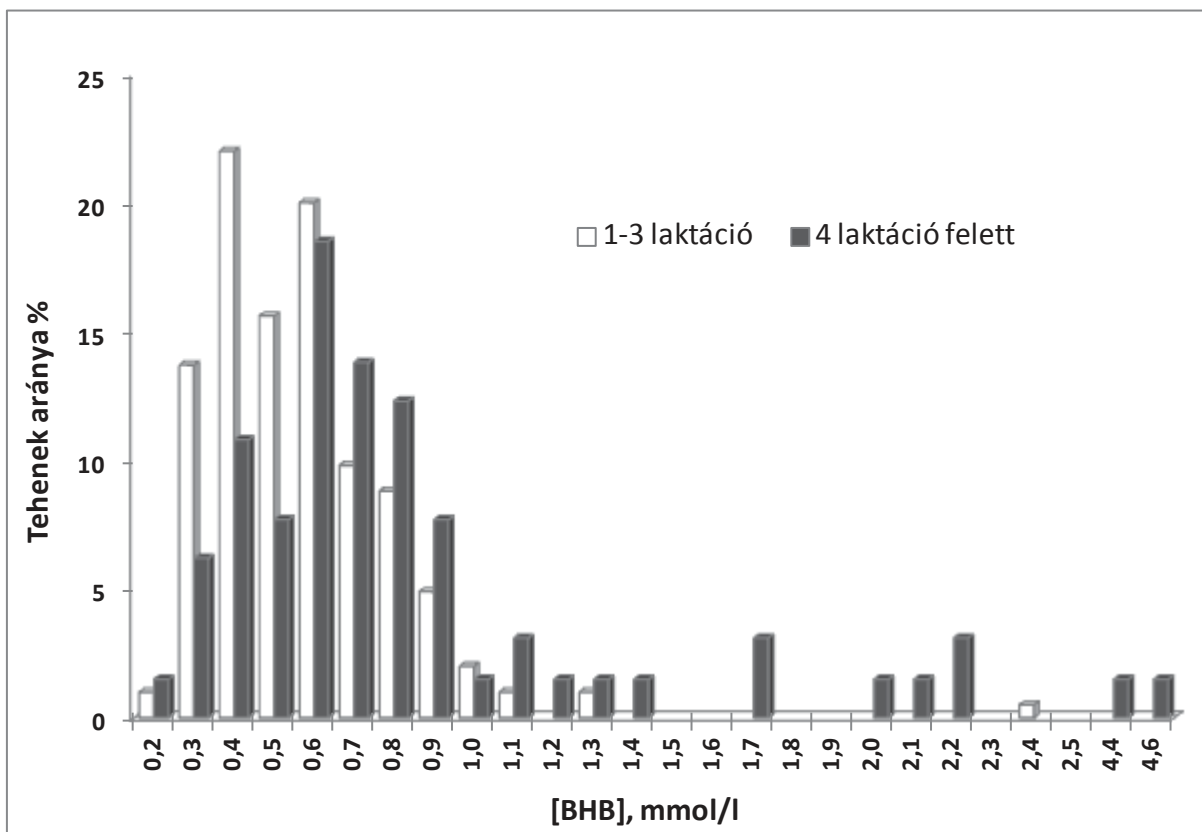
A hyperketonémia gyógykezelésének és megelőzésének lehetőségeit a biokémiai és hormonális összefüggésekkel együtt a [8. ábra](#) foglalja össze.



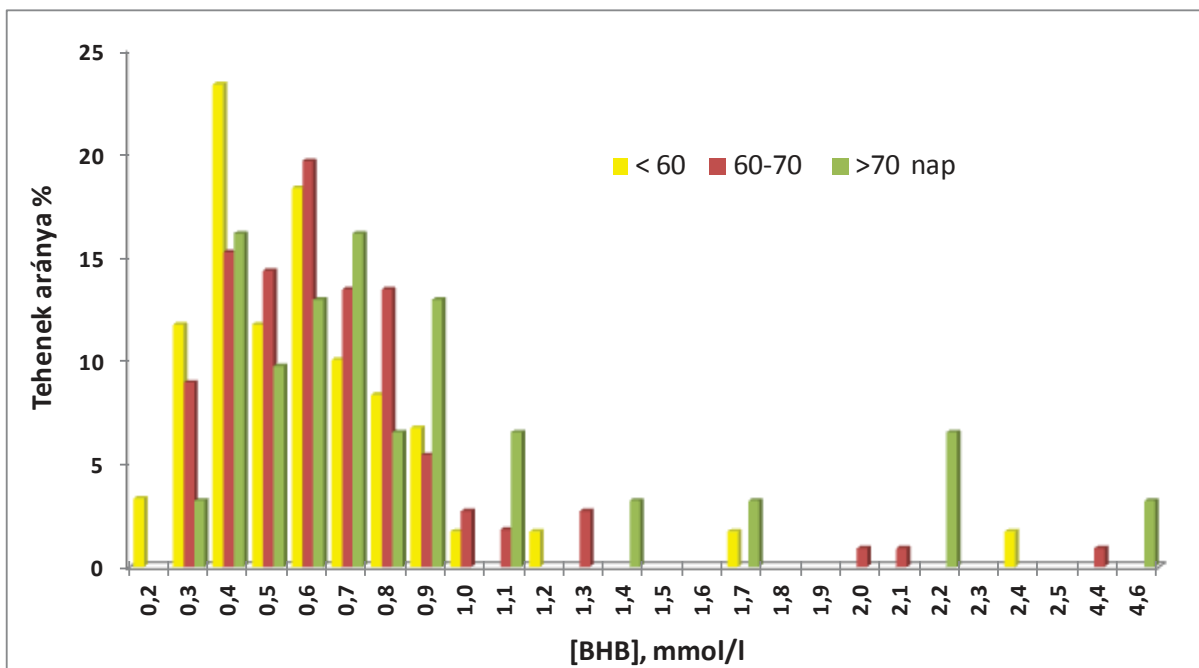
1. ábra: A különböző BHB értékeket mutató tehenek százalékos aránya (n = 270). Mintavétel az ellés utáni második napon.



