

בחינת יעילות הטיפול לקטוזיס תת קליני בפרות חלב

Evaluation of the Treatment Efficacy for Sub Clinical Ketosis in Dairy Cows

דוח סיכום לתכנית מחקר מספר-12-0109-668

מגיש: חגי עקיבא Hagai Akiva

מועד סיום לימודים: תשע"ה 2015

כמילוי חלקי של הדרישות לשם קבלת תואר דוקטור לרפואה וטרינרית

מטעם ביה"ס לרפואה וטרינרית ע"ש קורט של האוניברסיטה העברית בירושלים

בהדרכת:

1. ד"ר חן גילד, מרצה בבית הספר לרפואה וטרינרית ע"ש קורט, האוניברסיטה העברית בירושלים, רופא

וטרינר ב"החקלאית" באזור אמבולטורי גליל.



2. ד"ר תמיר גשן, בית הספר לרפואה וטרינרית ע"ש קורט, האוניברסיטה העברית בירושלים, רופא וטרינר

ב"החקלאית באזור האמבולטורי של בית הספר לרפואה וטרינרית על שם קורט, הפקולטה לחקלאות

ברחובות, האוניברסיטה העברית ירושלים.

העבודה בוצעה ברפתות האיזור האמבולטורי של ד"ר חן גילד וד"ר תמיר גשן.

מאי 2015

אני מאשר פרסום תקציר העבודה בעברית בעיתון רפואה וטרינרית. חתימת מנחה ראשי:



תקציר

פרות חלב בתקופת המעבר סובלות ממאזן אנרגטי שלילי בעקבות תחילת ייצור החלב והדרישות האנרגטיות הנלוות. מאזן שלילי זה מלווה לעיתים בסימנים קליניים, סימני מחלת הקטוזיס. למחלת הקטוזיס מופע תת קליני המאופיין גם הוא בעלייה ריכוז גופי הקטון בדם ובחלב אולם ללא הופעת סימנים קליניים גלויים. בעבודות רבות הודגם הקשר בין רמה גבוהה של גופי קטון *In vivo* ו *in vitro* לבין פגיעה ביצרנות הפרה. מקובל לחשוב שמעבר לסף מסוים של גופי קטון בגוף הפרה מתרחשת פגיעה בייצור העתידי ולכן נהוג לטפל גם במופע התת קליני. מטרת המחקר הן לאמוד את שיעורי הקטוזיס התת קליני (קת"ק) ברפת החלב בישראל ולבחון את יעילות הטיפול הניתן במרבית משקי החלב בישראל לפרות הסובלות מקת"ק. המחקר הוא מחקר עוקבה פרוספקטיבי שכלל 104 פרות אשר המליטו בין מרץ 2012 למאי 2013 ב 4 רפתות חלב שונות. פרות שנמצאו במהלך תקופת המחקר כסובלות מקת"ק חולקו באופן אקראי לקבוצת טיפול וביקורת. בסוף תקופת המחקר נבדק הקשר בין הטיפול למדדי בריאות, פוריות וייצור. בכל המדדים שנבדקו לא נמצאה השפעה לטיפול. תוצאות המחקר אינן תומכות בבדיקה גורפת של כלל הפרות לאחר המלטה לקטוזיס.

Abstract

Due to the start of lactating and the uncompensated high energy demands at the beginning of lactation the dairy cow experiences a negative energy balance. As a result of this negative energy balance some cows demonstrate the clinical signs of ketosis. However, high plasma and milk ketone bodies can be present without clinical signs; this state also known as sub clinical ketosis (SCK). *In vitro* and *in vivo* research has proven the negative association between high ketone bodies and inferior production and reproduction. Therefore, it is a common concept that even though SCK cows do not exhibit present inferior production they might do it in the future; for this reason many veterinarians treat SCK cows. The aims of this study were to measure the prevalence of SCK and to evaluate the efficiency of the common treatment for SCK in Israeli dairy herds. This prospective study included 104 SCK

cows which calved from March 2012 till May 2014 in 4 dairy farms. SCK cows were divided randomly to a control and treatment group. Measurements of health, fertility and production parameters were recorded and at the end of the study period the effect of therapy on these parameters was examined. No significant association was found. According to these findings the necessity of screening all fresh cows for ketosis is questionable.

תוכן העניינים

עמוד	ראשי פרקים
5	1. מבוא
5	1.1. כללי
6	1.2. פתופיסיולוגיה וביוכימיה
6	1.2.1. ביוכימיה
11	1.2.2. פתופיסיולוגיה של מערכת החיסון
12	1.2.3. השפעות הורמונאליות
13	1.3. קטוזיס תת קליני
14	1.4. אפידימיולוגיה
14	1.4.1. קטוזיס קליני
14	1.4.2. קטוזיס תת קליני
15	1.5. אבחון
15	1.6. מניעה וטיפול
15	1.6.1. מניעה
16	1.6.2. טיפול לקטוזיס
19	2. חומרים ושיטות
19	2.1. כללי

19	2.2. קריטריונים להכללה
19	2.3. קריטריון לחלוקה לקבוצת ניסוי וביקורת
19	2.4. פרוטוקול הניסוי
20	2.5. קריטריונים לאי הכללה
20	2.6. תכנית הניתוח הסטטיסטי
22	2.7. אישורים
23	3. תוצאות
23	3.1. סטטיסטיקה תיאורית
25	3.2. השפעה על ביצועי פוריות
27	3.3. השפעה על יציאת פרות
28	3.4. השפעה על ייצור חלב
29	4. דיון ומסקנות
33	רשימת ספרות
38	נספח א'- תוצאות הקדמיות מאת ד"ר Jerome Carrier
39	נספח ב'- תוצאות הקדמיות מאת ד"ר Jerome Carrier

1. מבוא- רקע מדעי

1.1. כללי

קטוזיס (אצטונמיה) היא הפרעה מטבולית שכיחה בפרות חלב גבוהות תנובה בתחילת התחלובה. ההפרעה מאופיינת בהמצאות ריכוז גבוה של גופי קטון הכוללים חומצה אצטואצטית, אצטון וחומצה β הידרוקסי-בוטירית (BHBA) ברקמות ובנוזלי הגוף. שכיחות המחלה עולה בתחילת התחלובה, בעת שהפרה איננה צורכת ומעכלת כמות מתאימה של מזון על מנת לספק את הצרכים האנרגטיים הגבוהים הדרושים לייצור ולקיום; מצב זה, בו סך הצרכים האנרגטיים גבוה מכמות האנרגיה הנעכלת מוגדר כמאזן אנרגיה שלילי [1, 2].

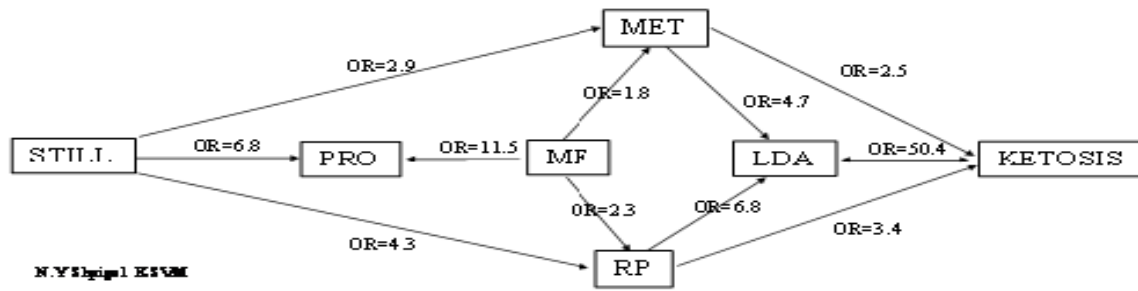
הסימנים הקליניים של המחלה כוללים בן השאר ירידה באכילה המלווה בירידה בחלב, ירידה במשקל הגוף ולעיתים רחוקות גם הפרעות עצביות. בטווח הארוך ישנה השפעה שלילית למחלה על מערכת החיסון והפוריות של הפרה [1-3].

הגורם העיקרי למחלה הוא ממשק הזנה שגוי. בממשק נכון במהלך תקופת היובש מומלץ להגיש לפרה אספקת מזון בסיסית ומתאימה למהלך ההיריון כך שהפרה לא תוסיף משקל ו/או תגיע לתחלובה חולה דבר שיפגע בצריכת המזון לאחר ההמלטה. כאשר הפרה סובלת מקטוזיס קליני אידיופאטי ו/או כתוצאה מצריכת מזון לא מספקת מוגדרת המחלה כקטוזיס ראשוני [3].

מאזן אנרגטי שלילי מתון שכיח בפרות המעבר ומקנה להן רגישות יתר למצבי עקה כגון מחלות זיהומיות מזדמנות. מקרה בו מאובחנת פרה עם ריכוז גבוה מ 1.4 mmol/L של BHBA (באמצעות Ketostix©, יורחב בפרק 1.5) בשתן ועם תחלואה אחרת מלבד קטוזיס (כגון דלקת רחם או דלקת עטין) תוגדר מחלת הקטוזיס כשניונית. בנוסף, תחת הגדרת קטוזיס שניוני נכנסות פרות אשר פיתחו קטוזיס כתוצאה מטראומה או כל אירוע אחר בר אבחנה אשר מנע מהן תזונה מספקת והעמיק את המאזן האנרגטי השלילי. שכיחות קטוזיס שניוני שווה ולעיתים אף גדולה משכיחות קטוזיס ראשוני [2].

מצב בו ישנו ריכוז גבוה של גופי קטון בנוזלי הגוף של הפרה ללא סימני מחלה נקרא קטוזיס תת-קליני (קת"ק) ונחשב למצב מקדים לקטוזיס קליני; אף על פי כן, קת"ק יתכן כמופע עצמאי. על ההבדלים בין המופעים יורחב בהמשך.

גורמי הסיכון שנקשרו בהופעת המחלה כוללים בין היתר תנובת חלב גבוהה, מספר תחלובה, תחלובה ארוכה, דיסטוקיה, תאומים, מחלות לאחר המלטה (כגון דלקת רחם, אצירת שיליה), תקופת יובש ארוכה, השמנה בתקופת היובש, מצב גופני עודף בייבוש ובהמלטה [4]. נמצא כי פגיעה בצריכת המזון במהלך השבוע שסביב להמלטה מעלה את הסיכון לתחלואה במחלת הקטוזיס [5]. גורמי סיכון והסיכון היחסי לקטוזיס מופיעים באיור מספר 1.



איור מספר 1- מתאר הקשר והיחס הצולב (Odds Ratio; OR) בין מחלות המלטה והקשר לקטוזיס. MET - דלקת רחם, STILL - וולד מת ב 24 שעות מהמלטה, PRO - השתפלות רחם, MF - קדחת חלב, RP - אצירת שיליה, LDA - היסט אבומאזום לשמאל.

1.2. פתופיסיולוגיה וביוכימיה

1.2.1. ביוכימיה

גופי קטון מהווים חלק מהמטבוליזם התקין של מעלי גירה; חומצה אצטואצטית וBHBA מהווים מקור לאנרגיה במעגל חומצת הלימון (TCA) בחלק מרקמות הגוף כאשר יש מחסור בגלוקוז ליצירת אנרגיה. כיוון שכך, רמה בסיסית היא נורמאלית ונחוצה לקיום, בעוד ריכוז גבוה עלול לגרום לקטוזיס קליני [2].

שתי תיאוריות מרכזיות, כל אחת לחוד ושילובן, מסבירות את העלייה בריכוז גופי הקטון והתפתחות מחלת הקטוזיס:

1. מחסור באוקסלואצטט (OXA), המתקבל מפרופיונאט (חומצת שומן קצרה, תלת פחמימנית, תוצר תסיסה

מיקרוביאלית בכרס), מגביל את פעילות TCA ומוביל להיפוגליקמיה. בעת דרישה אנרגטית על ידי תאי הגוף

מרבית OXA מנוצל במסלול הגלוקונאוגנזה בכבד ליצירת גלוקוז; הגלוקוז מיוצא מהכבד לצריכת תאי הגוף

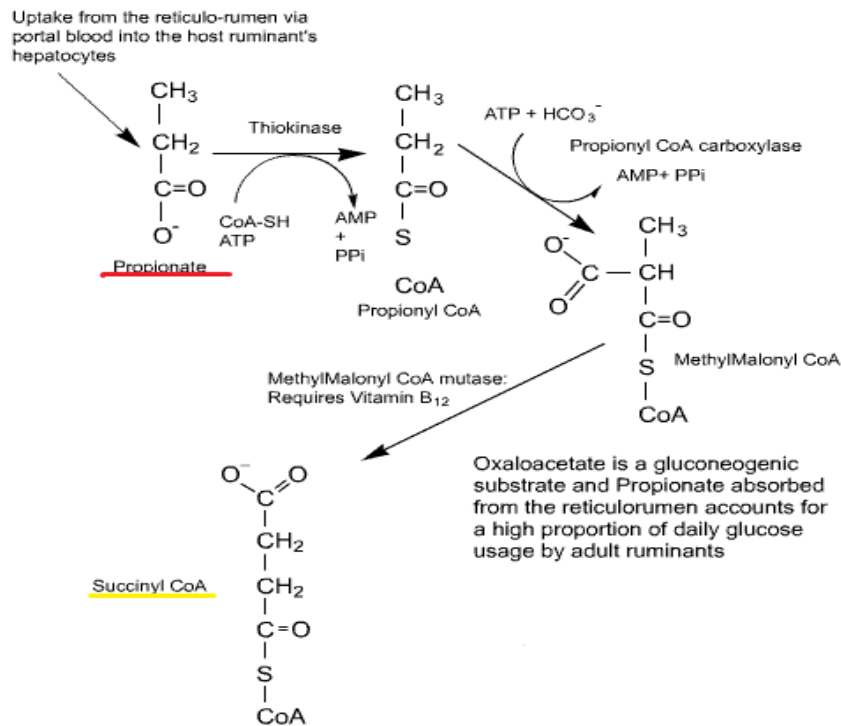
אשר אינם מסוגלים לבצע גלוקונאוגנזה בשגרה. במצב הזה, כאשר נוצר מחסור ב OXA ב TCA

במיטוכונדריה, אצטיל קו- A (Ac-CoA) מצטבר בציטוזול ונדחס עם עצמו ליצירת גופי קטון. התהליך מוצג

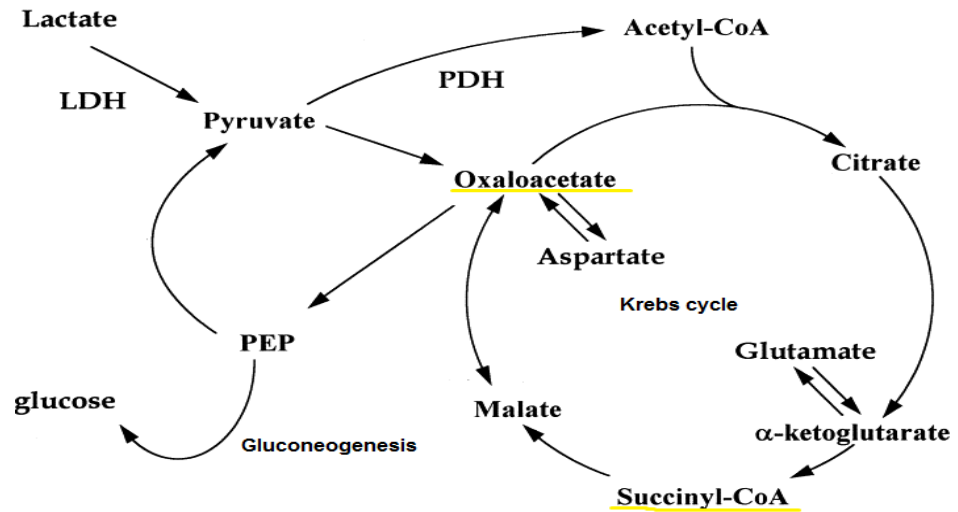
באיורים 2 ו 3.

