

DIJAGNOZA KETOZE KOD MLEČNIH KRAVA

Radojica Đoković¹, Marko Cincović², Milun Petrović¹, Miloš Petrović¹, Boban Jašović³, Biljana Anđelić⁴, Miroslav Lalović⁵

Izvod: Cilj ovog rada je da opiše načine dijagnostikovanja ketoze, uključujući laboratorijske i brze (cowside) testove. Standardni “zlatni test” za dijagnozu subkliničke ketoze (SKK) kod mlečnih krava jeste laboratorijsko merenje koncentracije beta-hidoksibuterne kiseline (BHB) u krvnom serumu ili krvnoj plazmi. Najčešće korišćene granične vrednosti za dijagnozu subkliničke ketoze jesu vrednosti za BHB u krvi veće od 1,2 mmol/L ili veće od 1,4 mmol/L, dok za kliničku ketozu one iznose oko 3,0 mmol/L. Cowside test za određivanje koncentracije BHB u krvi jeste jednostavni ručni uređaj (ketometar) i može se upotrebljavati na farmi, a ovaj test ima visoki procenat (>95%) oestljivosti i specifičnosti u odnosu na druge cowside testove i može zameniti laboratorijska ispitivanja u dijagnozi ketoze. Cowside BHB test, odnosno ketolac BHB test trakice sa graničnim vrednostima većim od 200 μ mol/L za BHB u mleku je potencijalno korisno sredstvo za rutinski pregled stada mlečnih krava na početku laktacije za dijagnozu ketoze.

Ključne reči: mlečne krave, ketoza, laboratorijski testovi, cowside testovi

Uvod

Proizvodne bolesti, odnosno bolesti povezane sa nepravilnom ishranom i menadžmentom uobičajene su kod visoko produktivnih mlečnih krava (Ospina i sar., 2010; Brunner i sar., 2019). Ketoza krava, a posebno subklinička ketoza (SKK), je metabolička bolest mlečnih krava i izaziva velike ekonomske štete u mlečnoj industriji. Dijagnoza ketoze se postavlja određivanjem ketonskih tela (BHB, aceton, aceto-acetat) u krvi, urinu i mleku (Geishauser i sar., 2001; Seifi i sar., 2011; Zhang i sar., 2012).

Ketoza kod krava se najčešće pojavljuje u subkliničkoj formi i prouzrokuje gubitke veće nego klinička ketoza, pošto se ne može na vreme otkriti od strane farmera, pa je zbog toga rana dijagnoza vrlo važna. Na to ukazuje i činjenica da je SKK je prisutna kod oko 40 % mlečnih krava na farmama, dok klinički oblik obično zahvati oko 5% krava (Jenkins i sar., 2015; Brunner i sar., 2019).

¹Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (radojicadjokovic@gmail.com);

²Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Trg Dositeja Obradovića br.3, Novi Sad, Srbija;

³Univerzitet u Prištini, Poljoprivredni fakultet, Kopaonička bb, Lešak, Srbija;

⁴Univerzitet u Nišu, Poljoprivredni fakultet, Kosančićeva br.4, Kruševac, Srbija;

⁵Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Poljoprivredni fakultet, Istočno Sarajevo, BiH.

Kod pojave ketoze povećava se rizik kod mlečnih krava u puerperumu na pojavu drugih oboljenja kao što su: masna jetra, dislokacija sirišta, zadržavanje posteljice, aseptički pododermatitis (šepavost), mastitisi i metritisi. Proizvodnja mleka opada, smanjuje se fertilitet stada, povećava se procenat krava koji se izbacuje iz proizvodnje, što rezultira velikim ekonomskim gubicima. Najviše slučajeva se otkrije u prvih 6 nedelja do 2 meseca laktacije (Duffield, 2000; Geishauser i sar., 2000; Oetzel, 2004, 2007; Brunner i sar., 2019).