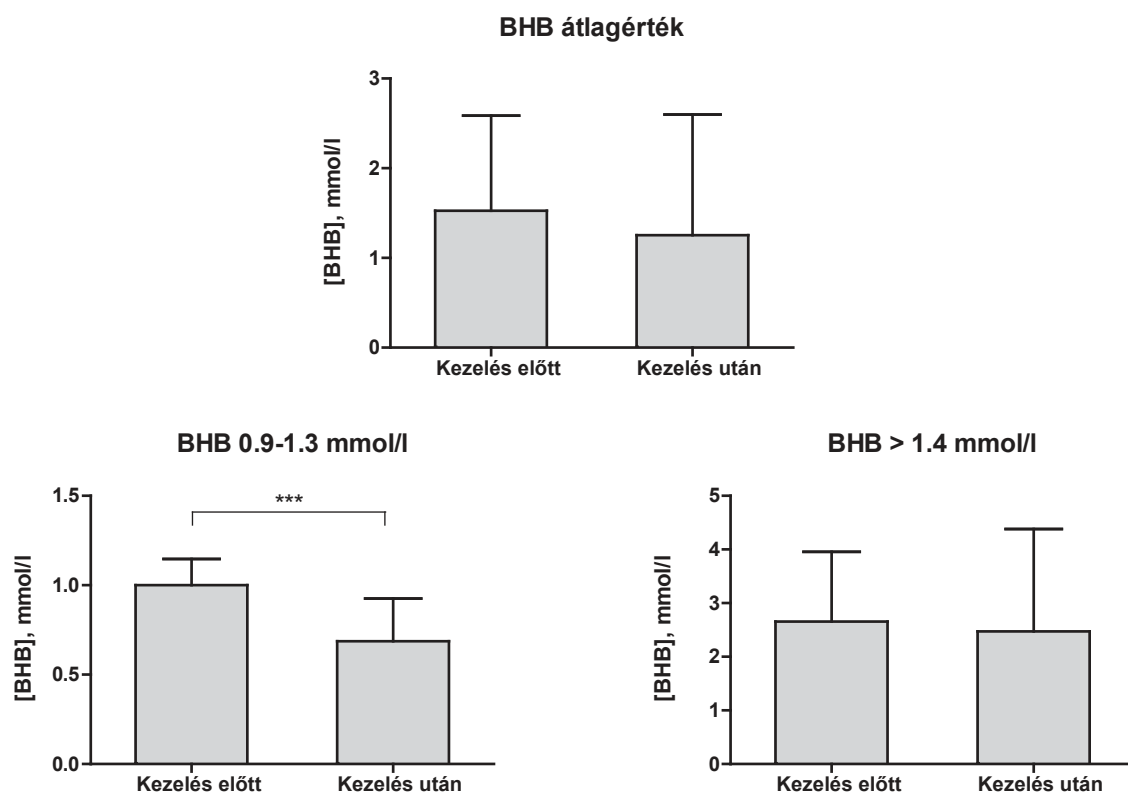
2. ábra: BHB koncentráció és a vércukorszint összefüggése (n = 17). Mintavétel az ellés utáni második napon.



3. ábra: A különböző életkorú tehenek BHB értékek szerinti eloszlása (n = 270). Mintavétel az ellés utáni második napon.