2. גורמים אנדוקריניים (יפורט בהמשך בפרק 1.4 - גורמים הורמונאליים).

מרבית המחלות המטבוליות בפרות חלב מתרחשות בשבועיים הראשונים לאחר ההמלטה. אולם הפוטנציאל למחלות אלו, ובפרט לקטוזיס, טמון בפיסיולוגיה של הפרה היבשה טרם ההמלטה. לקראת סוף ההיריון הדרישה המטבולית של הולד המתפתח ליום מוערכת ב-0.82 Mcal, 117 גרם חלבון נטו (לצריכת העובר), 10.3 גרם סידן, 5.4 גרם זרחן ו-0.2 גרם מגנזיום. לעומת זאת, בתחילת התחלובה נדרשת השקעה מטבולית גדולה יותר; בכדי לייצר 10 ק"ג קולוסטרם דרושים 11 Mcal, 140 גרם חלבון, 23 גרם סידן, 9 גרם זרחן ו-1 גרם מגנזיום שיסופקו מהמזון או ממאגרי הגוף. כאשר הדרישות הנחוצות לייצור אינן נענות דרך צריכת המזון מתרחש תהליך מוגבר של ניווד שומנים ממאגרי הגוף והפרה נכנסת למאזן אנרגיה שלילי [5, 6].



איור מספר 2 – מסלול מטבולי מפרופיונאט לסוקציניל קו A בתאי הכבד, לאחר ספיגה מהמערכת הפורטאלית.



איור מספר 3 – איור המשך לאיור 2. מתואר המסלול המטבולי של סוקציניל קו – A ל OXA. סוקציניל קו – A נכנס ל TCA במיטוכונדריה של ההפטוציט והופך ל OXA. OXA מהווה צומת אנאפלוטית לגלוקונאוגנזה. OXA מהווה צומת אנאפלוטי חשוב מכיוון שמחד מהווה פרקורסור לגלוקונאוגנזה לטובת אנרגיה זמינה לתאי הגוף ומאידך נדחס עם Ac-CoA כחומר מניע של TCA. כיוון המסלול האנאפלוטי נקבע על בסיס זמינות OXA; במצב של שובע ושל זמינות גבוהה של OXA מנותב התהליך האנאבולי ליצירה של גלוקוז בתהליך הנאוגלוקוגנזה; במצב של רעב ומחסור ב OXA מתחזק התהליך הקטבולי ומתגבר ניווד של אנרגיה ממאגרי הגוף [5, 6].

בעת מאזן אנרגיה שלילי מתגבר ניווד חומצות שומן באמצעות אלבומין ממאגרי שומן אל הכבד כמקור לאנרגיה (כפי שמתואר באיור מספר 4). חומצות השומן מובלות בדם בתצורת NEFA (Non Esterified Fatty Acids). להפטוציטים של מעלי גירה יכולת מוגבלת לנצל NEFA ב TCA, ולשנע חומצות שומן כ Very Low Density Lipoprotein triglyceride. כתוצאה מכך חומצות השומן שעוברות אסטרפיקציה מאוחסנות בכבד [6]. כאשר השרו קטוזיס על ידי מניעת תזונה נמצא שמצב מקדים לקטוזיס הוא כבד שומני [1, 6]. מעבר לכך, ידוע שמצב גופני עודף (BCS) בהמלטה מהווה גורם סיכון בהתפתחות קומפלקס המחלות כבד שומני-קטוזיס בתחילת התחלובה; זאת כנראה עקב ריכוז גבוה של חומצות שומן בכבד אשר מכבידים על תפקודו וההתמודדות עם הדרישה האנרגטית בתחילת התחלובה. כאשר ההפטוציטים עוברים את סף היכולת לנצל או לפנות את חומצות השומן מצטברים טרי-גליצרידים בהפטוציט ופוגעים בתפקודו, הפגיעה הכבדית פוגעת בגלוקונאוגנזה בכבד, הפרה הופכת להיות היפוגליצמית ומדוכאת. כתוצאה מכך, Ac-CoA מצטבר ונדחס עם עצמו ליצירת גופי קטון וקטונמיה, צריכת המזון

יורדת וייצור החלב נפגם. לכן, כאשר ההפטוציטים אינם מסוגלים להתמודד עם עומס חומצות השומן נוצר הקומפלקס כבד שומני-קטוזיס ונפגמת תנובת החלב [1].

להיפוגליצמיה וגלוקוז השפעה ישירה על ייצור החלב ותפקוד תקין של בלוטת החלב. גלוקוז משפיע על שגשוג רקמת אפיתל בלוטת החלב בתיווך הורמונים (יפורט בפרק השפעות הורמונאליות), מניע את משאבות המים והאלקטרוליטים לתוך העטין, מהווה אבן בניין בסינטזת לקטוז, אשר הוא בתורו מעלה את אוסמולריות החלב ומושך אחריו מים [3, 7].

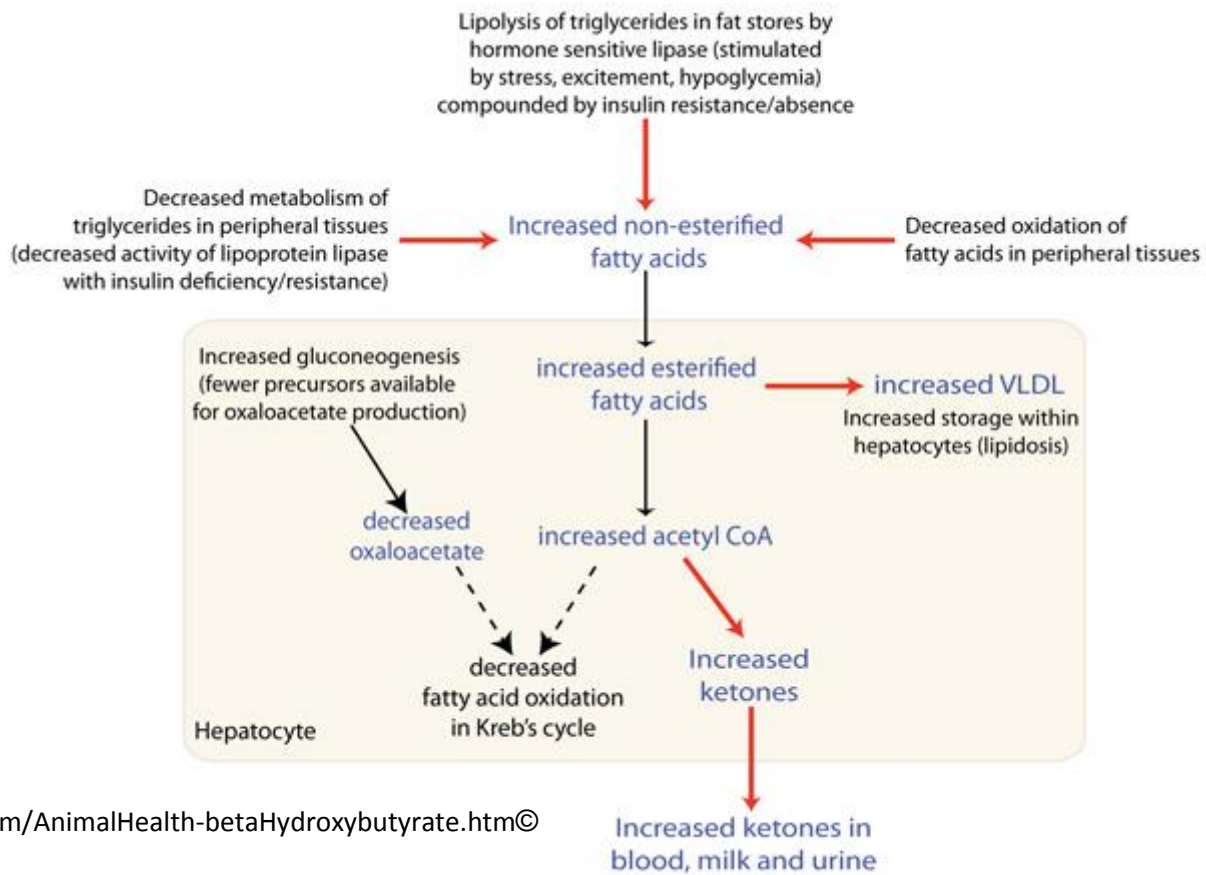
תצפיות הראו שצריכת המזון של הפרה הממוצעת צונחת ב 30% ביומיים שלפני ההמלטה ומתאוששת יום-יומיים לאחר ההמלטה. ביופסיות רקמת כבד של פרות חלב בהמלטה ו 4 שבועות בתחלובה הראו עלייה פי 3 ו 4 בריכוז הטרי-גליצרידים בהתאמה ביחס לייבוש [4, 6]. תוצאות אלו תומכות בהופעה של כבד שומני ויכולות להסביר את רגישות הפרה לפתח קטוזיס לאחר המלטה [8].

הגבלת צריכת המזון לפרות שבועיים לאחר ההמלטה לא הובילה לעליה גדולה בריכוז NEFA בפלסמה או שומנים בכבד [8]. עובדה זו מצביעה על כך שקיימים גורמים נוספים מעבר לצריכת מזון הקשורים בפיסיולוגית הפרה בסמוך להמלטה והם אלו המשפיעים על התפתחות המופע הנ"ל.

מחקר רב הושקע בהרכב המנה האופטימאלית עבור פרות. בשנים האחרונות התגלה שהרכב המנה במהלך תקופת היובש משפיע רבות על ביצועי הפרות בתחלובה. ניתן לומר כי מנת הפרות בתקופת היובש התבססה בעבר על שיעורים גבוהים של מזון גס קשה תסיסה (כגון קש וחציר) המכיל פחמימות מורכבות בהשוואה למנת חולבות אשר עם שיעור גבוה יותר של מזון מרוכז מהיר תסיסה, עם פחמימות פריקות כגון עמילן וסוכרים פשוטים. העלאת ריכוזיות מנת קבוצת הפרות היבשות מתבסס על מחקרים בהם הזנה עשירה במזון מרוכז טרם ההמלטה הובילה לעלייה בשטח הפפילות הסופגות חומצות שומן נדיפות בכרס לעומת הזנה ענייה במזון מרוכז [6].