“Zlatni test” za dijagnozu ketoze je određivanje koncentracije BHB u krvi, pošto je ovo ketonsko telo stabilnije od acetona ili acetoacetata (Tyopponen i Kauppinen, 1980). Danas se smatra da su granične vrednosti za dijagnozu SKK $\geq 1,2$ mmol/L ili SKK $\geq 1,4$ mmol/L za BHB u krvi, dok za kliničku ketozu iznose oko 3.00 mmol/L (Geishauser i sar., 1998; Duffield, 2000; Duffield and Bagg, 2002; Zhang i sar., 2012; Djokovic i sar., 2019).

Različiti laboratorijski i brzi (cowside) testovi su dostupni za dijagnozu ketoze kod krava. Ali ni jedan brzi test nema perfektu osetljivost i specifičnost u odnosu na određivanje vrednosti BHB u krvi, kao “zlatni standardni” test. Mnogo je teži pristup dijagnostikovati zastupljenosti SKK u stadu mlečnih krava, u odnosu na dijagnostiku ketoze kod pojedinačne krave kada postoji sumnja na ketozu. Za rutinsku dijagnostiku subkiničke ketoze u stadu potrebno je ispitati najmanje 12 krava koje su rizične na pojavu SKK u periodima od 5. do 50. dana laktacije, i određivati prisustvo ketoze kod njih na nivou graničnih vrednosti od $\geq 1,4$ mmol/L za BHB u krvi.

Upozorenje na pojavu ketoze u stadu, odnosno na neadekvatnu ishranu i menadžment nastaje kada se kod 15% ispitivanih krava dijagnostikuje SKK. Neki autori smatraju da upozorenje nastaje i kod 10% dijagnostikovanih krava na ketozu (Duffield i Bagg, 2002; Oetzel, 2004).

Mleko je vrlo pogodno za otkrivanje ketoze, pošto se vrlo lako može uzeti za analizu za razliku od urina i krvi. Kod pojave ketoze, vrednosti za BHB u mleku rastu, ali je koncentracija oko 10 puta manja nego u krvi. Uzorci se mogu uzeti nakon muže i meriti na farmi, korišćenjem semikvantitativnih testova. Granična vrednost za pojavu SKK iznosi 100 do 200 $\mu\text{mol/L}$ ili veća za vrednosti BHB u mleku (Dirksen i Breitner, 1993; Eicher 2004; Oetzel, 2007).

Cilj ovog rada je da opiše načine dijagnostikovanja ketoze, uključujući laboratorijske i brze (cowside) testove.

Tipovi ketoze kod mlečnih krava

Ketoza mlečnih krava se može podeliti u 3 tipa (Tabela 1) (Oetzel, 2007). Svaki tip ima različitu etiologiju, što zahteva različitu prevenciju i dijagnostiku. Ne postoji striktna granica između tipova ketoze, a u stadu se mogu pojaviti kombinacije tipova. Ova klasifikacija ketoze je adaptirana od autora Holtenius i Holtenius, (1996.), a detaljno opisana od strane Herdt-a (2000.) i Oetzel-a (2007.).

Tabela 1. Tipovi ketoze kod mlečnih krava (Oetzel, 2007)

Table 1. Types of ketosis in dairy cows (Oetzel, 2007)