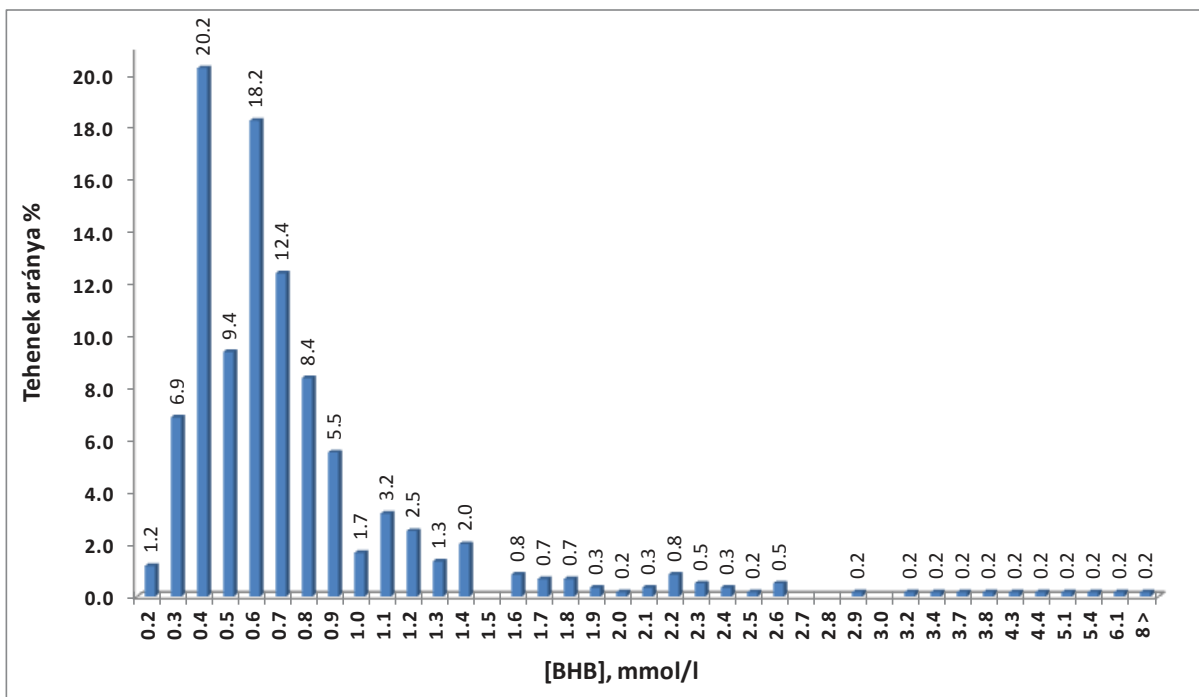
4. ábra: A különböző szárazonállás idejű tehenek BHB értékek szerinti eloszlása (n = 270). Mintavétel az ellés utáni második napon.



5. ábra: A gyógykezelés hatása a BHB értékek változására (n = 22). Mintavétel az ellés utáni második napon és a gyógykezelés végeztével. *** p = 0.0002

Kórkép	270 vizsgált tehén közötti előfordulás	Ebből normál BHB szinttel (0,9 mmol/l alatt) jellemezhető csoportban való előfordulás %	Ebből az emelkedett BHB szinttel (0,8 mmol/l felett) jellemezhető csoportban való előfordulás db és %		Kockázat aránya
			db	%	
Nehézellés	8	3 %	1	2,9 %	Hasonló
Holtellés	3	0,9 %	1	2,9 %	3,2 X
Elhullás	4	1,3 %	1	2,9 %	2,2 X
Vágóhídi értékesítés	9	2,1 %	4	11,4 %	5,4 X
Ellési bénulás	1	0,4 %	0	-	-
Emésztőszervi problémák	8	3 %	1	2,9 %	Hasonló
Véres tej	17	6,3 %	0	-	-
Tőgygyulladás	8	3 %	1	2,9 %	Hasonló
Sántaság	14	4,3 %	4	11,4 %	2,7 X
Gyenge kondíció	10	3,4 %	2	5,7 %	1,7 X
Méhgyulladás	1	0,4 %	0	-	-
Magzatburok- visszamaradás	37	11,9 %	9	25,7 %	2,2 X
Láz	2	0,7 %	0	-	-

1. táblázat: Az egyes ellés körüli betegségek előfordulási gyakorisága (n = 270). Mintavétel az ellés utáni második napon.



6. ábra: A különböző BHB értékeket mutató tehenek százalékos aránya (n = 598). Mintavétel az ellés utáni hetedik napon.