מקובל לחשוב כי מצב בו הפרה עוברת ממנה דלת אנרגיה למנה מרוכזת באופן חד מדי עלול להוביל להתפתחות של חמצת כרס. מעבר כזה מאפיין את תקופת המעבר בפרות ולכן חמצת כרס שכיחה בפרות בתחילת התחלובה [4, 6]. ב pH נמוך מ 5.8 מתחילה פגיעה באוכלוסיית חיידקי הכרס. מכיוון שחיידקים מיצרי לקטאט מנצלים פחמימות פריקות (עמילן) בעילות הם יצמחו מהר יותר ועל חשבון אוכלוסיות חיידקים אחרות, בפרט אלו שהופכות לקטאט לחומצות שומן נדיפות. כתוצאה מכך יצטבר לקטאט בנוזל הכרס. כיוון שלקטאט היא חומצה חזקה פי 10 ($pK_a=3.86$)

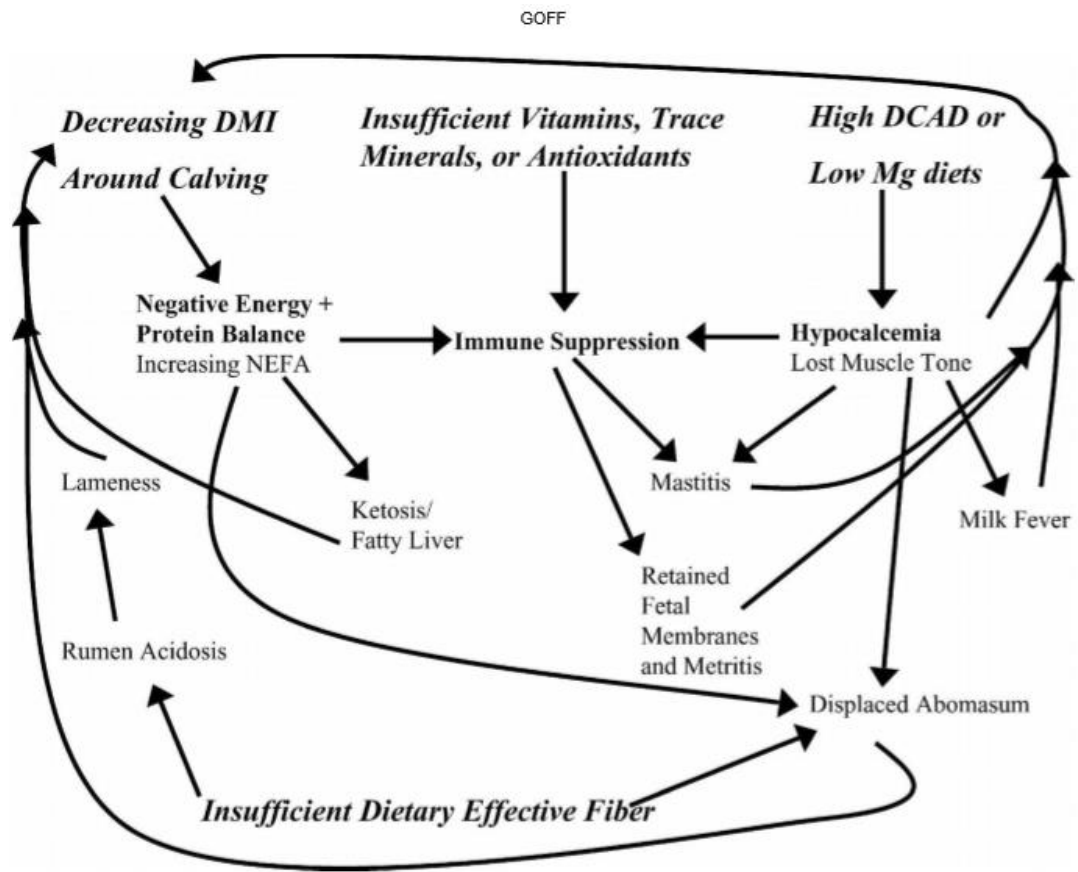
מחומצות השומן הנדיפות (pKa~4.8) ככל שתצטבר יותר כך ירד pH הכרס יותר; ב pH נמוך מספיק נפגעת רב גוניות אוכלוסיית החיידקים בכרס ומתקיימות האוכלוסיות העמידות לחומציות גבוהה. באופן הזה נפגע הסינרגיזם המיקרוביאלי להפקת חומצות שומן בכרס ומתערער המטבוליזם התקין של הפרה. בנוסף, חומציות יתר פוגעת ברירית הכרס ועלולה להוביל להתפתחות כיבים ובכך להקטין את שטח הספיגה הפונקציונלי בכרס [5]. כל זאת עלול להוביל לירידה בצריכת מזון ובספיגתו ממערכת העיכול ולכן לדרדר את הפרה לפתח קטוזיס.



איור מספר 4- תרשים זרימה המתאר את הקשר בין ניוד חומצות שומן ויצירה של גופי קטון. התרשים מתאר 3 מצבים המובילים לעלייה בריכוז NEFA בסירקולציה. אלו מובילים לעלייה בריכוז חומצות שומן בתא ההפטוציט (ורוד). כתוצאה מכך, במחסור ב-OXA, תוצרי פירוק חומצות השומן (Ac-CoA) נדחסים עם עצמם להעלאת ריכוז גופי הקטון בנוזלי הגוף.

1.2.2. פתופיסיולוגיה של מערכת החיסון

הזנה לא מספקת, ומאזן אנרגיה שלילי, פוגעים במערכת החיסון וחושפים את הפרה למחלות זיהומיות. בסמוך להמלטה יורדת צריכת מזון ב 30% כנראה כתוצאה מהעלייה בנפח העובר והרחם הדוחקים בנפח הכרס ועוד גורמים הורמונאליים (אשר יידינו בפרק 1.2.3) [5]. באותה העת הדרישה המטבולית גוברת עקב צריכה מוגברת על ידי העובר המתפתח, אירוע ההמלטה וייצור קולוסטרום [6]. כתוצאה מכך שכיח למצוא במהלך תקופה זו פרות במאזן אנרגטי שלילי עם ריכוז נמוך ברקמות ובנוזלי הגוף של מרכיבי מזון חיוניים, כגון ויטמינים ומינרלים. יתכן ואלו הגורמים המובילים לירידה ביעילות המערכת החיסונית בתקופה זו ולרגישות המוגברת לפתח מחלות זיהומיות כגון דלקת עטין ורחם, איור מספר 5 [8, 9].



איור מספר 5 - הקשר בין חסרים תזונתיים, מאזן אנרגיה שלילי ומחלות המלטה בפרת המעבר.

מחקרים רבים הראו את הקשר בין תחילת התחלובה וייצור החלב לדיכוי תאי מערכת החיסון. במחקר בו נמדד תפקוד של לימפוציטים ונויטרופילים בפרות חלב כמה שבועות לפני ואחרי ההמלטה נמצאה ירידה משמעותית בפעילות שני

סוגי התאים בימים הסמוכים להמלטה. באותו המחקר נמצאה השפעה לכריתת עטינים לפני ההמלטה על חזרה מהירה יותר לפעילות תקינה של נויטרופילים לאחר המלטה [8].

ניתן לומר כי אתגרים מטבולים סביב מועד ההמלטה משפיעים לרעה על הפעילות התאית של מערכת החיסון [9]. השפעה שלילית על מערכת החיסון תיתכן באופן עקיף על ידי מחסור במרכיבי מזון חיוניים כגון ויטמין E וסלניום (Se), מחסור בנוגדי חמצון ו/או מצב של סטרס חמצוני. ממצאים מאוחרים יותר הראו שלגופי הקטון השפעה ישירה, שלילית, על פעילות תאית של מערכת החיסון [9, 10].

עבודות אחרות הראו עיכוב בשגשוג של לימפוציטים בנוכחות ריכוזים משתנים של גופי קטון וירידה בצריכת גלוקוז על ידי לימפוציטים שנלקחו מהדם הפריפרי של פרות עם קטוסיס. באחת מהעבודות נמדדה השפעת קטוויס ספונטאני על ייצור אינטרפרון α ונמצא קשר שלילי בין ריכוז גופי הקטון בדם ושחרור האינטרפרונים בתגובה לחשיפה לפתוגנים ידועים [11]. מבחנים לבחינת פעילות לויקוציטים בפרות עם ריכוז גופי קטון משתנה נמצא יחס הפוך בין ריכוז גופי הקטון בדם לרמת הכימוטקסיס של לויקוציטים [9, 10, 12]. בנוסף, לויקופניה ושכיחות גבוהה של מחלות זיהומיות דווחו גם כאשר המחלה היתה בשלב הקת"ק. קת"ק הוא קשה לאבחנה, שכיחה יותר מקטוויס קליני ולרוב מלווה בירידה קלה בחלב אשר מורידה באופן מובהק את משך חיי הייצור של הפרה ברפת [13].

באופן יותר ספציפי, שפיגל וחובריו הראו ירידה משמעותית בפגוציטוזה ובמנגנוני הרג חוץ תאיים של נויטרופילים (Neutrophil Extracellular Traps; NETs) בנוכחות BHBA במודל In Vitro [14].

לסיכום, השפעות מאזן אנרגיה שלילי על מערכת החיסון מתווכות בחלקן דרך ריכוז גבוה של גופי קטון ובאות לידי ביטוי בעלייה בשכיחות מחלות ובחומרתן [10, 12, 15]. אחת ההשערות לירידה בביצועי הפרה כרוכה בדיכוי מערכת החיסון והגחתן של מחלות זיהומיות מזדמנות [9-12].

1.2.3. השפעות הורמונאליות

תקופת המעבר תלויה בצריכת מטבוליים והפרשתם של הורמונים שונים. קיימת התאמה והיזון חוזר בין הפרשת הורמונים רבים ובין רמת האכילה. לדוגמא, בעקבות צריכת מזון גלוקוגני (מקור לפרופיונאט) עולה הפרשת האינסולין בדם, כניסת גלוקוז לתאים גוררת עליה בריכוז ATP ובאופן עקיף לבנייה מואצת של חומצות שומן בתאי השומן.

בנוסף, מעכב אינסולין ייצור גופי הקטון על ידי עיכוב האנזים Hormone Sensitive Lipase ובכך מעכב שחרור חומצות שומן לדם המהוות את אבני הבניין לגופי הקטון [15, 16].

בעת מאזן אנרגטי שלילי ריכוזי אינסולין בדם נמוכים ועולה הפרשת גלוקגון, בשילוב עם מחסור במטבוליטים של TCA, פחות גלוקוז נכנס לתאים, Ac-CoA המתקבל מפירוק חומצות שומן יצטבר מחוץ למיטוכונדריה ויידחס עם עצמו עד כדי קבלת גופי הקטון. בנוסף, בנוכחות הורמוני העקה קורטיזול, נורואפינפרין ואפינפרין מפורקים מאגרי הגליקוגן בגוף, מתגבר ניוד NEFA ממאגרי שומן לטובת חמצון בכבד. נתיבים אלו יגבירו ריכוזי Ac-CoA בציטופלסמה וגם את רמת הקטוזיס בגוף [17]. הורמון העקה קורטיזול הוא גם בעל פעילות מעכבת של מערכת החיסון אשר מורידה את סף הרגישות של הפרה למחלות שניוניות.

בעת מאזן אנרגיה שלילי נרשמו ירידות ותנודות שאינן נורמאליות ב Luteinizing Hormone (LH), אינסולין ו Insulin Growth Factor 1 (IGF-1). הורמונים אלה חשובים להתפתחות תקינה של הזקיקים. רמות נמוכות של הורמונים אלו מובילות לירידה בביצועי הפוריות [18-20]. בנוסף, נמצא כי קיים קשר הפוך בין ריכוז גופי הקטון ומשך זרימתם בנוזלי הגוף לביצועי הפוריות [21]. בנוסף, נמצא קשר בין ריכוז גבוה של גופי הקטון ביום הראשון לאחר ההמלטה לאחוזי התעברות נמוכים בהזרעה ראשונה ומספר הזרעות גדול יותר בהשוואה לפרות עם ריכוזים תקינים של גופי קטון ביום הראשון לאחר המלטה [1, 21].

התפתחות תקינה של בלוטת החלב תלויה בין היתר ב IGF-1 אשר מושפע ביחס ישיר ממאזן האנרגיה. מחקרים ראשוניים הראו השפעה של Growth Hormone (GH) על ייצור החלב אולם בהמשך נמצא שהקשר מתווך דרך מולקולות אחרות כגון IGF-1. מודלים In-Vitro ו In-Vivo מראים צמיחה מוגברת של רקמת אפיתל בלוטת החלב בנוכחות IGF-1. לכן בעת מחסור באנרגיה צפויה האטה בהתפתחות בלוטת החלב [7, 22, 23].

1.3. קטוזיס תת קליני

קת"ק מוגדר כעלייה ברמת גופי הקטון בדם ובחלב ללא סימנים קליניים גלויים. קת"ק נחשב למצב מקדים לקטוזיס קליני; אף על פי כן קת"ק יתכן כמופע עצמאי. ערך הסף הנפוץ ביותר להגדרה של קת"ק שווה או גדול מ- BHBA 1400 $\mu\text{mol/L}$ בדם. במספר מחקרים הוצע ערך סף נמוך יותר של 1200 $\mu\text{mol/L}$ [20, 24-27]. במחקרים קודמים נמצא שפרות עם ריכוזים גבוהים מ 1400 $\mu\text{mol/L}$ של BHBA נמצאו בסיכון מוגבר לפתח קטוזיס קליני

לעומת פרות עם ריכוזים נמוכים מסף זה. נמצא שפרות תת קליניות עם ריכוזים גבוהים מ 1600, 1800 ו 2000

$\mu\text{mol/L}$ של BHBA הניבו 1.8, 3 ו 4 ק"ג פחות חלב ליום בהתאמה [28].

למרות ערכי הסף המוחלטים בדם האבחנה של קת"ק סובייקטיבית, ומתבססת פעמים רבות על אמצעי ניהול ממוחשבים ולא דווקא על הבדיקה הפיסיקאלית של בעל החיים.

1.4. אפידמיולוגיה

1.4.1. קטוזיס קליני

שיעור התחלואה בקטוזיס בבקר לחלב עולה עם עליית האינטנסיביות של הממשק. המחלה בעולם אינה נפוצה בקרב פרות בתחלובה ראשונה [29], אך אינה נדירה במבכירות בישראל. שיעור התחלואה בקטוזיס קליני משתנה וקשה להערכה בגלל שונות גבוהה בשיטות הבדיקה. ממשק והזנה הינם גורמים משפיעים בעלי שונות גבוהה בין רפתות ואזורים שונים. בעולם מדווח על שכיחות (Prevalence) של 3-22% [30] או אפילו 7-32% [31], כתלות בתחלובה. היארעות (Lactation incidence rate) של 1.87-13% [30] או 2-15% [29]; חציון היארעות של 5% עם טווח של 1-18% [2] רוב מקרי הקטוזיס מתרחשים בשבועות הראשונים לאחר המלטה [29, 30]. שיעור התחלואה הממוצע בקטוזיס בישראל הוא 14.1% ו 20.3% במבכירות ופרות בהתאמה (עלייה של כ-7% ב 7 שנים האחרונות בשתי קבוצות הגיל) [32].