Ishod/Outcome	Tip I/Type I	Tip II/Type II	Tip III. Buterna kiselina (silaza)/Type III Butyric acid silage ketosis
Period najvećeg rizika/Highest risk period	3 do 6 nedelja posle teljenja/3 to 6 weeks after calving	1 do 2 nedelje posle teljenja/1 to 2 weeks after calving	Veoma visoko ili visoko/Very high or high
Opis/Description	Spontano, nedovoljno hranjenje/Spontaneous, underfeeding	Debele krave, masna jetra/Fat cows, fatty liver	Normalno ili Visoko/Normal or High
BHB iz krvi/Blood BHB	Veoma visok/Very high	Visok/High	Promenljivo/Variable
Glukoza (krv)/Blood glucose	Nisko/Low	Nisko (u početku i visoko)/Low (may be high initially)	Promenljivo/Variable
Insulin (krv)/Blood insulin	Nisko/Low	Nisko (u početku i visoko)/Low (may be high initially)	Promenljivo/Variable
Telesna kondicija/Body condition	Niska/Probably thin	Debele krave/Often fat (or lost fat)	Promenljivo/Variable
Sudbina NEFA (krv)/Fate of NEFA	Ketonska tela/Ketone bodies	Masna jetra, pa ketonska tela/Liver triglycerides initially, then ketone bodies	Promenljivo/Variable
Glukoneogeneza u jetri/Liver gluconeogenesis	Visoka/High	Niska/Low	Promenljiva/Variable
Patologija jetre/Liver pathology	Nema/None	Masna jetra/Fatty liver	Promenljivo/Variable
Prognoza/Prognosis	Promenjliva/None	Slaba/Poor	Dobra/Good
Ključni dijagnostički test/Key diagnostic test	Posle teljenja BHB (krv)/Post calving BHB	Pre teljenja NEFA(krv)/Pre-calving NEFA	Analiza silaže/Silage analysis
Ključna intervencija/Key intervention	Poboljšanje menadžmenta i ishrana/Management improvement and nutrition	Pre teljenja korigovati ishranu i menandžment/Pre-calving management and nutrition	Uništiti, razblažiti ili popraviti silažu/Destroy, dilute or divert the silage

Laboratorijski testovi

Metoda enzimske katalize: Tradicionalni test za određivanje BHB u krvnom serumu kod krava. Komplet za testiranje zahteva upotrebu ultraljubičastog spektrofotometra ili biohemijskog analizatora i može se koristiti za određivanje

vrednosti BHB u krvnom serumu kod ljudi i životinja (Zhang i sar., 2012). Ovo je "zlatni standard" za otkrivanje ketoze kod mlečnih krava. Najčešće korišćene granične vrednosti BHB u krvi za SKK su $\geq 1,2$ mmol/L (Geishauser i sar., 1998; Duffield, 2000; Duffield i Bagg, 2002; Zhang i sar., 2012; Đoković i sar., 2013) ili $\geq 1,4$ mmol/L (Geishauser i sar., 2000; Carrier i sar., 2004; Oetzel, 2004; Iversen i sar., 2009) ili samo $\geq 1,0$ mmol/L (Whitaker, 1997, Kinoshita i sar., 2010; Ospina i sar., 2010; Jožek i sar., 2017; Đoković i sar., 2018). Koncentracije BHB u krvi i mleku mogu se meriti pomoću biohemijskog analizatora. Utvrđena je statistički značajna korelacija ($r = 0,705$, $P < 0,01$) između koncentracija BHB u krvi i mleku krava. Najbolja osetljivost (94%) i specifičnost (74%) primećena je za merenje BHB u mleku, sa optimalnom graničnom tačkom za BHB u mleku od ≥ 80 $\mu\text{mol/l}$, ($\text{AUC}=0,91\pm 0,03$; $P < 0,001$), za detekciju SKK kod mlečnih krava (Jožek i sar., 2017; Đoković i sar., 2018, 2019).

Metoda fourier transformacije infracrvene spektrometrije (Fourier transform infrared spectrometry method, FTIR): Koristi se kao dijagnostička metoda za skrining krava na SKK određivanjem koncentracije acetona u mleku korišćenjem FTIR spektrometrije (Hansen, 1999; Heuer i sar., 2001). FTIR spektrometrija je brza, jeftina i laka za široku primenu i koristi za merenje koncentracije BHB i acetona u mleku, za detekciju SKK. Osetljivost i specifičnost ove metode je 70% odnosno 95%, sa 25 do 27% lažno pozitivnih i 6 do 7% lažno negativnih, kada se koriste granice od 0,15 mmol/L za aceton i 0,1 mmol/L za BHB (De Roos i sar., 2007). Prilikom testiranja koncentracije BHB i acetona u mleku pomoću FTIR, dobijena je veća osetljivost (80%) i specifičnost (71%) u detekciji SKK u poređenju sa BHB u krvi, sa graničnom tačkom od $\geq 1,2$ mmol/l (Van Knegsel i sar., 2010). Prema dosadašnjim istraživanjima, FTIR test je zasnovan na vrednostima acetona mleka i BHB je dragocen u dijagnozi mlečnih krava na SKK (Zhang i sar., 2012).