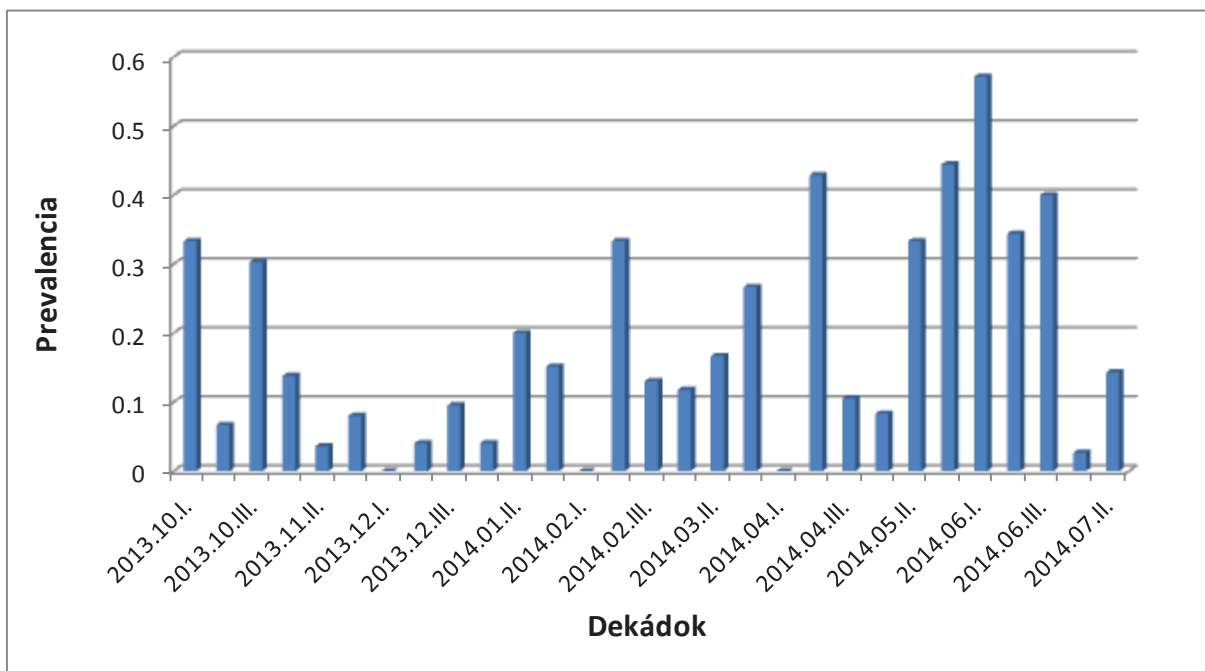
Mintavétel ellés utáni második napon

BHB	270 vizsgált tehén közötti előfordulás	Adott koncentrációhoz tartozó arány a populációban	A változás mértéke az előző populációs arányhoz képest	A változás értékének súlyozása
0.2	3	0.0111	-	-
0.3	32	0.1185	0.1074	0.0127269
0.4	52	0.1926	0.0741	0.01427166
0.5	37	0.137	-0.0556	-0.0076172
0.6	53	0.1963	0.0593	0.01164059
0.7	29	0.1074	-0.0889	-0.00954786
0.8	26	0.0963	-0.0111	-0.00106893
0.9	15	0.0556	-0.0407	-0.00226292
1	5	0.0185	-0.0371	-0.00068635
1.1	4	0.0148	-0.0037	-0.00005476
1.2	1	0.0037	-0.0111	-0.00004107
1.3	3	0.0111	0.0074	0.00008214
1.4	1	0.0037	-0.0074	-0.00002738
1.5	0	0	-0.0037	
1.6	0	0	0	