1.4.2. קטוזיס תת קליני

בדומה לקטוזיס קליני, היא היארעות קת"ק נמצא בשבועיים הראשונים לתחלובה. במחקר שבדק היארעות קת"ק בין ימים 3-16 לתחלובה נמצאה היא היארעות ביום 5 [33]. לעומת זאת, משך התחלואה ושכיחות המחלה אינם קבועים ותלויים רבות ברפתות ובאופן איסוף הנתונים בעבודות שבחנו זאת; לדוגמא, במקור אחד צוין שאורך התחלואה נמשך לפחות שבוע ובממוצע 3 שבועות [28] ובעבודה אחרת צוין שחציון ימים לאורך תחלואה הוא 5 ימים [33]. במחקר פרוספקטיבי שנמשך שנתיים וחצי וכלל 32 חוות במחוז Ontario שבקנדה תועדו אחוזי שכיחות של עד 34% [26]; בעבודה אחרת נאמדו אחוזים גבוהים בהרבה, 80% [34]. למיטב ידיעתנו, עוד לא נאמד שיעור התחלואה בקת"ק בקרב בקר לחלב בישראל.

כיוון שקת"ק הינו שכיח, מתעתע וקשה יותר לאבחנה מקטוזיס קליני הוא גם מזיק יותר [26, 27]. הפגיעה הכלכלית מוערכת ב \$80 למקרה [35]. בדומה לקטוזיס קליני, קיימת פגיעה בייצור בפוריות [20, 26]. מכיוון שלרוב הפגיעה היא כרונית הסימנים הקליניים עדינים ומופיעים מאוחר יותר בתחלובה.

1.5. אבחון

סימנים קליניים מובהקים לקטוזיס מופיעים בחלק קטן מהמקרים. קת"ק הוא שכיח יותר ולרוב מלווה בירידה קלה בחלב והתקצרות מובהקת של משך חיי הייצור של הפרה ברפת [13]. כיוון שקטוזיס מאופיין מחד ברמות גבוהות של אוריאה ושומן בחלב ומאידך ברמות נמוכות של חלבון ולקטוז פותחו מבחנים שונים לאיתור קת"ק המסתמכים על יחסים של רכיבים אלו בחלב [25]. קיימים מכשירי ניטור רבים לבדיקת גופי קטון בדם ובחלב, המבוססים על ספקטרופוטומטריה, ושיטות אבחון נוספות [25, 27, 28, 35, 36]. בדיקות אלו מצריכות מכשור, זמן ארוך ועלותן יקרה. בישראל מקובלת הוצאת שתן באמצעות קשית ובחינת ריכוז גופי הקטון בשתן באמצעות מקלון המיועד לאיתור גופי קטון בשתן, Ketostix© של חברת Bayer. מבחן זה נותן תשובה מהירה לנוכחות גופי קטון בשתן ברגישות וספציפיות גבוהות, 78% ו 96% בהתאמה [37]. רוב הפרות הסובלות מקטוזיס מאותרות כיום על ידי הוטרניר בבדיקה השגרתית לאחר ההמלטה בשילוב עם מערכות ניטור בזמן אמת של קצב העלייה בתנובת החלב והרכב המוצקים בחלב [27].

קיים יתרון למערכות ניטור בזמן אמת בכך שהן מתריעות מיד עם עליית גופי קטון בחלב. אולם במרבית הרפתות לא קיים מכשיר אמין כזה.

במקומות מסוימים בעולם קימת המלצה לבדוק את כל הפרות באופן קבוע בחודש הראשון לתחלובה, כאשר בדיקה שבועית לאחר המלטה תיתן הבנה טובה יותר לגבי מצב הקטוזיס. משטר זה אינו מונע את שכיחות הבעיות המטבוליות, אך מאפשר מתן מהיר ויעיל של הטיפול [28]. מרבית הוטרנירים ברפתות בישראל בודקים פרות לפי גורמי סיכון ותנובת חלב יומית.

1.6. מניעה וטיפול

1.6.1. מניעה

הורדת שכיחות המחלה אינה דבר פשוט, אולם שיפור ממשקי נמצא כיעיל בחלק מהמקרים. שיפור ממשקי כאמצעי להורדת שכיחות המחלה מתבסס ברובו על שיפור ממשק ההזנה בתקופת היובש ובתחלובה. ממש הזנה נכון מטרתו לעודד הסתגלות שטח הספיגה והפפילות בכרס להזנה מרוכזת יותר, שיפור הסתגלות המיקרופלורה ובניית אוכלוסיות עמידות ויציבות לתוצרי תסיסה של מזונות מרוכזים. כיוון שהתפתחות מלאה של הפפילות עורכת כ-5 שבועות [6] והסתגלות של המיקרופלורה בכרס אורכת כ-3-4 שבועות [4] מומלץ לחשוף את הפרה למזונות מרוכזים יותר במהלך 3 שבועות לפני המלטה. פעולות אלו ישפרו את צריכת המזון וניצולת המזון על ידי שיפור ספיגתו ממערכת העיכול. פרות אשר הוזנו במזון מרוכז במהלך השבועות האחרונים של ההיריון צרכו יותר חומר יבש לעומת פרות שהוזנו במזון גס והיו במאזן אנרגטי חיובי אשר הקל עליהן את ההתמודדות עם תחילת התחלובה [5].

דרך נוספת לשיפור צריכת מזון וייצור חלב בתחילת תחלובה הוצגה במחקר אחר בו הראו שפרות שקיבלו 60-80% מהאבסה חופשית בתקופת היובש צרכו יותר מזון בתחילת תחלובה והציגו ביצועי ייצור משופרים לעומת פרות שהואבסו באופן חופשי בתקופת היובש [8].

מספר הליכים נמצאו כיעילים במניעת המחלה, אם כי יתכן שלא כולם אפשריים ברמת העדר. הזנה מבוקרת פרטנית עלולה למנוע היווצרות המחלה. יצירת פיסטולה בדופן הכרס והזנת הפרה דרכה באופן מבוקר הפחיתה את כמות הטרי-גליצרידים בכבד [4, 6]. באופן דומה, יתכן והגמעה מניעתית בפרופילן גליקול בסמוך להמלטה תפחית את כמות הטרי-גליצרידים בכבד [4, 6, 8]. הוספת מונזין למנה שיפרה תהליכי עיכול המזון על ידי הסתת האוכלוסיות המיקרוביאליות בכרס לכאלו המייצרות יותר פרופיונאט. אסטרטגיה זו נמצאה כיעילה בצמצום שכיחות הקטוזיס, היסט קיבה ואצירת שליה [8, 26, 38].

עבודות רבות נעשות על אסטרטגיות חדשות למניעת קטוזיס אשר יעילותן עוד מוטלת בספק. אלו עוסקות בעיקר בהערכת התרומה של תוספי מזון. בין החומרים נמנים תוספי המזון ניאצין וכולין מוגן-כרס, קסיליטול, ויטאמין B12, גלוקטאמין, גלוקגון, קלציום פרופיונאט, גליצרול ועוד.

1.6.2. טיפול לקטוזיס

הטיפול הקליני המקובל לקת"ק זהה לטיפול בקטוזיס קליני ומתרכז בעירוי 3 חומרים לגוף הפרה: דקסטרוז, פרופילן גליקול וקורטיקוסטרואידים [2].

טיפול זה כולל:

1. תיקון ההיפוגליקמיה על ידי עירוי דקסטרוז הנצרך על ידי תאי הגוף ליצירת אנרגיה.
 2. גלוקוקורטיקואידים לניצול Ac-CoA המגיע מחמצון חומצות שומן, יחד עם העלאת ריכוז הגלוקוז בדם על ידי ניתוב מסלולים מטבוליים לכיוון של גלוקונאוגנזה בכבד והורדת ניצול גלוקוז ברקמות [2, 30].
 3. חידוש מלאי OXA. נעשה על ידי עירוי פומי של פורפילן גליקול אשר מהווה חומר מוצא ל OXA המהווה מרכיב חיוני בהנעת TCA ובכך מאפשר ניצול טוב יותר של Ac-CoA. עירוי זה מהווה גם חומר מוצא לגלוקונאוגנזה.
 4. אספקת ו/או העלאת זמינות המינים הגלוקוגנים באבוס.
יתרונות וחסרונות הטיפול לקטוזיס כפי שסוכמו בכנס הצפון-אמריקני לוטריןריה [2]:
 1. עירוי הדקסטרוז מעלה באופן מדי את ריכוז הגלוקוז בפלסמה (48 ± 280 mg/dl) [39] ומוריד את ריכוז חומצות השומן בדם, אולם השפעתו היא קצרה מאוד וגלוקוז חוזר לרמת בסיס תוך שעותיים מהעירוי. לעומת זאת, עירוי גלוקוקורטיקואידים מעודד היפרגליצמיה תוך 24 שעות שנמשכת זמן ארוך יותר, בין 48-72 שעות לאחר העירוי.
 2. נמצא קשר בין היפרגליצמיה המתקבלת לאחר עירוי דקסטרוז וירידת קצב פינוי האבומאזום; ירידה בפינוי המעכל מהקיבה מעודדת ייצור גזים ומעלה את הסיכוי להיסט אבומאזום [34, 40].
 3. הוזכרו 3 חסרונות לעירוי גלוקוקורטיקואידים: דיכוי מערכת החיסון, ירידה בחלב והיפוקלמיה. אך כולם זניחים לאור המינון הנמוך הניתן והיתרונות המושגים בפועל להוצאת הפרה ממעגל התחלואה.
 4. פרופילן גליקול מהווה חומר מוצא גלוקוגני. 15 דקות לאחר עירוי מתרחשת עלייה מהירה בגלוקוז, 15 דקות לאחר מכן מתרחשת עלייה חדה בריכוז אינסולין. השיא בגלוקוז מגיע לאחר 75 דקות מהעירוי וריכוז גבוה נשאר לפחות 12 שעות לאחר המתן. יתרונותיו עולים בהרבה על החסרונות במידה והעירוי נעשה על ידי כוח עבודה מיומן. החסרונות במתן שכזה הן עליית הסיכון לשאיפת החומר לריאות.
- כל הניסויים שנעשו בתחום של טיפול לקטוזיס דיווחו על יעילות טובה יותר לשילובים של מרכיבי הטיפול הנ"ל.

כאמור, הטיפול המקובל כיום לקת"ק דומה לטיפול לקטוזיס קליני. בניסוי שנערך במינסוטה על ידי Jerome Carrier וחבריו נמצא כי הטיפול המקובל לפרות הסובלות מקת"ק שיפר את מצבן המטבולי, אולם העלה אחוזי יציאה מהעדר [40] (נספח א, ב; Unpublished data). תוצאה זו היא שונה בתכלית מתוצאות אחרות שנתקבלו במחקרי טיפול לקטוזיס בהם הראו יעילות מובהקת לטיפול [2, 26, 34, 38, 42]. החוקר מסביר את התוצאה בשונות בין האבחנה, פרוטוקול טיפול וגודל המדגם.

ככל הידוע לנו, בישראל עד היום עוד לא נאמדו שיעורי הקת"ק בעדר החלב ולא נבחנה יעילותו של הטיפול לקטוזיס בפרות עם קת"ק. מטרות העבודה הנוכחית הן לאמוד את שיעורי הקת"ק בעדר החלב הישראלי ולבחון את יעילות הטיפול המקובל במשק לפרות עם קת"ק, בדומה לעבודה שנעשתה על ידי ד"ר Jerome Carrier. השערת העבודה הנוכחית היא שהטיפול המוצע לקת"ק יעיל. טיפול זה על אף שפוגע מעט בשגרת היום ובמנוחתן של הפרות, משפר מצבן המטבולי של הפרות וצריכת המזון שלהן. משום שכך, היפותזת המחקר היא שפרות המאובחנות כסובלות מקת"ק ומטופלות בטיפול המקובל לקטוזיס קליני יציגו ביצועי ייצור משופרים בהשוואה לפרות המאובחנות כסובלות מקת"ק ואשר לא טופלו.

2. חומרים ושיטות

2.1. כללי

העבודה המוצגת הינה מחקר עוקבה פרוספקטיבי שבחן את יעילותו של הטיפול המקובל למחלת הקטוזיס בפרות הסובלות מקטוזיס תת קליני. אוכלוסיית המחקר כללה פרות שהמליטו בין התאריכים 3/12-5/13 בארבע רפתות שיתופיות: רפת דרום הממוקמת בקיבוץ גת, רפת גזר, רפת גנוסר ורפת גזית. הממשק ברפתות אלו אינטנסיבי וכולל שלוש חליבות ביום. הפרות משוכנות בסככות וניזונות ממנה כולית (TMR) שתוכנה בהתאם להמלצות ה-NRC – 1989.

2.2. קריטריונים להכללה

הניסוי כלל ארבע רפתות חלב, שתיים תחת טיפולו של ד"ר חן גילד (רפת גנוסר ורפת גזית), ושתיים תחת טיפולו של ד"ר תמיר גשן (רפת גת-פלמחים ורפת גזר). בניסוי נכללו 104 פרות חלב מגזע הולשטיין פריזי. הפרות נבררו מבין 2701 פרות שהגיעו לבדיקה שגרתית בין הימים 5-9 לאחר המלטה.

הפרות שנכללו בניסוי ענו על הקריטריונים:

- 1) הפרשה של גופי הקטון בשתן בריכוז מעל 1.5 מילימול לליטר.
- 2) העדר סימני תחלואה חריגים או ירידה בתאבון ובחיוניות.
- 3) ללא ירידה בחלב ב 24 שעות האחרונות.
- 4) תנובת חלב גבוהה מ 20 ו 25 ליטר למבכירות ובוגרות בהתאמה.

2.3. קריטריון לחלוקה לקבוצת ניסוי וביקורת

חלוקה לקבוצת ניסוי וביקורת נעשתה באופן אקראי לפי מספרי הכוויה על גבי הפרות. לקבוצת הביקורת התווספו פרות עם מספר כוויה זוגי ולקבוצת הניסוי התווספו פרות עם מספר כוויה אי זוגי.

