

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



**EVALUACIÓN ENERGÉTICA Y PROTEICA EN VACAS
HOLSTEIN PRE Y POST PARTO DE LA CAMPIÑA DE
CAJAMARCA**

T E S I S

Para optar el Título Profesional de:

MÉDICO VETERINARIO

Presentada por el Bachiller

RONAL GUEVARA EDQUEN

Asesor

M.Sc. FERNANDO ALBERTO OBLITAS GUAYÁN

CAJAMARCA – PERÚ

2014

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



**EVALUACIÓN ENERGÉTICA Y PROTEICA EN
VACAS HOLSTEIN PRE Y POST PARTO DE LA
CAMPIÑA DE CAJAMARCA**

TESIS

Para Optar el Título Profesional de
MÉDICO VETERINARIO

Presentada por el Bachiller
RONAL GUEVARA EDQUÉN

Asesor
M.Sc. FERNANDO ALBERTO OBLITAS GUAYÁN

Cajamarca – Perú
2014



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Cajamarca siendo las diez y diez minutos de la mañana del once de diciembre del dos mil catorce, se reunieron en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias “**César Bazán Vásquez**” de la Universidad Nacional de Cajamarca, los integrantes del Jurado Calificador, designados por el Consejo de Facultad, con el objeto de evaluar la sustentación de Tesis Titulada “**EVALUACIÓN ENERGÉTICA Y PROTEICA EN VACAS HOLSTEIN PRE Y POST PARTO EN LA CAMPIÑA DE CAJAMARCA**”, presentada por el Bachiller en Medicina Veterinaria: **Ronal Guevara Edquén**.

Acto seguido el Presidente del Jurado procedió a dar por iniciada la sustentación, y para los efectos del caso se invitó al sustentante a exponer su trabajo.

Concluida la exposición de la Tesis, los miembros del Jurado Calificador formularon las preguntas que consideraron convenientes, relacionadas con el trabajo presentado; asimismo, el Presidente invitó al público asistente a formular preguntas concernientes al tema.

Después de realizar la calificación de acuerdo a las pautas de evaluación señaladas en el Reglamento de Tesis, el Jurado Calificador acordó: **APROBAR** la sustentación de Tesis para optar el Título Profesional de **MÉDICO VETERINARIO**, con el Calificativo Final obtenido de **DIECISEIS (16)**.

Siendo las once y cincuenta minutos de la mañana del mismo día, el Presidente del Jurado Calificador dio por concluido el proceso de sustentación.


M.Sc. M.V. JOSÉ ANTONIO NIÑO RAMOS
PRESIDENTE


M.Sc. M.V. JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN
SECRETARIO


Mg. M.V. CRISANTO JUÁN VILLANUEVA DE LA CRUZ
VOCAL

DEDICATORIA

A DIOS:

Por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

A MIS PADRES:

Ylaria y Andrés, por apoyarme en todo momento, por los valores que me han inculcado, y por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida. Sobre todo por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.

A MIS HERMANOS:

Yanet, Ana y Neider, por ser parte importante en mi vida y representar la unidad familiar. Por ser ejemplos de estudio, de desarrollo laboral y por ser un gran apoyo a lo largo de mi carrera. A todos ellos por llenar mi vida de grandes momentos que hemos compartido.

RONAL

AGRADECIMIENTO

A Dios, por haberme permitido vivir hasta este día, haberme guiado a lo largo de mi vida, por ser mi apoyo mi luz y mi camino. Por haberme dado la fortaleza de seguir adelante en aquellos momentos de debilidad.

Al M.Sc. Fernando Oblitas Guayán por su valiosísima ayuda y aporte en la ejecución de la presente investigación, por su apoyo brindado a lo largo de la carrera, por dedicación de su tiempo, amistad y conocimientos que sigue transmitiendo.

A todos mis profesores de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, por brindarme los conocimientos necesarios para mi buen desarrollo profesional.

A mis amigos, por los momentos que pasamos juntos. Por las tareas que juntos realizamos y por todas las veces que a mí me explicaron gracias. Por la confianza que en mí depositaron.

... a todos muchas gracias.