Fluorometrijsko određivanje nivoa BHB: Ova metoda je fluorometrijsko određivanje vrednosti BHB u mleku i krvi na osnovu enzimske metode (Williamson i Mellanbi, 1974; Larsen i Nielsen, 2005). Ova fluorometrijska metoda je u visokoj statističkoj korelaciji sa rezultatima dobijenim tradicionalnom spektrofotometrijskom metodom ($r=0,987$, $P < 0,001$) (Larsen i Nielsen, 2005). Prednosti fluorometrijskog određivanja BHB su da na rezultate detekcije ne utiče hemoliza uzoraka krvi i da uzorci punomasnog mleka ne zahtevaju prethodnu obradu. Ova metoda je odlična za ispitivanje velikog broja uzoraka, posebno za masovno uzorkovanje mleka kod muže (Larsen i Nielsen, 2005; Zhang i sar., 2012).

Gasna tečna hromatografija (GLC): Koristi se za ispitivanje nivoa acetona u krvi i mleku. GLC metoda je dragocena za određivanje acetona i BHB u mleku i krvi I koristi N-propanol kao interni standard (Enjalbert i sar., 2001; Zhang i sar., 2012). Najbolja granična vrednost za aceton u krvi bila je 175 mmol/L, sa osetljivošću od 91% i specifičnošću od 68%, a za aceton u mleku 160 mmol/L, sa 90% osetljivosti i 57% specifičnosti, u poređenju sa BHB u krvi, granična vrednost $> 1,2$ mmol/L. Granični nivo acetona u mleku bio je 400 $\mu\text{mol/L}$ ili više za ketozne krave (Cook i sar., 2001), a isti granični nivo korišćen je za detekciju acetona u mleku kvalitativnim i kvantitativnim testom salicilaldehida za SKK (Venkatewarlu i Choudhuri, 2001).

Brzi (Cowside) testovi za ketozu

Dostupni su različiti tipovi testova za praćenje ketoze kod mlečnih krava. Međutim, nijedan od ovih testova nema savršenu osetljivost i specifičnost u poređenju sa BHB u krvi. Osetljivost predstavlja potvrđeni pozitivni rezultatu poređenju sa testom “zlatnog standarda” (BHB u krvi), a specifičnost je potvrđeni negativni rezultat u poređenju sa testom ketoze zlatnog standarda (BHB u krvi). Zbog toga je zlatni standard test (BHB u krvi) najtačniji za praćenje stada, a posebno je pogodan za ispitivanje stada sa ketozom. Cowside testovi kod krava imaju prednosti: niže cene, manje truda tokom analize i dobijanje trenutnih rezultata u poređenju sa testiranjem BHB u krvi. Ovo ih čini posebno korisnim za postavljanje (ili isključivanje) kliničke dijagnoze ketoze kod pojedinačnih bolesnih krava. Međutim, testiranje stada na ketozu zahteva drugačiju strategiju testiranja u poređenju sa donošenjem dijagnostičkih odluka za pojedinačne krave sa sumnjom na ketozu (Oetzel, 2007).

Cowside urin testovi za ketozu: Urin se decenijama koristi za testiranje ketoze kod krava. Međutim, mnogo je teže prikupiti uzorak urina nego uzorak kravljeg mleka. Ovo je važno ograničenje na farmama, koje u velikoj meri povećava troškove rada za testiranje. Acetoacetat u urinu se može kvantitativno proceniti tabletama nitroprusida (Acetest, Baier Corp. Diagnostics Division, Elkhart, IN). Ovaj test ima odličnu osetljivost, ali lošu specifičnost (Nielen i sar., 1994; Carrier i sar., 2004; Oetzel, 2004). Ovo ga čini korisnim testom za procenu pojedinačnih bolesnih krava, a manje je pogodan za praćenje ketoze u stadu krava (Osborne i sar., 2002; Oetzel, 2007).