2.4. פרוטוקול הניסוי

קבוצת הביקורת (מספר כוויה זוגי) טופלה על פי שגרת הטיפול המקובלת בחקלאית. בריכוז גופי קטון בשתן מתחת ל 8 מילימול לליטר הוגמעה בפרופילן גליקול בכמות של 500 גרם למשך שלושה ימים בשילוב שתי זריקות של דקסאמזון בהפרש של 24 שעות במינון של 0.05 מ"ג לק"ג משקל גוף (Dexafort®). פרות עם ריכוז גופי קטון

גבוה מ 8 מילימול לליטר קיבלו עירווי וורידי של 500 מ"ל סליין 50% דקסטרוז במקום הגמעת הפרופילן הראשונה. המשך הטיפול דומה לטיפול שקיבלו פרות עם ריכוז גופי קטון נמוך מ 8 מילימול לליטר. קבוצת הטיפול לא קיבלה טיפול כלל.

כל הפרות הוזמנו לביקור העוקב (3-5 ימים לאחר האבחון) לבדיקה מחודשת של הפרשת גופי קטון בשתן.

2.5. קריטריונים לאי הכללה

1. פרה מקבוצת הניסוי אשר סבלה מירידה בתיאבון ובחיוניות, חום או ירידה בחלב הוצאה מהניסוי וטופלה בהתאם לנהוג במשקים בישראל.

2. העדר עליה של 10% בתנובת החלב מהביקור הקודם כאשר ריכוז גופי הקטון בשתן מעל 1.5 מילימול לליטר. מעקב אחר פרת הניסוי נערך במשך 200 ימי תחלובה או עד יציאה מהעדר (הקודם מבניהם). איסוף הנתונים אחר פרות הניסוי נערך באמצעות המערכת הממוחשבת לניהול עדר החלב המצוי ברפתות השונות.

2.6. תכנית הניתוח הסטטיסטי

נתוני הבריאות ופוריות נלקחו מתוכנת ניהול העדר שבמשקי הניסוי (נעה). נתוני ביקורת החלב נלקחו מנתוני ספר העדר הישראלי. שני מסדי הנתונים אוחדו לכלל בסיס נתונים אחד בתוכנת Microsoft Excel 2007. מסד הנתונים הנ"ל הועבר לתוכנת SPSS לשם ביצוע הניתוח הסטטיסטי. שכיחות קת"ק חושבה על ידי חילוק הפרות המאובחנות בקת"ק בכלל הפרות שהמליטו בתקופת הניסוי, מתוך הנחה שכל הפרות שהמליטו עברו בדיקת רופא לנוכחות גופי קטון בשתן. הבדלים בשיעורי השכיחות בקת"ק בין רפתות הניסוי נבחנו באמצעות מבחן Z לבחינת יחסים בין שתי אוכלוסיות. הניתוח הסטטיסטי עסק בסטטיסטיקה תיאורית של ההבדלים בתחלואה בין שתי קבוצות הניסוי במהלך התחלובה. מדדי התחלואה שנבדקו:

1. קדחת חלב- משתנה דיכוטומי. פרות עם או ללא קדחת חלב. פרה שאובחנה כסובלת מקדחת חלב וטופלה

בעירווי סידן נרשמה כסובלת מקדחת חלב.

2. אצירת שילייה- משתנה דיכוטומי. ממליטה אשר לא פלטה את השילייה עד 24 שעות מהמלטה הוגדרה

כאוצרת שילייה.

3. דלקת רחם- משתנה דיכוטומי. אובחנה ע"י רופא וטרינר בבדיקה השגרתית 6-9 ימים לאחר המלטה. האבחנה נעשתה על סמך בדיקה רקטאלית ווגינאלית ע"י הרופא המטפל. הטיפול שניתן כלל החדרת אובלטים של טטראציקלין דרך צוואר הרחם.
4. תאומים- משתנה דיכוטומי.
5. היסט קיבה- משתנה דיכוטומי. הוגדר כהיסט קיבה לשמאל או לימין לפי אבחנת רופא. האבחון נעשה באמצעות הסכתה במהלך הקשה ודחיקה של הכרס והאבומאזום לאיתור צליל בתדר גבוה (Ping) המתקבל כתוצאה משינוי בשכבתיות הכרס.
6. בצקת עטין- משתנה דיכוטומי. הטיפול בבצקת עטין מתבסס על מניעה בהזנה מתאימה, ובמקרים קשים מוסיפים NSAID, חומרים משתנים וסטרואידים.
- מחלות המלטה צניחת רחם, ולד מת בהמלטה, זירוז המלטה, ודלקת עטין לא הוכנסו לסטטיסטיקה תיאורית מפאת מקרה יחיד או חוסר במקרים.
- נבחנו הקשרים החד גורמיים בין המשתנים הבלתי תלויים (עם/בלי טיפול לקטוזיס) למשתנים התלויים (התעברות בהזרעה ראשונה, חוסר תאנה, שחלות לא פעילות וריקות ב 180 ימים) באמצעות מבחן χ^2 . לבחינת משתנה דיכוטומי עם מספר נמוך מ 6 תצפיות נעשה שימוש במבחן Fisher's exact. השימוש במבחן Fisher's exact נעשה במקרים הבאים: תאומים, קדחת חלב והיסט קיבה. בחינת התפלגות משתנה רציף, כגון איבוד ציון גופני (BCS), בין קבוצות הניסוי נעשה באמצעות מבחן t.
- מדדי הפוריות שנבדקו:
1. חוסר תאנה- משתנה דיכוטומי. פרה אשר לא נצפתה בדרישה והוגשה לבדיקת רופא.
 2. שחלות לא פעילות- משתנה דיכוטומי. הוגדר בפרה אשר בשתי בדיקות רקטליות עוקבות בהפרש של שבוע זו מזו לא זוהה גוף צהוב באף אחת משחלותיה.
 3. התעברות בהזרעה ראשונה- משתנה דיכוטומי.
 4. ריקות ב 180 ימים- משתנה דיכוטומי.

לאחר מכן נותחה השפעת המשתנים הבלתי תלויים על פוריות ע"י רגרסיה לוגיסטית רב גורמית שכללה, בנוסף למשתנה התלוי והבלתי תלוי, את המשתנים שנמצאו כמובהקים ברמת מובהקות של $P < 0.25$ בקשר החד-גורמי. במודל מסוג רגרסיה לוגיסטית ניתן לתאר את ההסתברות למשתנה תלוי (לדוגמא: התעברות בהזרעה ראשונה) דיכוטומי (כן/לא התעברה) תוך התייחסות בו זמנית למספר משתנים מסבירים (המשתנים הבלתי תלויים). השפעת המשתנים הבלתי תלויים מייצגת יחס של סיכויים.

ניתוחי קצב ההתעברות והיציאה מהעדר עד 200 ימים בתחלובה בוצעו ע"י ניתוח השרדות מסוג קפלן-מאייר (Kaplan-Meier).

השפעת הטיפול על תנובת חלב נותחה ע"י מבחן Repeated measures רב גורמי באופן דומה למתואר לעיל.

2.7. אישורים

העבודה בוצעה תחת המימון של מנהל המחקר החקלאי מטעם משרד החקלאות – תכנית מספר 668010912 בשנת 2012. תכנית המחקר הוגשה ב 2011 ואושרה כתוכנית שאינה כוללת ניסויי בבעלי חיים והטיפולים בה הוגדרו כממשקים אשר אינם חורגים מהמקובל במשק החלב ולכן לא הוגשה בקשה לאישור אתי.

3. תוצאות

3.1. סטטיסטיקה תיאורית

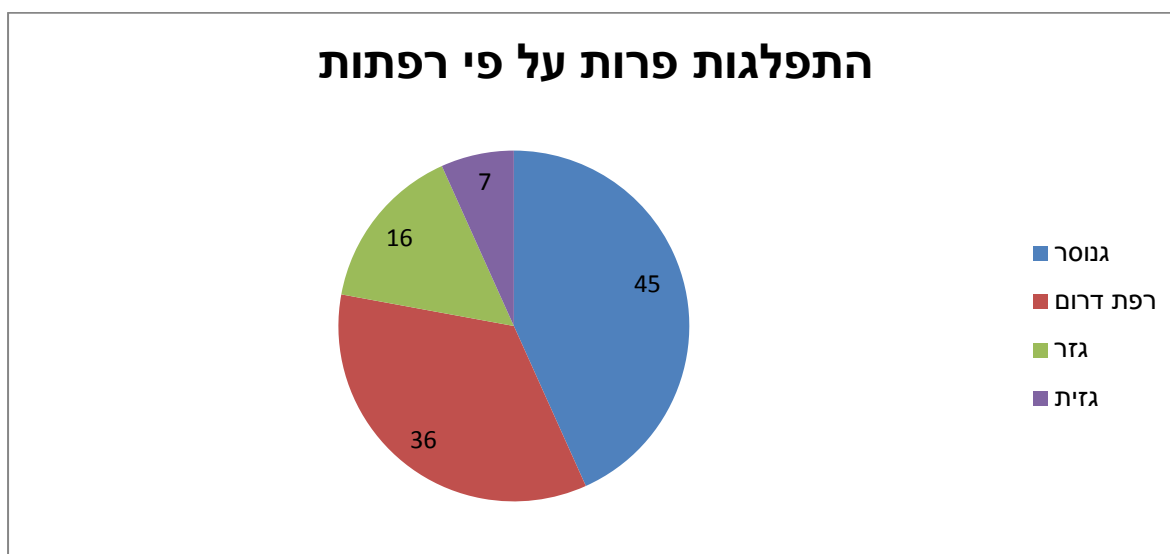
בניסוי השתתפו 104 פרות עם קת"ק מארבע רפתות שיתופיות: רפת דרום, רפת גזר, רפת גנוסר ורפת גזית. הניסוי כלל 2 קבוצות של פרות:

(1) קבוצת "ביקורת" (פרות עם מספר כווייה זוגי, קיבלו את הטיפול הנהוג לקטוזיס) - 46 פרות.

(2) קבוצת ה"טיפול" (פרות עם מספר כווייה אי זוגי, לא קיבלו טיפול לקטוזיס) - 58 פרות.

לא נמצאה השפעה מובהקת של הרפת על גודל קבוצות הניסוי ($P=0.639$).

חלוקת הפרות בקבוצות הניסוי ברפתות השונות מוצגת באיור מספר 1.

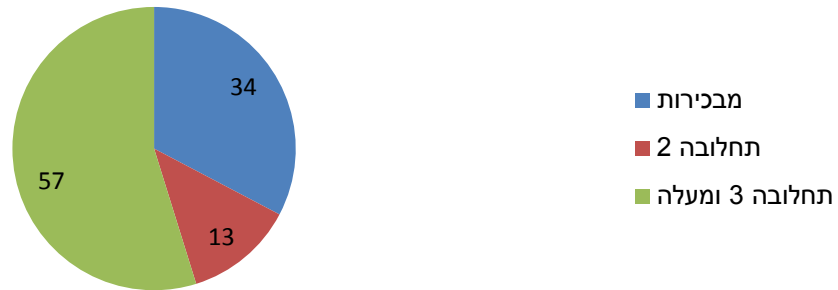


איור מספר 1 - התפלגות הפרות לפי רפת המקור שהשתתפה בניסוי.

בניסוי השתתפו 34 מבכירות, 13 פרות בתחלובה שנייה ו-57 פרות בתחלובה שלישית ומעלה (איור 2). לא נמצאה

השפעה מובהקת לתחלובה על החלוקה לקבוצות הניסוי ($P=0.89$).

התפלגות פרות על פי תחלובות



איור מספר 2- התפלגות הפרות לפי תחלובות.

64 פרות המליטו בחורף ו40 פרות המליטו בקיץ. לא נמצאה השפעה לעונה על חלוקת הפרות בין קבוצות הניסוי ($P=0.901$).

התפלגות פרות על פי עונות השנה



איור מספר 3- התפלגות הפרות בקבוצות הניסוי לפי עונות.

התפלגות הפרות בין רפתות הניסוי, עונות המלטה, תחלובות ושיעורי מחלות המלטה בקבוצות הניסוי מופיעה בטבלה מספר 1. לא נמצא הבדל מובהק ($P>0.05$) בהתפלגות הפרות בין רפתות הניסוי, עונת המלטה, תחלובה ושיעורי מחלות ההמלטה השונות בין קבוצות הניסוי.

קריטריון	ביקורת	טיפול	אחוז מאוכלוסיית המחקר	הבדל בין קבוצות
רפת דרום	19	17	34.6%	$P=0.639$
רפת גזר	6	10	15.4%	
רפת גזית	3	4	6.7%	
רפת גנוסר	18	27	43.3%	
קיץ	18	22	38.5%	$P=0.901$
חורף	28	36	61.5%	
מבכירות	16	18	32.7%	$P=0.89$
תחלובה שנייה	6	7	12.5%	
תחלובה שלישית ומעלה	24	33	54.8%	
תאומים	1	2	2.9%	$P=0.587$
קדחת חלב	0	2	1.9%	$P=0.309$
היסט קיבה	1	2	2.9%	$P=0.587$
אצירת שילייה	4	3	6.7%	$P=0.476$
דלקת רחם	18	31	47.1%	$P=0.146$
בצקת עטין	8	10	17.3%	$P=0.984$

טבלה מספר 1 - התפלגות הפרות לפי נתונים דמוגרפיים ושיעורי תחלואות ההמלטה בקבוצות הניסוי השונות.

לא נמצא הבדל מובהק באובדן מצב גופני מהמלטה ועד שיא החלב בין קבוצות הניסוי ($P=0.918$).

שכיחות קת"ק ברפתות הניסוי במהלך תקופת הניסוי (שנה וחודשיים) מוצגת בטבלה מספר 2. אומדן שכיחות קת"ק

בכלל רפתות הניסוי עמד על 3.7%. הבדלים בשכיחות קת"ק בין רפתות הניסוי הם מובהקים.