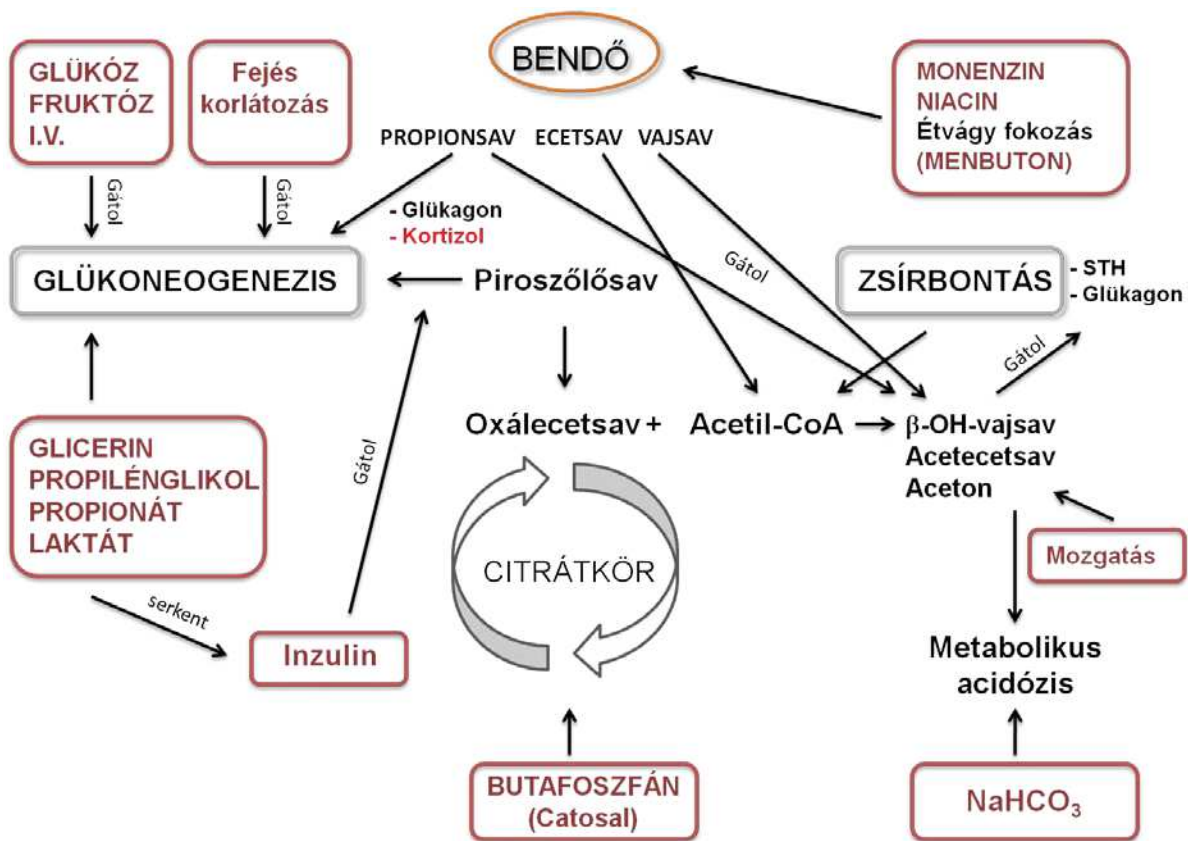
Mintavétel ellés utáni hetedik napon

BHB	598 vizsgált tehén közötti előfordulás	Adott koncentrációhoz tartozó arány a populációban	A változás mértéke az előző populációs arányhoz képest	A változás értékének súlyozása
0.2	7	0.0117		
0.3	41	0.0686	0.0569	0.00390334
0.4	121	0.2023	0.1337	0.02704751
0.5	56	0.0936	-0.1087	-0.01017432
0.6	109	0.1823	0.0887	0.01617001
0.7	72	0.1204	-0.0619	-0.00745276
0.8	50	0.0836	-0.0368	-0.00307648
0.9	33	0.0552	-0.0284	-0.00156768
1	10	0.0167	-0.0385	-0.00064295
1.1	19	0.0318	0.0151	0.00048018
1.2	15	0.0251	-0.0067	-0.00016817
1.3	8	0.0134	-0.0117	-0.00015678
1.4	12	0.0201	0.0067	0.00013467
1.5	0	0	-0.0201	0
1.6	5	0.0084	0.0084	0.00007056

2. táblázat: BHB határértékének meghatározása súlyozott különbségek módszerével mindkét mérési időpontban



7. ábra: Hyperketonémia prevalenciájának időbeni eloszlása



8. ábra: A hyperketonémia gyógykezelésének és megelőzésének lehetőségei

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Tartósan gazdaságosan termelni csak egészséges állat képes, az állat egészségének megőrzése csak az állatok jólétének és jóllétének biztosításával, igényeiket kielégítő elhelyezésével és takarmányozásával valósítható meg. A tejlő tehének anyagforgalmi állapota az ellés körüli időszakban a legsérülékenyebb, ha nem megfelelően zajlanak a kompenzációs folyamatok, az állat fokozottan érzékenyé válik az erre az életszakaszra jellemző megbetegedésekkel szemben. Az anyagforgalmi helyzet kedvezőtlen voltának egyik indikátora a kérődzők szervezetében rendes körülmények között is jelen lévő ketontestek koncentrációjának megnövekedése a testfolyadékokban. Számos meghatározási és mérési módszer áll rendelkezésre, melyekkel vizeletből, tejből, vérplazmából és teljes vérből mutatják ki az acetont, acetecetsavat és béta-hidroxi-vajsavat (BHB). Vizsgálataim során két készüléket használtam (Optimum Xceed, Novavet BHB), melyek teljes vérből határozzák meg a BHB koncentrációt mikrofolyadék bioszenzor segítségével, ahol az enzimes reakció elektromos áramot generál, ezt detektálja a műszer és számszerű formában jelzi ki az eredményt.

Az első mérési sorozat az ellés utáni második napon vizsgálta a hyperketonémia előfordulását 270 holstein fríz fajtájú tejlő tehénnél. A vizsgálat célja az emelkedett BHB vérszinttel (0,8 mmol/l fölött) jellemezhető tehének megtalálása és korai gyógykezelése volt, abban a reményben, hogy az elléshez társuló megbetegedések kialakulását ezáltal sikerül megakadályozni. A küszöbérték feletti BHB koncentrációt az állatok 14 százalékánál találtam. Az emelkedett ketonanyag koncentráció gyakrabban társult a holtelléshez, elhulláshoz, selejtezéshez, sántasághoz, gyenge testkondícióhoz és a magzatburok-visszamaradáshoz, míg ilyen összefüggést nem tapasztaltam a kalciumforgalmi zavarokkal, emésztőszervi problémákkal, tőgygyulladással, méhgyulladással és bakteriális fertőzésekkel kapcsolatban. Az idősebb teheneknél háromszor gyakrabban fordult elő az emelkedett BHB vérszint, mint a fiatalabb, legfeljebb háromszor elletteknél. A 70 napnál hosszabban szárazon álló teheneknél az emelkedett ketonanyag szint kétszer gyakrabban fordult elő. Az alkalmazott butafoszfán gyógykezelés a mérsékelt emelkedett BHB szinteknél (0,9-1,3 mmol/l) statisztikailag értékelhetően csökkentette a ketonanyag-koncentrációt, míg az ennél magasabb kiinduló koncentrációknál (1,4 mmol/l fölött) érdemi hatással nem bírt.

A második mérési sorozat során a BHB vérszint meghatározása az ellés után 7 nappal történt, a vizsgálat célja egy gyógyszer hatékonyságának kipróbálása volt üzemi körülmények között. 10 hónapon keresztül végeztem a meghatározásokat, 598 holstein fríz fajtájú tehén került vizsgálatra. Az egyedek 23,4 százalékának volt magasabb 0,8 mmol/l-nél a BHB

koncentrációja. Feltételezve, hogy az elléstől távolodva a BHB vérszint normális értéke magasabb, a 0,9 mmol/l feletti értékeket tekintettem emelkedettnek, ez az állomány 17,9 százalékát érintette. Meghatároztam a hyperketonémia időszakos prevalenciáját: a téli hónapokban az előfordulás mértéke alacsonyabb, a koranyári meleg ugrásszerűen megnöveli az előfordulást. Az emelkedett ketonanyag koncentrációval jellemezhető egyedek állományon belüli fokozott előfordulása összefüggésbe hozható a takarmányozási problémákkal és a klimatikus viszonyok alakulásával.