RONAL

RESUMEN

Esta investigación se realizó en siete fundos de la campiña de Cajamarca. Los objetivos fueron cuantificar la concentración de ácidos grasos no esterificados (NEFAs), proteínas totales (PT), beta-hidroxibutirato (BHB), hemoglobina (Hb), úrea sérica y determinar la condición corporal (CC), en vacas Holstein, 15 días preparto y 2, 15, 30, 45 y 60 días post parto, en 84 vacas lecheras, de las cuales se tomó 7 ml de sangre para la obtención de suero sanguíneo y su posterior análisis bioquímico, el cual se realizó en el laboratorio de Fisiología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias, mediante técnicas espectrofotométricas, a través de la lectura de las absorbancias. Se obtuvo los siguientes resultados: En el preparto las concentraciones séricas obtenidas fueron, para NEFAs 0.4 mmol/l, BHB 0.6 mmol/L, urea 4.0 mmol/L, Hb 12 g/dl, Albumina 29.7 g/l y PT. 64.5 g/l, y la estimación de la CC fueron de 3.25 puntos. En la etapa de post parto los resultados fueron, para NEFAs 0.3 mmol/l, BHB 0.8 mmol/l, la urea 4.6 mmol/l, la Hb 11.3 g/dl, la albumina 28.9 g/l, PT 71.2 g/l y la CC se estimó a 2.75 puntos. Todos los resultados se encuentran dentro de los valores referenciales tanto en pre y post parto. El análisis estadístico se concluye que las concentraciones séricas en vacas sin suplementación son diferentes significativamente en los periodos del post parto: CC a los 2, 15 y 30 días, BHB a los 45 días, Hb a los 30 y 60 días, y habiendo una correlación CC y periodo en suplementadas y no suplementadas.

Palabras claves: Ácidos grasos no esterificados, Betahidroxibutirato, úrea, proteínas totales, albumina, hemoglobina, condición corporal.

ABSTRACT

This research was conducted in seven farms in the countryside of Cajamarca. The objectives were to quantify the concentration of non-esterified fatty acids (NEFAs), total protein (TP), beta-hydroxybutyrate (BHB), hemoglobin (Hb), serum urea and determine body condition score (BCS) in Holstein cows, 15 days prepartum and 2, 15, postpartum 30, 45 and 60 days, 84 dairy cows, of which 7 ml of blood was taken for obtaining serum and subsequent biochemical analysis, which was performed in the laboratory Veterinary Faculty of Veterinary Science, by espectofotométricas techniques by reading the absorbance physiology. The following results were obtained: In the prepartum serum concentrations were obtained for NEFAs 0.4 mmol / l, BHB 0.6mmol / l, urea 4.0 mmol / L, Hb 12 g / dl, albumin 29.7 g / l PT. 64.5 g / l, and DC estimation points were 3.25. In the postpartum stage results were, for NEFAs 0.3mmol / l, BHB 0.8mmol / l, urea 4.6mmol / l, Hb 11.3g / dl albumin 28.9 g / l, PT 71.2 g / l CC was estimated to 2.75 points. All results are within the reference values both before and after childbirth. Statistical analysis was concluded that serum unsupplemented cows differ significantly in periods of postpartum: CC at 2, 15 and 30 days, 45 days BHB, Hb at 30 and 60 days, and still a CC and correlation period supplemented and unsupplemented.

Keywords: Non-esterified fatty acids, beta-hydroxybutyrate, urea, total protein, hemoglobin, body condition.

ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

ABSTRACT

CONTENIDO

PÁGINA

CAPÍTULO I	INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II	MARCO TEÓRICO	4
CAPÍTULO III	MATERIALES Y MÉTODOS	18
CAPÍTULO IV	RESULTADOS	25
CAPÍTULO V	DISCUSIÓN	51
CAPÍTULO VI	CONCLUSIONES	57
CAPÍTULO VII	BIBLIOGRAFÍA	58
	ANEXO	65

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

En los establos de la Campiña de Cajamarca, dedicados a la producción láctea, es importante lograr un correcto balance nutricional; especialmente en los periodos productivos de mayores requerimientos como en la preñez e inicio de la lactación. En el periodo de lactancia temprana la vaca llega al máximo de producción, a pesar de estar deprimido el consumo de alimento, debiendo movilizar sus reservas corporales para satisfacer sus elevados requerimientos metabólicos (Wittwer, 1996).

La condición corporal es un reflejo de las reservas grasas que posee el animal en su cuerpo. Estas reservas pueden ser usadas por las vacas en aquellos periodos en las cuales son incapaces de comer la cantidad de alimento suficiente para satisfacer sus necesidades de energía. Los ácidos grasos no esterificados (NEFAs) son el resultado de la lipólisis y proteólisis que se produce para satisfacer los requerimientos de los animales durante el balance energético negativo (Rukkwamsuk, 1999).