Cowside testovi (nitroprusid u prahu) u mleku za ketozu. Testovi sa mlekom imaju ogromne prednosti u odnosu na testove sa urinom, radi lakšeg prikupljanja i sigurnosti da se sve krave koje ispunjavaju uslove mogu testirati. Međutim, testovi na ketozu iz mleka generalno nisu toliko osetljivi kao testovi urina u otkrivanju ketoze. Nitroprusidni prah (Utrecht prah, Keto Check prah) se može koristiti za kvalitativno ispitivanje acetoacetata mleka. Međutim, ovi testovi generalno imaju veoma slabu osetljivost na ketozu u poređenju sa BHB u krvi i ne mogu se preporučiti kao testovi za praćenje SKK u stadu. Oni imaju određenu, ali veoma ograničenu vrednost za donošenje dijagnostičkih odluka za pojedinačne krave (Osborne i sar., 2002; Eicher, 2004; Oetzel, 2007).

Cowside testovi (BHB) u mleku: Najperspektivniji test na ketozu iz mleka, koji se koristi za polukvantitativno određivanje BHB iz mleka u obliku test traka koji proizvodi Sanva Kagaku Kenkiusho Co., Ltd. (Nagoja, Japan). Ovaj test u trakama se prodaje pod različitim nazivima (KetoTest, Ketolac BHB i Sanketo papir) u različitim delovima sveta. Rezultati brojnih studija koje procenjuju osetljivost i specifičnost m BHB test trake za mleko u poređenju sa rezultatima BHB u krvi opisani su u različitim studijama. Kada se koristi na graničnoj tački od $\geq 100 \mu\text{mol/L}$, ovaj test je oko 83% osetljiv i 82% specifičan. Za individualno testiranje krava, tačka preseka od $\geq 50 \mu\text{mol/L}$ obezbeđuje bolju osetljivost (89 %), ali ima stopu lažno pozitivnih od 69%. Povećanje granične vrednosti na $\geq 200 \mu\text{mol/L}$ smanjuje se osetljivost testa na

54%. Na ovoj višoj graničnoj tački, test je od male vrednosti za dijagnostikovanje ketoze kod pojedinačnih bolesnih krava, ali ima potencijalnu upotrebu za procene zasnovane na stadu. Čini se da je najbolja granična vrednost za praćenje ketoze u stadu kada se koristi BHB traka za mleko $\geq 200 \mu\text{mol/L}$. Na ovoj graničnoj tački, prevalencija pozitivnih rezultata testa je slična pravoj prevalenci, što omogućava da se isti nivo upozorenja za prevalenciju ketoze (10%) koristi za oba testa. Nažalost, prevalencija mlečnih BHB test traka se malo menja kako se prava prevalencija povećava, što test čini praktično korisnim samo za identifikaciju stada sa veoma visokom prevalencijom ketoze (Oetzel, 2007).

Cowside test (BHB) iz krvi za ketozu: Za testiranje krvi krava ovim testom se koristi ručni aparat (glukometar-ketometar) koji se prodaje za dijabetičare (kod ljudi) (Precision Kstra™ sistem za praćenje glukoze i ketonskih tela u krvi, Abbott Laboratories, Abbott Park, IL). Sistem glukometra (glukoza) - ketometra (BHB) je veoma jednostavan za upotrebu. Traka se ubacuje u merač, na kraj trake se dodaje kap krvi, a rezultati se prikazuju na ekranu za oko 15 sekundi. Trake ne zahtevaju kalibraciju pre upotrebe. Neophodno je sakupiti malu količinu krvi iz repne vene pomoću male igle i malog šprica. Preliminarni rezultati sa sistemom glukometar-ketometar su veoma ohrabrujući. Sistem je tačniji kao ketometar (za BHB) nego kao glukometar (glukoza). Rezultati ispitivanja u dijagnozi ketoze za osetljivost i specifičnost u odnosu na laboratorijski “zlatni standardni” test su izvanredni (preko 95%) (Heuwieser i sar., 2007; Oetzel, 2007; Konkol i sar., 2009; Voyvoda i Erdogan, 2010).