הבדל בין רפתות	שכיחות בשנה	רפת
a	2.6%	רפת דרום
b	2.4%	רפת גזר
c	1.9%	רפת גזית
d	11.1%	רפת גינוסר
	3.7%	כלל הרפתות

טבלה מספר 2 - שכיחות קת"ק ברפתות הניסוי השונות. אות אנגלית שונה בעמודת "הבדל בין רפתות" מתארת הבדל

מובהק ($P<0.05$).

3.2. השפעה על ביצועי הפוריות

מדדי פוריות של הפרות בקבוצות השונות מוצגים בטבלה מספר 3. לא נמצאו הבדלים מובהקים בין קבוצות הניסוי

במדדי הפוריות שנבדקו – חוסר תאנה ($P=0.323$); חוסר פעילות שחלתית ($P=0.940$); התעברות בהזרעה ראשונה

; $(P=0.901)$

קריטריון	ביקורת	טיפול	אחוז מאוכלוסיית המחקר	הבדל בין קבוצות
חוסר תאנה	11	19	28.8%	$P=0.323$
שחלות לא פעילות	3	4	6.7%	$P=0.94$
התעברות בהזרעה ראשונה	14	17	29.8%	$P=0.901$

טבלה מספר 3 - השפעות הטיפול על פוריות הפרות.

טבלה מספר 4 מציגה את התעברות הפרות עד 180 ימים בתחלובה. לא נמצאו הבדלים מובהקים בין קבוצות הניסוי

במוצע וחציון ימים עד התעברות ($P=0.683$); ובריקות ב-180 ימים ($P=0.567$).

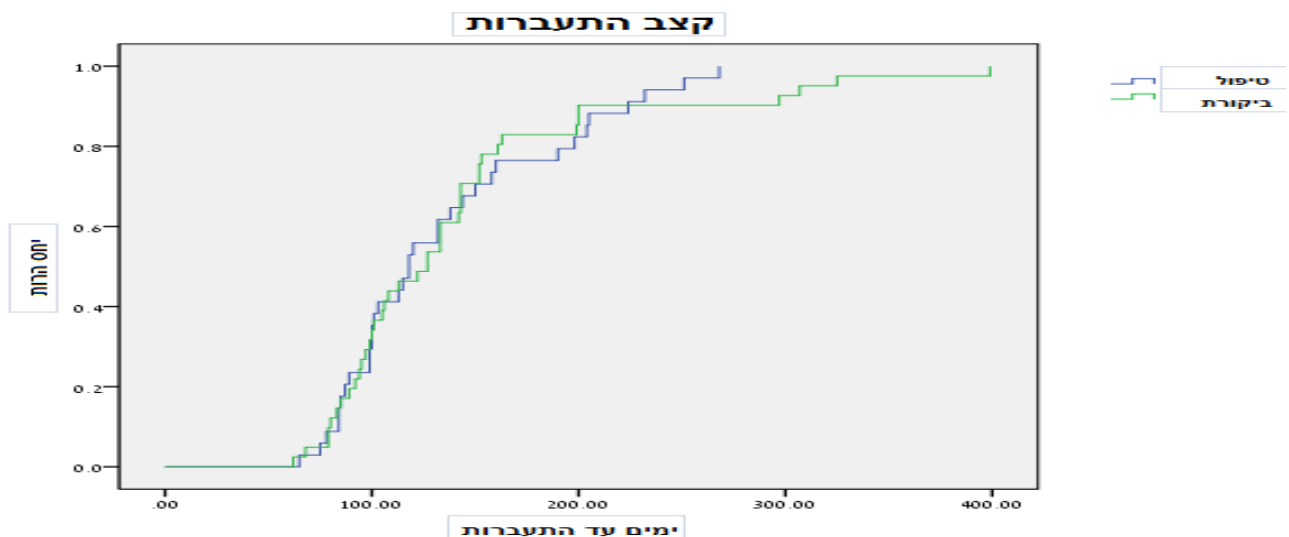
קריטריון	ביקורת	טיפול	הבדל בין קבוצות
ממוצע ימים עד התעברות	135.8	141.2	$P=0.683$
חציון ימים עד התעברות	118	127	
ריקות 180 ימים	20	22	$P=0.567$

טבלה מספר 4 - השפעות הטיפול על ריקות ב-180 ימים, ממוצע וחציון ימים עד התעברות.

איור מספר 4 מתאר את עקומת התעברות כפונקציה של ימים. אנליזת ההתעברות נעשתה באמצעות מבחן קפלן-מאייר

לבחינת קשר חד גורמי. לא נמצא הבדל מובהק בין קבוצת הטיפול לביקורת בקצב ההתעברות ($P=0.683$). לא נמצאה

השפעה לטיפול על קצב ההתעברות.



איור מספר 4 - קצב התעברות הפרות בקבוצות הניסוי.

תוצאות מודל רב גורמי להתעברות בהזרעה ראשונה מוצגות בטבלה מספר 5. המשתנה היחיד שנכנס למודל לאחר

שנמצא בעל קשר לטיפול לקטוזיס במבחן χ^2 עם רמת מובהקות $P=0.146$ הוא דלקת רחם. במודל הרב גורמי

המשתנה הבלתי תלוי של טיפול לקטוזיס נמצא כלא משפיע על התעברות בהזרעה ראשונה (OR 0.911, Sig

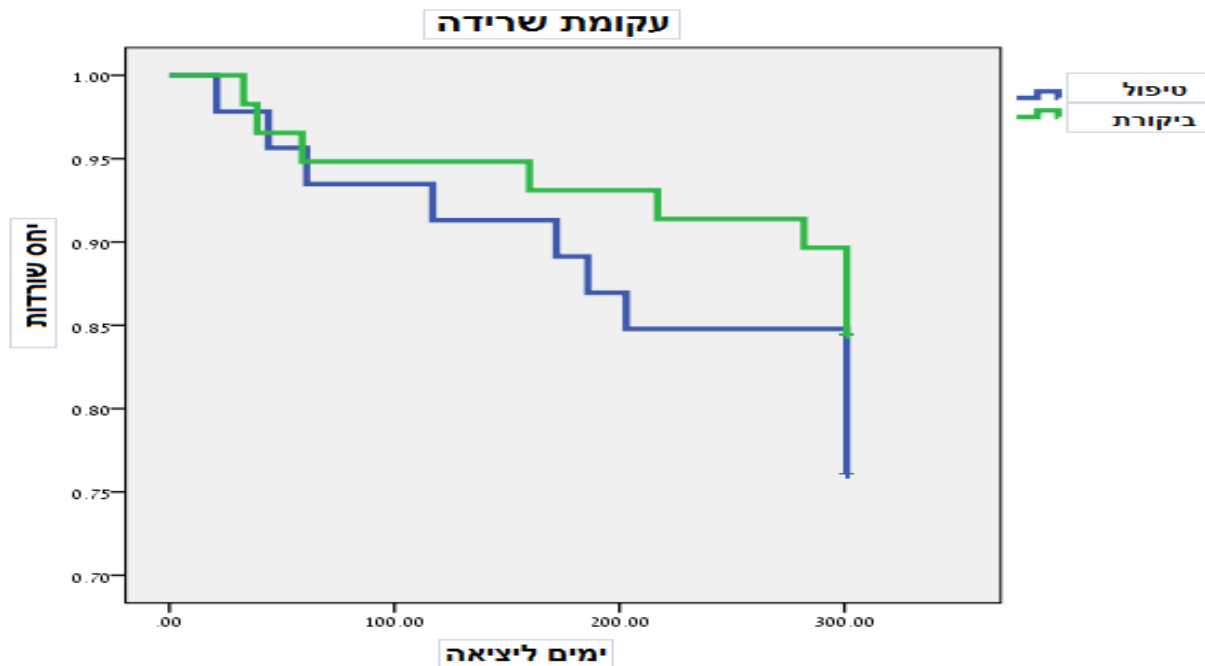
0.832). כמו כן משתנה דלקת רחם נמצא כלא משפיע על התעברות בהזרעה ראשונה (OR 1.31, Sig 0.534).

Variable	Sig.	Adj.	95% C.I. for OR	
			OR	
			lower	Upper
Treatment	0.832	0.911	0.387	2.145
Metritis	0.534	1.31	0.559	3.069

טבלה מספר 5- תוצאות המודל הרב גורמי לבחינת הגורמים המשפיעים על התעברות בהזרעה ראשונה.

3.3. השפעה על יציאת פרות

הישרדות הפרות בקבוצות הניסוי נבחנה עד 200 ימים מהמלטה. 7 פרות מקבוצת ביקורת ו6 פרות מקבוצת הטיפול יצאו מהעדר במהלך 200 ימים מהמלטה. בבדיקת הישרדות הפרות באמצעות ניתוח הישרדות מסוג קפלן מאייר לא נמצא הבדל מובהק בין קבוצת הטיפול והביקורת ($P=0.285$). לא נמצאה השפעה מובהקת של הטיפול על שרידות הפרות בעדר עד 200 ימים.



איור מספר 5 - קצב היציאה מהעדר עד 200 ימים בתחלובה.

3.4. השפעה על ייצור חלב

השפעת הטיפול על תנובת החלב של פרות הניסוי נבחנה במודל רב גורמי. לא נמצא הבדל מובהק ($P>0.05$) בין

קבוצות הניסוי בכל שקילות החלב. תוצאות המבחן מוצגות בטבלה מספר 6.

משתנה	ביקורת	טיפול	מובהקות ההבדל בין הקבוצות
שקילה ראשונה	40.7 ק"ג/יום	38.5 ק"ג/יום	($P=0.275$)
שקילה שנייה	44 ק"ג/יום	45.1 ק"ג/יום	($P=0.487$)
שקילה שלישית	44.2 ק"ג/יום	43.7 ק"ג/יום	($P=0.777$)
סיכום כל השקילות	45.4 ק"ג/יום	44.5 ק"ג/יום	($P=0.478$)

טבלה מספר 6 - תוצאות מבחן Repeated measures רב גורמי לבחינת השפעת הטיפול על תנובת החלב של פרות

הניסוי.

4. דיון ומסקנות

עבודת המחקר בחנה את יעילות הטיפול בפרות הסובלות מקת"ק. היפותזת המחקר שהטיפול לפרות הסובלות מקת"ק יוביל לביצועי ייצור משופרים בהשוואה לפרות אשר אינן מטופלות נבחנה ולא אוששה.

המטרה הראשונה של עבודת המחקר לאמוד שיעור קת"ק הושגה. שכיחות קת"ק בין ימים 5-12 לתחלובה במהלך תקופת הניסוי, נאמדה ב 2.6%, 2.4%, 1.9%, 11.1% ו 3.7% ברפת דרום, רפת גזר, רפת גזית, רפת גנוסר וממוצע כלל הרפתות בהתאמה. אומדנים אלו נמוכים בהרבה מהאומדנים המדווחים בעבודות אחרות. McArt דיווח בעבודה בה נבדקו כלל הפרות שהמליטו פעם ביומיים בין ימים 3-16 לתחלובה על שכיחות שיא של 28.9% ביום חמישי לתחלובה [33]. במחקר פרוספקטיבי שנמשך שנתיים וחצי וכלל 32 חוות במחוז Ontario שבקנדה תועדו אחוזי שכיחות של עד 34% [26]. בעבודה נוספת נאמדו אחוזים גבוהים בהרבה, 80% [34].

יתכן והסיבה לשכיחות הנמוכה לקת"ק בעבודה שלנו הוא אבדן נתונים בבדיקה בין 5-12 ימים לתחלובה. McArt מצא בעבודתו שחציון הימים לפתח ולהחלים מקת"ק הוא 5. מכאן שקיים סיכוי סביר לפספס מקרים במידה ובודקים רק פעם אחת ובהפרש גדול מ 5 ימים בין בדיקה לבדיקה [33]. בדיעבד, בכדי להגיע לשיעור קת"ק מדויק יותר משנמצא בעבודה הנוכחית, בתכנון המחקר צריך היה לבצע סדרת בדיקות תכופה יותר מפעם ב 5 ימים [33].

המטרה השנייה של המחקר בחינת יעילות הטיפול לקת"ק הושגה גם היא. בחינת יעילות הטיפול הוגדרה והוערכה בראש וראשונה על פי מדד התעברות בהזרעה ראשונה. השערת האפס על פיה אין הבדל בהתעברות בהזרעה ראשונה בין קבוצות הטיפול התקבלה. בניתוח הנתונים במבחן χ^2 ($P=0.901$) ובמודל רב גורמי ($P=0.832$) שבחן השפעת הטיפול עם משתנה דלקת רחם לא נמצאה השפעה לטיפול על התעברות מהזרעה ראשונה. דלקת רחם נמצאה כמשתנה היחיד עם קשר לטיפול לקטוזיס ברמת מובהקות של $P<0.25$ בקשר החז-גורמי במבחן χ^2 עם רמת מובהקות $P=0.146$.

שיעור הפרות שהתעברו מהזרעה ראשונה בכלל אוכלוסיית המחקר (טיפול וביקורת מכול התחלובות) עמד על 29.8%. שיעור זה אינו שונה סטטיסטית ($P>0.05$) מהשיעור הממוצע ברפת הישראלית 32.8% (שיעור ממוצע בשנת 2013). בנוסף, לא נמצאה השפעה לטיפול על שאר מדדי הפוריות שנבחנו: חוסר תאנה ($P=0.323$); שחלות לא פעילות ($P=0.94$); קצב התעברות ($P=0.683$); ריקות ב180 ימים ($P=0.567$); ממוצע ימים עד התעברות

והציון ימים עד התעברות ($P=0.683$). שיעור שחלות לא פעילות בכלל אוכלוסיית המחקר 6.7% אינו שונה סטטיסטית ($P>0.05$) משיעור שחלות לא פעילות ברפת הישראלית 12.13%. שיעור חוסר תאנה בכלל אוכלוסיית המחקר 28.8% נמוך באופן מובהק משיעור חוסר תאנה ברפת הישראלית 38.9% ($P=0.034$).