6. SUMMARY

High productivity and high milk yield in dairy cows can be obtained by providing good nutrition, management and meeting the overall welfare and well-being requirements. The intermediary metabolism of dairy cows are very vulnerable around the parturition period which can highly sensitize the animals leading to periparturient diseases characteristic to this period.

An important indicator of energy imbalance in ruminants is the increased concentrations of ketone bodies over physiological amounts in body fluids. Several methods can be applied to measure the concentration of acetone, acetoacetic acid and beta-hydroxybutyric acid from urine, milk, blood plasma and whole blood samples. During my work I used two types of monitoring devices detecting the beta-hydroxybutyric acid (BHB) concentrations from whole blood samples. The used devices are based on microfluidic sensors where the electric currents generated by enzyme reactions are detected and numerically indicated.

The first set of sampling, monitoring the prevalence of hyper-ketonemia was performed on the second day after parturition in holstein frisean cows, 270 in total. The aim of the measurements was finding and early treatment of cows exhibiting high BHB levels (over 0.8 mmol/l) thus preventing parturition linked malaises. BHB levels over 0.8 mmol/l were observed in 14 % of total animals. The increased levels of BHB were mostly linked with mortality, stillbirth, culling, lameness, poor body condition and retained placenta whereas no direct relationships with calcium metabolism, digestive problems, mastitis, metritis and other bacterial infections could be observed. In elder cows the prevalence of increased blood BHB concentrations were three times more frequent compared to younger ones. In drying cows over 70 days the prevalence of increased BHB levels was doubled. Treatments applying butaphosphan in cows exhibiting moderately increased BHB levels (0.9-1.3 mmol/l) highly decreased the concentrations of ketone bodies while no effect of butaphosphan treatment was observed applied to higher BHB concentrations (over 1.4 mmol/l).

The second set of sampling, measuring the blood BHB levels was taken 7 days after the parturition. The aim of sampling was testing the efficacy of a therapeutic drug under dairy farm conditions. Samples were taken from 598 cows during a period of 10 months. 23.4% of total cows had over 0.8 mmol/l BHB levels. Considering a physiological increase of BHB levels in time after parturition, the cutoff value was set to 0.9 mmol/l and observed in 17.9 % of total cows. I also determined the periodic prevalence of hyper-ketonemia, with lesser incidence in winter months and with a sudden increase in early hot summer days.

The increased presence of hyper-ketonemia in dairy cows can be correlated with erratic feeding protocols and bad climate conditions.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni a feleségemnek a dolgozat elkészítéséhez nyújtott technikai segítséget és a türelmet, amellyel viseltetett irántam, míg írásom elkészült. Köszönöm témavezetőmnek Dr. Brydl Endre professzor úrnak az iránymutatást és a kritikai észrevételeket. Köszönöm a Bayer Hungária Kft. és a Virbac Magyarország munkatársának a közös munkát. Köszönöm a Gorzsai Mezőgazdasági Zrt. vezetőinek és dolgozóinak, hogy lehetőséget és feltételeket biztosítottak a munkámhoz és segítettek a vizsgálatok elvégzésében. Köszönöm a Magyar Buiatrikusok Társasága tagságának az ötleteket, tanácsokat, javaslatokat.