Zaključak

Merenje vrednosti BHB u krvi je “zlatni standardni” test za dijagnozu ketoze. Najčešće korišćene granične vrednosti za SKK su $\geq 1,2 \text{ mmol/L}$ ili $\geq 1,4 \text{ mmol/L}$, odnosno za kliničku ketozu oko $3,0 \text{ mmol/L}$ za BHB u krvi. BHB test u krvi pomoću ručnog merača (ketometra) ima visoke vrednosti (iznad 95%) osetljivosti i specifičnosti u odnosu na druge testove za ketozu krava i može da zameni laboratorijsko testiranje BHB krvi. Test određivanja BHB u mleku (ketolac BHB test traka sa graničnom vrednošću od $\geq 200 \mu\text{mol/L}$ BHB u mleku) je potencijalno koristan test za rutinsko praćenje stada na SKK kod mlečnih krava u ranoj laktaciji.

Napomena

Rad je deo projekta broj TR 31001 – Aneks ugovora Ref. broj 451-03-68/2022-14, koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Literatura

Brunner N., Groeger S., Raposo J.C., Bruckmaier R.M., Gross J.J. (2019): Prevalence of subclinical ketosis and production diseases in dairy cows in Central and

- South America, Africa, Asia, Australia, New Zealand, and Eastern Europe. *Translational Animal Science* Vol. 3, pp. 19–27.
- Carrier J., Steward S., Godden S., Fetrow J., Rapnicki P. (2004): Evaluation and use of three cow-side tests for detection of subclinical ketosis in early postpartum cows. *Journal of Dairy Science*, Vol.87, pp. 3725-3735.
- Cook N.B., Waed W.R., Dobson H. (2001): Concentrations of ketones in milk in early lactation, and reproductive performance of dairy cows. *Veterinary Record*, vol. 148, pp. 769-772.
- De Roos A.P.W., Van Den Bijgaarth J., Hrrlyk J., De Jong G. (2007): Screening for subclinical ketosis in dairy cattle by Fourier transform infrared spectrometry. *Journal of Dairy Science*, Vol.90, pp. 1761-1766.
- Dirksen G., Breitner W. (1993): A new quick test for semiquantitative determination of beta-hydroxybutyric acid in bovine milk. *Journal of Veterinary Medicine A*, Vol.40, pp. 779-784.
- Djokovic R., Kurcubic V., Ilic Z., Cincovic M., Fratric N., Stanimirovic Z., Petrovic M.D., Petrovic M.P. (2013): Evaluation of the metabolic status of Simmental dairy cows in early and mid lactation. *Animal Science Papers and Reports*, 31: 101-110.
- Djokovic R., Jozek J., Cincovic M., Nemecc M., Belic B., Klinkom M., Staric J. (2018): Beta-hydroxybutyrate in milk as screening test for subclinical ketosis in dairy cows. pp. 127. *The 30th World Buiatrics Congress*, August 28 to September 1, Sapporo, Japan.
- Djokovic R., Ilic Z., Kurcubic V., Petrovic M., Cincovic M., Petrovic P.M., Caro-Petrovic V. (2019): Diagnosis of subclinical ketosis in dairy cows. *Biotechnology in Animal Husbandry*, Vol. 35, No.2, pp. 111-125. ISSN 1450-9156, UDC 636.09'65 <https://doi.org/10.2298/BAH1901001P>.
- Duffield T. (2000): Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, Vol.16, pp.231-253.
- Duffield T., Bagg R. (2002): Herd level indicators for the prediction of high-risk dairy herds for subclinical ketosis. Pp. 175-176 in *Proc. Proceeding of American Association of Bovine Practitioner*, Rome, GA.
- Eicher R. (2004): Evaluation of the metabolic and nutritional situation in dairy herds: Diagnostic use of milk components. *23rd World Buiatrics Congress*, Québec, Canada.
- Enjalbert F., Nicot M. C., Bayourthe A. C., Monculon R. (2001): Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: Relationship between concentrations and utilization for detection of subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science*, Vol. 84, pp. 583-589.
- Geishauser T., Leslie K., Kelton K., Duffield T. (1998): Evaluation of five cow-side tests for use with milk to detect subclinical ketosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Vol.81, pp. 438-443.
- Geishauser T., Leslie K., Ten Hag, J., Bashiri A. (2000): Evaluation of eight cow-side ketone tests in milk for detection of subclinical ketosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Vol.83, pp.296-299.