הסיבה שביצועי הפוריות של אוכלוסיית המחקר דומים או משופרים ביחס לכלל אוכלוסיית הפרות בישראל אינה ברורה. תוצאה זו שונה מהמדווה בספרות. במחקרים שנערכו נמצא כי בעת מאזן אנרגיה שלילי ועלייה בריכוז גופי קטון בנוזלי הגוף מתועדת ירידה בביצועי הפוריות בין אם באופן ישיר או בתיווך הורמונאלי לקוי [18, 19, 21]. בנוסף, נמצא כי קיים קשר הפוך בין ריכוז גופי הקטון ומשך זרימתם בדם לביצועי הפוריות [21]. עבודות רבות הראו שפרות עם ריכוז גבוה של גופי קטון ביום הראשון לאחר ההמלטה היו עם אחוזי התעברות נמוכים בהזרעה ראשונה ועם מספר הזרעות גדול יותר בהשוואה לפרות עם ריכוז תקין [1].

בעבודה שנערכה במינסוטה על ידי Dr. Jerome Carrier וחבריו [41] (נספח א, ב; Unpublished data) נמצאה השפעה לטיפול על יציאה מהעדר. הפרות שטופלו לקת"ק יצאו מהר יותר מהעדר באופן מובהק מאלו שלא טופלו. Carrier מסביר את התופעה בכך שהטיפול כרוך בקשירת הפרה, בביצוע פרוצדורות פולשניות, פגיעה ברווחת הפרה וככל הנראה עלייה ברמות סטרס. בעבודה הנוכחית לא נמצאה השפעה לטיפול על יציאת פרות מהעדר ($P=0.285$). יתכן והסיבה לכך טמונה במיעוט הפרות בניסוי הנוכחי ומעקב שהופסק מוקדם יותר (200 ימים בעבודה הנוכחית אל מול 305 ימים בעבודה של Carrier).

לא נמצאה השפעה של הטיפול על תנובת החלב בשקילה ראשונה ($P=0.275$), שנייה ($P=0.487$), שלישית ($P=0.777$) ובכלל ($P=0.478$). בניסיון למצוא הבדל בניתוח שקילת החלב הראשונה של הפרות הבוגרות בהינתן השונות בקבוצות הטיפול ומובהקות רצויה של 0.05, ההסתברות למצוא הבדל מובהק של 3, 4, או 5 ק"ג היא 35.1%, 55.7% ו 74.8%, בהתאמה.

מחד העדר השפעה של הטיפול על תנובת החלב מתיישבת עם הקריטריונים להגדרת פרות הסובלות מקת"ק בניסוי ובכלל; קריטריונים להגדרת קת"ק כוללים בין היתר העדר פגיעה בייצור חלב. מאידך, הטיפול המקובל כיום לקת"ק כרוך בקשירת הפרה, בביצוע פרוצדורות פולשניות, פגיעה ברווחת הפרה וככל הנראה עלייה ברמות סטרס; בהסתמך על עבודות שהראו השפעה חיובית של רווחת הפרה על ייצור חלב צפויה פגיעה כלשהי בייצור החלב [44]. יתכן

שההשפעה התוספתית של הטיפול על תנובת החלב מתבטלת כתוצאה מהטיפול והפגיעה ברווחת הפרה הכרוכים בביצועו כפי שמסביר בעבודתו Carrier [41] (Unpublished data; נספח א); גם בעבודתו של Carrier לא נמצאה השפעה לטיפול על ייצור החלב. מצד שלישי, מצוטטת עבודה [34] שמצאה השפעות חיוביות על תנובת חלב בחודש הראשון לתחלובה עקב הגמעה בפרופילן גליקול.

השערה לכך שביצועי הפוריות של פרות המאובחנות עם קת"ק דומים או משופרים ביחס למוצע הארצי תלויה בשיעור האמיתי של הפרות עם קת"ק בישראל. במידה והשיעור האמיתי של קת"ק בישראל דומה לערך בספרות (McArt) דווח בעבודתו על שכיחות של 28.9% [33], מחקרים אחרים הראו שכיחות גבוהות יותר של 34-80% [26, 33, 34]) הרי שחלק ניכר מהמוצע הישראלי יהיה מושפע מפרות הסובלות מקת"ק, ולכן ממוצע אוכלוסיית המחקר לא ייפול רחוק מהמוצע הארצי. כפי שהוזכר קודם, רק מעקב וסדרת בחינות לנוכחות גופי קטון בתדירות גבוהה מפעם בחמישה ימים [33] לכלל הפרות הממליטות לאורך התחלובה יאפשרו לגלות את השיעור המדויק יותר של הפרות הסובלות מהמחלה.

מקור הסתירה בין הדיווחים בספרות והתוצאות שהתקבלו בעבודה הנוכחית בהקשר של השפעת הטיפול על ביצועי הפוריות אינה ברורה אך הועלו מספר השערות:

1. חלק מהדיווחים צוטטו [2, 4, 21] מעבודות שנעשו על פרות עם קטוזיס קליני ראשוני או שניוני; יתכן שמרכיב במחלה הגורם להתדרדרות המצב הקליני מוביל במקביל לירידה ניכרת בביצועי הפוריות בהשוואה לקת"ק.
2. חלק מהעבודות נעשו בחו"ל בהשפעת תנאים סביבתיים שונים מהארץ, פורסמו לפני עשור ונעשו על פרות עם תכנית טיפוח גנטית שונה מהתכנית הישראלית. סביר שעבודות אלו נערכו על אוכלוסיית פרות עם גנוטיפ ופנוטיפ שונה. יתרה מזו, במחקר בתאומים מונוזיגוטים בבני אדם [43] נמצאו הבדלים פנוטיפים מאוחר בחיים; חוקרים מסבירים הבדלים אלו בויסות אפיגנטי תלוי השפעות סביבתיות; אנו מסיקים ממחקר זה שיתכן ויסות אפיגנטי גם בפרות כתוצאה מהשפעות סביבתיות. על בסיס הנחות אלו, יתכן שהשפעת גופי הקטון על הפרות וניצולם ברקמות הגוף [24], משתנה בהתאם לסביבה. אולם, בכדי להוכיח הנחה זו נדרש מחקר השוואתי בין פרות חלב עם קת"ק בישראל לחו"ל, אשר למיטב ידיעתנו לא בוצע עד כה.

בעבודה הנוכחית לא נמצאה השפעה של הטיפול על ביצועי הייצור של הפרות בקבוצת הטיפול. הועלו מספר אפשרויות לכך:

1. יתכן שגודל המדגם שלנו מנע מאתנו למצוא הבדלים. גורם השונות הגדולה והעוצמה הנמוכה של העבודה חוזר על עצמו וידון בהמשך.
2. אם מספר הבדיקות לאבחון הפרשת גופי קטון בשתן פרה היה נמוך מדי צפויה הטיה על ההחלטה אם להמשיך או להפסיק את הטיפול בקבוצת הפרות המטופלות. בפועל, רוב פרות הטיפול נבדקו רק פעמיים; לא התבצע מעקב אחר הפרשת גופי הקטון במהלך התחלובה כך שאין אנו יודעים את השפעתו הממושכת של הטיפול על ריכוזי גופי הקטון. במידה וקת"ק הוא מצב כרוני-אינהרנטי בתחלובה הרי שקת"ק אינו נעלם או נעלם למשך פרקי זמן קצרים בתגובה לטיפול. כתוצאה מכך השפעת הטיפול על ריכוזי גופי הקטון בגוף היא זמנית ומזערית ולכן הטיפול לא יעיל. כדי לבדוק זאת נדרשות בדיקות חוזרות ותכופות יותר לפרות בתחלובה. המחקר שלנו לוקה במספר נקודות חולשה: ראשית גודלו הקטן של מסד הנתונים אשר נכפה עלינו במהלך המחקר. נקודה נוספת היא תכנון לא מספק של מעקב וסדרת הבדיקות לנוכחות גופי קטון בפרות המחקר כפי שהוזכר לעיל. למרות נקודות אלו חשוב לציין כי המחקר בוצע במספר אתרי ניסוי בהם מתקיימים שגרת ממשק והאבסה שונים. לסיכום, תוצאות המחקר הנוכחי מצביעות על כך שראוי לבצע בדיקה מעמיקה יותר של שיעור הקת"ק במשק הישראלי. מחקר שכזה יאפשר לנו להבין את היקף המחלה ולבחון את הצורך במחקר המשכי למחקר זה. עד שיפורסם מחקר שכזה ובהתייחס לתוצאות המחקר הנוכחי בהנחה שתוצאות אלו אכן משקפות את שיעור התחלואה במשקים הנבדקים אנו מטילים ספק בצורך לבדיקה גורפת של כלל הפרות הממליטות לקטוזיס במשקים שבמחקר. נדבך להמלצה זו היא עבודתו של Carrier [41] (Unpublished data; נספח א) שכללה אוכלוסייה רחבה יותר של פרות ובה נמצא שהפרות המטופלות עזבו (Culled) את העדר מהר יותר מפרות שלא טופלו.

1. Bobe, G., J.W. Young, and D.C. Beitz, Invited review: Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2004. 87(10): p. 3105-3124.
2. Duffield, T. Treatment of clinical ketosis. in *The north american veterinary conference*. 2006. Orlando, Florida, USA: North American Veterinary Community.
3. Kronfeld, D.S., Major Metabolic Determinants of Milk Volume, Mammary Efficiency, and Spontaneous Ketosis in Dairy-Cows. *Journal of Dairy Science*, 1982. 65(11): p. 2204-2212.
4. Remppis, S., et al., Effects of Energy Intake on Performance, Mobilization and Retention of Body Tissue, and Metabolic Parameters in Dairy Cows with Special Regard to Effects of Pre-partum Nutrition on Lactation - A Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2011. 24(4): p. 540-572.
5. Grummer, R.R., Impact of Changes in Organic Nutrient Metabolism on Feeding the Transition Dairy-Cow. *Journal of Animal Science*, 1995. 73(9): p. 2820-2833.
6. Goff, J.P. and R.L. Horst, Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science*, 1997. 80(7): p. 1260-1268.
7. Kronfeld, D.S., F. Raggi, and C.F. Ramberg, Mammary Blood Flow and Ketone Body Metabolism in Normal Fasted and Ketotic Cows. *American Journal of Physiology*, 1968. 215(1): p. 218-&.
8. Goff, J.P., Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. *Journal of Dairy Science*, 2006. 89(4): p. 1292-1301.

9. Sartorelli, P., S. Paltrinieri, and S. Comazzi, Non-specific immunity and ketone bodies. II: In vitro studies on adherence and superoxide anion production in ovine neutrophils. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 2000. 47(1): p. 1-8.
10. Suriyasathaporn, W., et al., beta-hydroxybutyrate levels in peripheral blood and ketone bodies supplemented in culture media affect the in vitro chemotaxis of bovine leukocytes. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 1999. 68(2-4): p. 177-186.
11. Lardner, A., The effects of extracellular pH on immune function. *Journal of Leukocyte Biology*, 2001. 69(4): p. 522-530.
12. Suriyasathaporn, W., et al., Hyperketonemia and the impairment of udder defense: a review. *Veterinary Research*, 2000. 31(4): p. 397-412.
13. Dohoo, I.R. and S.W. Martin, Subclinical Ketosis - Prevalence and Associations with Production and Disease. *Canadian Journal of Comparative Medicine-Revue Canadienne De Medecine Comparee*, 1984. 48(1): p. 1-5.
14. Grinberg, N., et al., beta-hydroxybutyrate abrogates formation of bovine neutrophil extracellular traps and bactericidal activity against mammary pathogenic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 2008. 76(6): p. 2802-2807.
15. Loeffler, S.H., M.J. de Vries, and Y.H. Schukken, The effects of time of disease occurrence, milk yield, and body condition on fertility of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 1999. 82(12): p. 2589-2604.
16. CadornigaValino, C., et al., Effects of fatty acids and hormones on fatty acid metabolism and gluconeogenesis in bovine hepatocytes. *Journal of Dairy Science*, 1997. 80(4): p. 646-656.

17. Bauman, D.E. and W.B. Currie, Partitioning of Nutrients during Pregnancy and Lactation - a Review of Mechanisms Involving Homeostasis and Homeorhesis. *Journal of Dairy Science*, 1980. 63(9): p. 1514-1529.
18. De Koster, J.D. and G. Opsomer, Insulin Resistance in Dairy Cows. *Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice*, 2013. 29(2): p. 299-+.
19. Walsh, R.B., et al., The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2007. 90(6): p. 2788-2796.
20. Bilby, C.R., et al., Plasma GH, IGF-I, and conception rate in cattle treated with low doses of recombinant bovine GH. *Theriogenology*, 1999. 51(7): p. 1285-1296.
21. Leroy, J.L.M.R., et al., The In vitro development of bovine oocytes after maturation in glucose and beta-hydroxybutyrate concentrations associated with negative energy balance in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 2006. 41(2): p. 119-123.
22. Collier, R.J., et al., Regulation of Bovine Mammary Growth by Peptide-Hormones - Involvement of Receptors, Growth-Factors and Binding-Proteins. *Livestock Production Science*, 1993. 35(1-2): p. 21-33.
23. Sejrsen, K., et al., High body weight gain and reduced bovine mammary growth: physiological basis and implications for milk yield potential. *Domestic Animal Endocrinology*, 2000. 19(2): p. 93-104.
24. Baird, G.D., et al., Biochemical Aspects of Bovine Ketosis. *Biochemical Journal*, 1968. 107(5): p. 683-686.
25. de Roos, A.P.W., et al., Screening for subclinical ketosis in dairy cattle by Fourier transform infrared spectrometry. *Journal of Dairy Science*, 2007. 90(4): p. 1761-1766.