8. IRODALOMJEGYZÉK

- ABUELO, A.-HERNANDEZ, J.-BENEDITO, J.L.-CASTILLO, C.: A comparative study of the metabolic profile, insulin sensitivity and inflammatory response between organically and conventionally managed dairy cattle during the periparturient period. *Animal*. 2014. 8. 1516-25.
- BATICZ, O.-TOMOSKOZI, S.-VIDA, L.-GAAL, T.: Relationship between concentration of citrate and ketone bodies in cow's milk. *Acta Vet Hung*. 2002. 50. 253-61.
- BERGE, A.C.-VERTENTEN, G.: A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, and fresh cow clinical conditions associated with ketosis in western European dairy herds. *J Dairy Sci*. 2014. 97. 2145-54.
- BRYDL, E.: Állathigiéna és Állomány-egészségügy az Élelmiszer-termelő Állatállományokban. *Magyar Tudomány*. 2012. 173. 11-18.
- CERONE, S.I.-SANSINANE, A.S.-GARCIA, M.C.: Effects of beta-hydroxybutyric acid on bovine milk leukocytes function in vitro. *Gen Physiol Biophys*. 2007. 26. 14-9.
- COMPTON, C.-YOUNG, L.-MCDUGALL, S.: Efficacy of controlled-release capsules containing monensin for the prevention of subclinical ketosis in pasture-fed dairy cows. *N Z Vet J*. 2015. 1-15.
- COMPTON, C.-YOUNG, L.-MCDUGALL, S.: Subclinical ketosis in post-partum dairy cows fed a predominantly pasture-based diet: defining cut-points for diagnosis using concentrations of beta-hydroxybutyrate in blood and determining prevalence. *N Z Vet J*. 2015. 1-33.
- DEFRAIN, J.M.-HIPPEN, A.R.-KALSCHUR, K.F.-SCHINGOETHE, D.J.: Feeding lactose increases ruminal butyrate and plasma beta-hydroxybutyrate in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*. 2004. 87. 2486-94.
- DUFFIELD, T.: IMPACT, PREVENTION, AND MONITORING OF SUBCLINICAL KETOSIS IN TRANSITION DAIRY COWS Minnesota Dairy Health Conference 2002,2002. pp. 35-47.
- DUFFIELD, T.F.-KELTON, D.F.-LESLIE, K.E.-LISSEMORE, K.D.-LUMSDEN, J.H.: Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario. *Can Vet J*. 1997. 38. 713-8.
- ENJALBERT, F.-NICOT, M.C.-BAYOURTHE, C.-MONCOULON, R.: Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: relationship between concentrations and utilization for detection of subclinical ketosis. *J Dairy Sci*. 2001. 84. 583-9.
- GAÁL, T.: Anyagforgalmi és Mozgásszervi Betegségek. in: Ferenc Karsai, KV (Ed.) Állatorvosi belgyógyászat MÁOK.2013. Budapest.
- GARRO, C.J.-MIAN, L.-COBOS ROLDAN, M.: Subclinical ketosis in dairy cows: prevalence and risk factors in grazing production system. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2013. 98. 838-44.

- GOLDHAWK, C.-CHAPINAL, N.-VEIRA, D.M.-WEARY, D.M.-VON KEYSERLINGK, M.A.: Prepartum feeding behavior is an early indicator of subclinical ketosis. *J Dairy Sci.* 2009. *92*. 4971-7.
- HAYIRLI, A.: The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle. *Vet Res Commun.* 2006. *30*. 749-74.
- HO, C.F.-CHAN, K.W.-YEH, H.I.-KUO, J.-LIU, H.J., et al.: Ketone bodies upregulate endothelial connexin 43 (Cx43) gap junctions. *Vet J.* 2013. *198*. 696-701.
- IWERSEN, M.-FALKENBERG, U.-VOIGTSBERGER, R.-FORDERUNG, D.-HEUWIESER, W.: Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2009. *92*. 2618-24.
- IWERSEN, M.-KLEIN-JOBSTL, D.-PICHLER, M.-ROLAND, L.-FIDLSCHUSTER, B., et al.: Comparison of 2 electronic cowside tests to detect subclinical ketosis in dairy cows and the influence of the temperature and type of blood sample on the test results. *J Dairy Sci.* 2013. *96*. 7719-30.
- LEBLANC, S.J.: Interactions of metabolism, inflammation, and reproductive tract health in the postpartum period in dairy cattle. *Reprod Domest Anim.* 2012. *47 Suppl 5*. 18-30.
- MCART, J.A.-NYDAM, D.V.-OETZEL, G.R.-GUARD, C.L.: An economic analysis of hyperketonemia testing and propylene glycol treatment strategies in early lactation dairy cattle. *Prev Vet Med.* 2014. *117*. 170-9.
- MCART, J.A.-NYDAM, D.V.-OETZEL, G.R.-OVERTON, T.R.-OSPINA, P.A.: Elevated non-esterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance. *Vet J.* 2013. *198*. 560-70.
- MCART, J.A.-NYDAM, D.V.-OSPINA, P.A.-OETZEL, G.R.: A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. *J Dairy Sci.* 2011. *94*. 6011-20.
- NIELSEN, C.-STENGARDE, L.-BERGSTEN, C.-EMANUELSON, U.: Relationship between herd-level incidence rate of energy-related postpartum diseases, general risk factors and claw lesions in individual dairy cows recorded at maintenance claw trimming. *Acta Vet Scand.* 2013. *55*. 55.
- OSPINA, P.A.-NYDAM, D.V.-STOKOL, T.-OVERTON, T.R.: Evaluation of nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *J Dairy Sci.* 2010. *93*. 546-54.
- PIECHOTTA, M.-MYSEGADES, W.-LIGGES, U.-LILIENTHAL, J.-HOEFELICH, A., et al.: Antepartal insulin-like growth factor 1 and insulin-like growth factor binding protein 2 concentrations are indicative of ketosis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2015. *98*. 3100-9.
- ROLLIN, E.-BERGHAUS, R.D.-RAPNICKI, P.-GODDEN, S.M.-OVERTON, M.W.: The effect of injectable butaphosphan and cyanocobalamin on postpartum serum beta-