- Geishauser T., Leslie K., Kelton K., Duffield T. (2001): Monitoring for subclinical ketosis in dairy herds. *Compendium*, S65-S71.
- Hansen P.W. (1999): Screening of dairy cows for ketosis by use of infrared spectroscopy and multivariate calibration. *Journal of Dairy Science*, Vol.82, pp. 2005-2010.
- Heurer C., Luinge H.J., Lutz E.T.G., Schukken Y.H., Van Der Maas J.H., Wilmink H. Noordhuizen T.M. (2001): Determination of acetone in cow milk by fourier transform infrared spectroscopy for the detection of subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science*, Vol. 84, pp. 575-582.
- Herd T.H. (2000): Ruminant adaptation to negative energy balance: Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Journal of Dairy Science*, Vol. 16, pp. 215-230.
- Holtenius P., Holtenius K. (1996): New aspects of ketone bodies in energy metabolism of dairy cows: A review. *Journal of Veterinary Medicine A*, Vol. 43, pp. 579-587.
- Heuwieser W., Falkenberg U., Iwersen M., Voigtsberger R., Padberg W., (2007): Evaluation and use of an automated human β -hydroxybuturate (BHBA) test for cowside detection of subclinical ketosis in dairy cattle. *Proceedings of the Fortieth Annual Conference, American Association of Bovine Practitioners, Vancouver, British Columbia, Canada*, pp: 253-254.
- Iwersen M., Falkenberg U., Voigtsberger R., Forderung D., Heuwieser W. (2009): Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Vol. 92, pp. 2618-2624.
- Jozek J., Cincovic M., Nemec M., Belic B., Djokovic R., Klinkom M., Staric J. (2017): Beta-hydroxybutyrate in milk as screening test for subclinical ketosis in dairy cows. *Polish Journal of Veterinary Science*, Vol. 20, pp. 507-512.
- Jenkins NT, Peña G, Risco C, Barbosa CC, Vieira-Neto A, Galvão KN. (2015): Utility of inline milk fat and protein ratio to diagnose subclinical ketosis and to assign propylene glycol treatment in lactating dairy cows. *The Canadian veterinary journal* 2015 Aug; 56(8):850-4. PMID: 26246632; PMCID: PMC4502854.
- Kinoshita A, Wolf C., Zeyner A. (2010): Studies on the incidence of hyperketonemia with and without hyperbilirubinaemia in cows in Mecklenburg-Vorpommern (in Germany) in the course of the year. *Tieraerztliche Praxis*, Vol.38, pp. 7-15.
- Konkol K., Godden S., Rapnicki P., Overton M., Rollin E. (2009): Validation of a rapid cowside test for the measurement of blood β -hydroxybutyrate in fresh cows. *Minnesota Dairy Health Conference*, pp: 86-87.
- Larsen T. Nielsen N. (2005): Fluorometric determination of β -hydroxybutyrate in milk and blood plasma. *Journal of Dairy Science*, Vol.88, pp. 2004-2009.
- Nielen M., Aart M.G.A., Jonker A.G.M., Wesing T., Schukken Y.H. (1994): Evaluation of two cowside tests for the detection of subclinical ketosis in dairy cows. *Canadian Veterinary Journal*, Vol. 35, pp. 229-232.