26. Duffield, T.F., et al., Efficacy of monensin for the prevention of subclinical ketosis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 1998. 81(11): p. 2866-2873.
27. Samiei, A., et al., An evaluation of beta-hydroxybutyrate in milk and blood for prediction of subclinical ketosis in dairy cows. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 2010. 13(2): p. 349-356.
28. Geishauser, T., et al., Evaluation of eight cow-side ketone tests in milk for detection of subclinical ketosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2000. 83(2): p. 296-299.
29. Baird, G.D., Primary Ketosis in the High-Producing Dairy-Cow - Clinical and Sub-Clinical Disorders, Treatment, Prevention, and Outlook. *Journal of Dairy Science*, 1982. 65(1): p. 1-10.
30. Smith, B.P., Large animal internal medicine. 2014: Elsevier Health Sciences.
31. Cook, N.B., W.R. Ward, and H. Dobson, Concentrations of ketones in milk in early lactation, and reproductive performance of dairy cows. *Veterinary Record*, 2001. 148(25): p. 769-772.
32. ואן סטראטן, מ. יעדים לשנת 2014.
33. McArt, J.A.A., D.V. Nydam, and G.R. Oetzel, Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 2012. 95(9): p. 5056-5066.
34. McArt, J.A.A., D.V. Nydam, and G.R. Oetzel, A field trial on the effect of propylene glycol on displaced abomasum, removal from herd, and reproduction in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science*, 2012. 95(5): p. 2505-2512.
35. Geishauser, T., et al., Monitoring for subclinical ketosis in dairy herds. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 2001. 23(8): p. S65-S71.

36. Dore, V., et al., Evaluation of the accuracy of an electronic on-farm test to quantify blood beta-hydroxybutyrate concentration in dairy goats. *Journal of Dairy Science*, 2013. 96(7): p. 4505-4507.
37. Carrier, J., et al., Evaluation and use of three cowside tests for detection of subclinical ketosis in early postpartum cows. *Journal of Dairy Science*, 2004. 87(11): p. 3725-3735.
38. Green, B.L., et al., The impact of a monensin controlled-release capsule on subclinical ketosis in the transition dairy cow. *Journal of Dairy Science*, 1999. 82(2): p. 333-342.
39. Grunberg, W., Morin, D.E., Drackley, J.K., Constable, P.,D., Effect of rapid intravenous administration of 50% dextrose solution phosphorus homeostasis in post parturient dairy cows. *Journal of veterinary internal medicine*. 2006. 20:1471-1478.
40. Holtenius, K., K. Sternbauer, and P. Holtenius, The effect of the plasma glucose level on the abomasal function in dairy cows. *Journal of Animal Science*, 2000. 78(7): p. 1930-1935.
41. Carrier, J., et al., Latest findings from research in transition cows: A randomized controlled trial on the treatment of ketosis in post-parturient dairy cows. 2006.
42. McArt, J.A.A., et al., A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis (vol 94, pg 6011, 2011). *Journal of Dairy Science*, 2012. 95(2): p. 1023-1023.
43. Poulsen, P., Esteller, M., Vaag, A., & Fraga, M. F. (2007). The epigenetic basis of twin discordance in age-related diseases. *Pediatric Research*, 61, 38R-42R.
44. von Keyserlingk, M.A.G., et al., The welfare of dairy cattle-Key concepts and the role of science. *Journal of Dairy Science*, 2009. 92(9): p. 4101-4111.

Medecins Veterinaires Praticiens du Quebec

Postparturient (type II) ketosis, mostly subclinical in degree, is a common disease associated with decreased milk production, decreased reproductive performance and increased risk of displaced abomasum in dairy cattle. Based on the assumption that treating it will prevent the anticipated losses, it is often recommended to perform ketosis screen-and-treat programs in fresh cows. However, secondary prevention trials have yet to be published, and therefore it is still unknown how much of the losses may really be prevented by this intervention.

A clinical trial, which will be the focus of this presentation, was conducted to assess the effect of a post-parturient ketosis treatment on the occurrence of DA, milk production, reproductive performance and risk of removal from the herd. Fresh cows mostly between 1 and 15 DIM from 4 large Holstein herds were screened daily for the presence of urine ketones. Eligible positive cows were enrolled into the trial and randomly allocated to one of two groups: treated versus controls, allowing for the relief treatment of protracted or complicated cases in the control group for humane reasons.

The negative associations between ketosis and displaced abomasum, milk yield and reproductive performance were confirmed in this study. However, the ketosis treatment itself showed no positive effect on those clinical endpoints, and a negative association between treatment and culling hazard was even observed, but not explained.

The lack of response to this screen-and-treat program may raise questions about the actual role of ketosis on the causal pathway between some actual precursory metabolic disturbance and the observed changes in clinical outcomes. A better understanding of the how, and why, of ketosis development is necessary in order to help mitigate the negative effects that are so strongly, if not causally, associated with ketosis.

Jerome Carrier, DMV, MSc, PhD. This research was done at the College of Veterinary Medicine of the University of Minnesota with Drs. Sandra Godden, John Fetrow and Paul Rapnicki. The author's current address is: AMVPQ (FMV office), CP 5000, Saint-Hyacinthe (Qc) J2S 7C6, CANADA. Phone: (450) 773-8521 # 0141. Fax: (450) 778-8120. E-mail: jerome.carrier@amvpg.org.

THIS ARTICLE IS SPONSORED BY THE MINNESOTA DAIRY HEALTH CONFERENCE.

ST. PAUL, MINNESOTA UNITED STATES OF MINNESOTA

Latest findings from research in transition cows: A randomized controlled trial on the treatment of ketosis in post-parturient dairy cows

Jerome Carrier, Sandra Godden, John Fetrow, Steve Stewart and Paul Rapnicki College of Veterinary Medicine University of Minnesota

Introduction

Subclinical ketosis in dairy cattle has been associated with decreased milk production, decreased reproductive performance, increased risk of displaced abomasum and increased risk of clinical ketosis (Andersson, 1988; Duffield, 2000; LeBlanc et al., 2005). Elevated concentrations of ketone bodies have also been associated with a reduced ability to fight infections, such as in mastitis (Leslie et al., 2000).

The cost of subclinical ketosis has been estimated to be around \$80 per case, based on production losses, increased risks of DA and clinical ketosis and delayed conception (Geishauser et al., 2001). In that simulation exercise, screening for subclinical ketosis followed by treatment of the positive cows yielded a benefit-cost ratio of 3 to 1 (Geishauser et al., 2001). However, the now common recommendation to use ketosis screen-and-treat programs is only based on the assumption that treating will prevent the anticipated losses (Enjalbert et al., 2001; Geishauser et al., 2001). Because secondary prevention trials in early lactation have yet to be published, it is still unknown how much of the losses may really be prevented by early treatment (Geishauser et al., 2001; LeBlanc et al., 2005).

The objective of this study was to determine the effect of post-parturient ketosis treatment on the occurrence of DA, milk production, reproductive performance and risk of removal from the herd.

Materials and Methods.

The measurement of betahydroxybutyrate (BHBA) in serum or plasma is the gold-standard assessment of ketosis. Because blood BHBA measurement is rather costly and inconvenient to use in a screen-and-treat program, it is usually recommended to use cow-side diagnostic tests instead (Geishauser et al., 2001). The Ketostix urine strip was used in this study at the cut-point of 15 mg of acetoacetate per dL of urine (shown as "small" on the scale provide with the test). At this level, the test has shown a sensitivity of 78% and a specificity of 96% to detect serum levels of BHBA greater than 1400 μ mol/L (Carrier et al., 2004).

Fresh cows mostly between 1 and 15 DIM from 3 large Holstein herds were screened daily for the presence of urine ketones when returning from the morning milking. Cows with a concurrent or previous diagnosis of DA in the same lactation were not enrolled in the trial because DA is the primary outcome of interest in the study. Eligible positive cows were enrolled into the trial and randomly allocated to one of two groups: treated versus untreated control.

Treated group: On day 1 (at enrollment), treated cows received a standard ketosis treatment consisting of an IV bolus of 500 ml of 50% dextrose, 20 mg of dexamethasone IV and 5 ml of vitamin B-12 IV, as well as 400 ml of a glucose precursor (propylene glycol) per os SID. On day 2 and 3, a follow-up of 400 ml of propylene glycol SID was administered (Herdt and Emery, 1992;

Herdt and Gerloff, 1999). Cows in the treated group found with elevated urine ketones again after a 3-day ketosis treatment course were re-administered the same 3-day treatment, regardless of the clinical appearance of the disease.

Control group: Cows enrolled in the control group received no treatment for ketosis, even at subsequent occurrence of elevated urine ketones, with the following exceptions:

a) Any cow (control or treated) that may have shown signs of nervous ketosis could receive a ketosis treatment. b) Any cow (control or treated) that developed a DA after enrollment was then allowed to be treated for ketosis if necessary following the standard protocol in place on each respective farm. c) Cases of potentially severe clinical ketosis were allowed to be treated for humane reasons. In the treated group, these individuals were already taken care of as the protocol for the treated group addressed any cow with a positive test. In the control group, a case of clinical ketosis was defined as a cow meeting all of the following criteria: having a positive ketosis test on the day the decision was made ("small" urine ketones or higher), having had the first positive ketosis test at least 5 days before (Le. being enrolled for 5 days or more), producing less than 40 lbs/d for 1st lactation cows, or less than 50 lbs/d for 2nd lactation and older. (See the enclosed Notes about the definition of clinical ketosis below for more explanations).

Those exceptions in the control group received the same full 3-day treatment course as a cow the treated group. If after that 3-day treatment urinary ketones were still found to be elevated in the "sick" control animal, the same milk production criteria had to be met in order to retreat the animal for ketosis (Le. those whose production had improved above the production threshold were not retreated). In case of a rapid and otherwise unexplained deterioration of the condition of a ketonuric control cow, the 5-day requirement was relaxed if the caretaker deemed it necessary, which was very seldom the case.

All other medical conditions were treated similarly for cows in both treatment groups according to the standard operating procedures established for the respective dairies.

The treated cows will be compared to the controls for the following outcome variables: a) occurrence of a DA following enrollment b) short term daily milk weights c) long term production for the entire lactation (all test days + 305 milk) d) conception at 1 st breeding e) time-to-conception (by survival analysis to account for cows that do not breed back) f) removal risk (sold or dead)

Results

The screening and enrollment process was started in the winter 2005 and terminated in December 2005. Many of the outcome variables will still be collected at the time of this presentation, but preliminary results will be presented.

Notes about the definition of clinical ketosis

The typical "textbook" signs of clinical ketosis are a marked decrease in milk production in the presence of ketone bodies, as well as presence of dry, scant feces, rough hair and selective anorexia (i.e. concentrates are refused before forage, and among forage sources, silages are refused before dry hay) (Fleming, 2002).

Those clinical signs are especially difficult to detect in the early post-partum period in loose-housed, TMR-fed cows: production in the first days of lactation is difficult to predict and may be affected by numerous other conditions, and feed intake and especially selective anorexia can not be monitored adequately on an individual basis. The ketone concentration itself, such as "small" versus "moderate" versus "large" on the Ketostix scale, is also a poor indicator of the clinical status, as low levels of urinary ketones are sometimes seen in obviously sick cows, as are very high levels in otherwise high-producing and healthy-looking cows (personal observation).

Because of this problem of defining what a case of ketosis requiring treatment is, the definition used in the study was based on two objective measurements: the level of production on the day a control cow was found again with ketosis and the time since the first diagnosis of ketosis. In practice, cows found with a positive ketosis test and very low production on the same day are likely to be treated for ketosis regardless of the presence of other clinical signs or concurrent diseases. On the other hand, by definition, cows with good production are unlikely to be suffering severe clinical ketosis. This is why a threshold level of production below which treatment would likely be administered in practice was used to differentiate the cows that may be suffering from clinical ketosis from those that were probably not (40 lbs for heifers, 50 lbs for older cows).

Because such low production levels are frequent in the first week of lactation, and because treatment of ketosis in the control group had to be a measure of last resort only, the requirement for an interval of five days between the day of enrollment and the day the latest positive test was added. In any case, five days of elevated urine ketones prior to a noticeably low production level is probably no worse than what usually happens in herds without a systematic screening program in place.

References

1. Andersson, L. 1988. Subclinical ketosis in dairy cows. *Metabolic diseases of ruminant livestock. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 4:233-251.
2. Carrier, J., S. Stewart, S. Godden, J. Fetrow, and P. Rapnicki. 2004. Evaluation and use of three cow-side tests for detection of subclinical ketosis in early postpartum cows. *J. Dairy Sci.* 87:3725-3735.
3. Duffield, T. F. 2000. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle: Metabolic disorders of ruminants. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 16:231-253.
4. Enjalbert, F., M. C. Nicot, C. Bayourthe, and R. Moncoulon. 2001. Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: Relationship between concentrations and utilization for detection of subclinical ketosis. *J. Dairy Sci.* 84:583-589.
5. Fleming, S.A. 2002. Metabolic disorders - Ketosis of ruminants (acetonemia). Pages 1241-1247 in B.P. Smith. *Large animal internal medicine, 3rd edition.* Mosby, St. Louis, MO.
6. Geishauser, T., K. Leslie, D. Kelton, and T. F. Duffield. 2001. Monitoring for subclinical ketosis in dairy herds. *Compend. Contino Educ. Prac. Vet.* 23:S65-S71.
7. Herdt, T. H., and R. S. Emery. 1992. Therapy of diseases of ruminant intermediary metabolism. *Applied pharmacology and therapeutics II. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 8:91-106.
8. Herdt, T. H., and B. J. Gerloff. 1999. Ketosis. Pages 226-228 in Howard J. Land R. A. Smith. *Current Veterinary Therapy 4, Food Animal Practice.* W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA.
9. LeBlanc S. J., K. E. Leslie, and T. F. Duffield. 2005. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy caettle *J. Dairy Sci.* 88: 159-170.
10. Leslie K. E., T. F. Duffield, Y. H. Schukken, and S. J. LeBlanc. 2000. The influence of negative energy balance on udder health. *National Mastitis Council Regional Meeting Proceedings.* 25-33.