- hydroxybutyrate, calcium, and phosphorus concentrations in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 2010. *93*. 978-87.
- RUKKWAMSUK, T.-KRUIP, T.A.-WENSING, T.: Relationship between overfeeding and overconditioning in the dry period and the problems of high producing dairy cows during the postparturient period. *Vet Q.* 1999. *21*. 71-7.
- SCHULZ, K.-FRAHM, J.-MEYER, U.-KERSTEN, S.-REICHE, D., et al.: Effects of prepartal body condition score and peripartal energy supply of dairy cows on postpartal lipolysis, energy balance and ketogenesis: an animal model to investigate subclinical ketosis. *J Dairy Res.* 2014. *81*. 257-66.
- SHI, X.-LI, X.-LI, D.-LI, Y.-SONG, Y., et al.: beta-Hydroxybutyrate activates the NF-kappaB signaling pathway to promote the expression of pro-inflammatory factors in calf hepatocytes. *Cell Physiol Biochem.* 2014. *33*. 920-32.
- SHPIGEL, N.Y.-CHEN, R.-AVIDAR, Y.-BOGIN, E.: Use of corticosteroids alone or combined with glucose to treat ketosis in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc.* 1996. *208*. 1702-4.
- SURIYASATHAPORN, W.-DAEMEN, A.J.-NOORDHUIZEN-STASSEN, E.N.-DIELEMAN, S.J.-NIELEN, M., et al.: Beta-hydroxybutyrate levels in peripheral blood and ketone bodies supplemented in culture media affect the in vitro chemotaxis of bovine leukocytes. *Vet Immunol Immunopathol.* 1999. *68*. 177-86.
- SUTHAR, V.S.-CANELAS-RAPOSO, J.-DENIZ, A.-HEUWIESER, W.: Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *J Dairy Sci.* 2013. *96*. 2925-38.
- TETENS, J.-HEUER, C.-HEYER, I.-KLEIN, M.S.-GRONWALD, W., et al.: Polymorphisms within the APOBR gene are highly associated with milk levels of prognostic ketosis biomarkers in dairy cows. *Physiol Genomics.* 2015. *47*. 129-37.
- VAN DER DRIFT, S.G.-EVERTS, R.R.-HOUEWELING, M.-VAN LEENGOED, L.A.-STEGEMAN, J.A., et al.: Effects of beta-hydroxybutyrate and isoproterenol on lipolysis in isolated adipocytes from periparturient dairy cows and cows with clinical ketosis. *Res Vet Sci.* 2012. *94*. 433-9.
- VAN DER DRIFT, S.G.-HOUEWELING, M.-BOUMAN, M.-KOETS, A.P.-TIELENS, A.G., et al.: Effects of a single glucocorticoid injection on propylene glycol-treated cows with clinical ketosis. *Vet J.* 2015. *204*. 144-9.
- VAN DER DRIFT, S.G.-VAN HULZEN, K.J.-TEWELDEMEDHN, T.G.-JORRITSMA, R.-NIELEN, M., et al.: Genetic and nongenetic variation in plasma and milk beta-hydroxybutyrate and milk acetone concentrations of early-lactation dairy cows. *J Dairy Sci.* 2012. *95*. 6781-7.
- VAN KNEGSEL, A.T.-VAN DER DRIFT, S.G.-CERMAKOVA, J.-KEMP, B.: Effects of shortening the dry period of dairy cows on milk production, energy balance, health, and fertility: a systematic review. *Vet J.* 2013. *198*. 707-13.

- VANHOLDER, T.-PAPEN, J.-BEMERS, R.-VERTENTEN, G.-BERGE, A.C.: Risk factors for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands. *J Dairy Sci.* 2014. 98. 880-8.
- VICENTE, F.-RODRIGUEZ, M.L.-MARTINEZ-FERNANDEZ, A.-SOLDADO, A.-ARGAMENTERIA, A., et al.: Subclinical ketosis on dairy cows in transition period in farms with contrasting butyric acid contents in silages. *ScientificWorldJournal.* 2014. 2014. 279614.
- VICKERS, L.A.-WEARY, D.M.-VEIRA, D.M.-VON KEYSERLINGK, M.A.: Feeding a higher forage diet prepartum decreases incidences of subclinical ketosis in transition dairy cows. *J Anim Sci.* 2012. 91. 886-94.
- WAGNER, S.A.-SCHIMEK, D.E.: Evaluation of the effect of bolus administration of 50% dextrose solution on measures of electrolyte and energy balance in postpartum dairy cows. *Am J Vet Res.* 2010. 71. 1074-80.
- WANG, J.-ZHU, X.-CHEN, C.-LI, X.-GAO, Y., et al.: Effect of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) on the gluconeogenesis in calf hepatocytes cultured in vitro. *Mol Cell Biochem.* 2011. 362. 87-91.
- WANG, X.-LI, X.-ZHAO, C.-HU, P.-CHEN, H., et al.: Correlation between composition of the bacterial community and concentration of volatile fatty acids in the rumen during the transition period and ketosis in dairy cows. *Appl Environ Microbiol.* 2012. 78. 2386-92.
- WENG, X.-ZHAO, W.-NEETHIRAJAN, S.-DUFFIELD, T.: Microfluidic biosensor for beta-Hydroxybutyrate (betaHBA) determination of subclinical ketosis diagnosis. *J Nanobiotechnology.* 2015. 13. 13.
- XIA, C.-WANG, Z.-XU, C.-ZHANG, H.Y.: Concentrations of plasma metabolites, hormones, and mRNA abundance of adipose leptin and hormone-sensitive lipase in ketotic and nonketotic dairy cows. *J Vet Intern Med.* 2012. 26. 415-7.