31. Oetzel G.R. (2004): Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, Vol.20, pp. 651-674.
- Oetzel G.R. (2007): Herd level ketosis- Diagnosis and risk factors. Preconference Seminar 7C: Dairy Herd Problem Investigation Strategies: Transition Cow Troubleshooting, American association of bovine practitioners 40th Annual Conference, pp. 67-91, September 19, Vancouver, BC, Canada
- Ospina P.A., Nydam D.V., Stoko T., Overton T.R., (2010): Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *Journal of Dairy Science*, Vol.93, pp. 546-554.
- Osborne T.M., Leslie K.E., Duffield T., Petersson C.S., Ten Hag J., Okada Y. (2002): Evaluation of Keto-Test in urine and milk for the detection of subclinical ketosis in periparturient Holstein dairy cattle. pp. 188-189 in *Proc. Proceedings of the 35th Conference of the American Association of Bovine Practitioners*, Rome, GA.
- Seifi H.A., Le Blanc S.J., Leslie K.E. Duffield T.F. (2011): Metabolic predictors of postpartum disease and culling risk in dairy cattle. *Veterinary Journal*, Vol.188, pp. 216-220.
- Tyopponen J., Kauppinen K. (1980): The stability and automatic determination of ketone bodies in blood samples taken in field conditions. *Acta Veterinaria Scandinavica*, Vol.21, pp. 55-61.
- Williamson D.H., Meellanby J. (1974): D-(-)3-hydroxybutyrate. In *methods of enzymatic analysis*, 1st ed., Academic Press, New York, pp 1836-1837.
- Whitaker D.A. (1997): Interpretation of metabolic profiles in dairy cows. *Cattle Practitioner*, Vol. 5, pp. 57- 60.
- Van Kneysel A.T.M., Van Der Drift S.G.A., Horneman M., De Roos A.P.W., Kemp B. Graat E.A.M. (2010): Ketone body concentration in milk determined by fourier transform infrared spectroscopy: Value for the detection of hyperketonemia in dairy cows. *Journal Dairy Science*, Vol. 93, pp. 3065-3069.
- Venkatewarlu K., Choudhuri P.C. (2001): Detection of acetone in milk: Qualitative and quantitative salicylaldehyde test for diagnosis of subclinical ketosis in dairy cows. *Indian Veterinary Journal*, Vol.78, pp. 335-336.
- Voyvoda H., Erdogan H. (2010): Use of a hand-held meter for detecting subclinical ketosis in dairy cows. *Research Veterinary Science*, Vol. 89, pp. 344-351.
- Zhang Z., Liu G., Wang H., Li X., Wang Z. (2012): Detection of subclinical ketosis in dairy cows. *Pakistan Veterinary Journal*, Vol. 32, pp. 156-160.

DIAGNOSIS OF KETOSIS IN DAIRY COWS

Radojica Đoković¹, Marko Cincović², Milun Petrović¹, Miloš Petrović¹, Boban Jašović³, Biljana Anđelić⁴, Miroslav Lalović⁵

Abstract

The aim of this study is to overview diagnostic tests for ketosis in dairy cows, including laboratory and cowside tests. Measurement of blood BHB values in blood is the gold standard test for the diagnosis of ketosis. The most commonly used cut-points for SCK are ≥ 1.2 mmol/L or ≥ 1.4 mmol/L, and for clinical ketosis are about 3.0 mmol/l, for BHB in the blood. The cowside blood BHB test using a hand-held meter (ketometer) has higher levels (above 95%) of sensitivity and specificity than other cowside tests, and can replace laboratory blood BHB testing. The cowside milk (BHB) test (a Ketolac BHB test strip with a cut-point of ≥ 200 $\mu\text{mol/L}$ of BHB in milk) is a potentially useful tool for routine herd monitoring for SCK in early lactation dairy cows.

Key words: cows, ketosis, laboratory tests, cowside tests

¹University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia (radojicadjokovic@gmail.com)

²University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Department of Veterinary Medicine, Trg Dositeja Obradovića br.3, Novi Sad, Serbia;

³University of Priština, Faculty of Agriculture, Kopaonička bb, Lešak, Serbia;

⁴University of Niš, Faculty of Agriculture, Kosančićeva no. 4, Kruševac, Serbia;

⁵University of East Sarajevo, Faculty of Agriculture, East Sarajevo, BiH.