La albumina constituye una fracción importante en el suero sanguíneo. Está relacionada con el poder coloidosmótico y la capacidad amortiguadora de la sangre, así como el transporte de sustancias. La urea es un producto de deshecho del metabolismo del nitrógeno y su determinación en las muestras de suero sanguíneo indica la actividad metabólica proteica del animal (Wittwer, 1987). El BHB es un producto de la oxidación hepática de los

ácidos grasos y se lo toma como indicador del déficit energético en vacas parturientas (Kaneko, 1980).

Los valores de hemoglobina están asociados al consumo de proteínas, aunque los cambios que se deriven en uno por efecto del otro se producen generalmente de forma lenta. Así cuando existe deficiencia de proteínas disminuye la concentración de hemoglobina y el resultado es un cuadro de anemia.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Cuantificar la concentración de ácidos grasos no esterificados, proteínas totales, beta-hidroxibutirato, hemoglobina, urea sérica y determinar la condición corporal en vacas Holstein, pre y post parto, en la campaña de Cajamarca.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Cuantificar la concentración de ácidos grasos no esterificados, proteínas totales, beta-hidroxibutirato, hemoglobina, urea sérica y determinar la condición corporal en vacas Holstein a los 15 días pre parto en la campaña de Cajamarca.

Cuantificar la concentración de ácidos grasos no esterificados, proteínas totales, beta-hidroxibutirato, hemoglobina, urea sérica y determinar la condición corporal en vacas Holstein a los 02, 15, 30, 45, 60 días post parto en la campaña de Cajamarca.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. UREA

La urea es considerada como una diamida del ácido carbónico; existe en la orina, sangre, linfa, bilis, sudor, leche y otros fluidos, es uno de los últimos términos de la transformación de las sustancias que han de metabolizarse en el hígado del organismo. (Vidal , 1984)

2.1.1. Biotransformación del amoniaco en el Hígado

En este órgano el amoniaco sanguíneo es convertido en urea y otros metabolitos (Dehareng, 1994). Siendo la urea el principal destino del amoniaco sanguíneo en rumiantes, constituyendo un 60 a 80%, la parte excedente viene principalmente del catabolismo de los aminoácidos que no son usados por el organismo en la síntesis proteica (Dehareng, 1994).

2.1.2. Síntesis de la urea

La síntesis fue estudiada por Hans A. Krebs (1932). La urea, producto final principal del catabolismo del nitrógeno, se sintetiza de amoniaco, bióxido de carbono y el nitrógeno amídico del aspartato. Algunas reacciones de la síntesis de la urea ocurren en la matriz mitocondrial, en tanto que otras se realizan en el citosol.

Uno de los átomos de nitrógeno y el átomo de carbono de la urea proceden respectivamente del NH_4^+ y del CO_2 . El otro átomo de nitrógeno procede del aspartato. El aminoácido ornitina actúa como transportador de los grupos y es convertido en arginina. La arginina se hidroliza para formar urea, con liberación del transportador ornitina. El proceso completo evoluciona hacia adelante, debido en última instancia a la ruptura de cuatro enlaces fosfato ricos en energía (McGilvery, 1977).

En el hígado el amoníaco y el aspartato, producto del catabolismo proteico, aportan los átomos de nitrógeno para la síntesis de la urea (Styer, 1976). En los rumiantes parte de la urea producida por el hígado es transferida por vía sanguínea a la saliva para regresar nuevamente al rumen por la vía digestiva (Blowey, 1972).

En circunstancias normales, el hígado prontamente elimina el amoníaco de la sangre porta, de manera que la sangre abandona el hígado y toda la sangre periférica está virtualmente exenta de amoníaco.

2.1.3. La circulación de la urea en sangre, tejidos y fluidos.

La concentración de la urea ha sido mediada en sangre, orina, leche y otros, siendo el valor sérico el más difundido. La determinación de urea plasmática se utiliza como criterio diagnóstico de insuficiencias renales, determinando el grado de funcionalidad renal, pero también se usa para evaluar el balance proteico del animal, estableciéndose, correlaciones entre los valores de urea sérica, y el aporte proteico en la ración, así como entre la concentración de urea en muestras de suero y leche (Vasquez, 1987).

La urea es un producto de desecho del metabolismo del nitrógeno (Sato, 1988). Y su determinación en muestras de suero sanguíneo, junto a la albumina, releva información acerca de la actividad metabólica del animal. La concentración sanguínea de la urea está en relación con el aporte proteico en la ración, así también en la relación energía: proteína (Blowey, 1972; Kaufmann, 1976). Estos trabajos señalan que valores bajos de urea en sangre de los animales se encuentran en rebaños que utilizan dietas deficitarias de proteínas y valores altos en aquellos que utilizan dietas con excesivo aporte proteico o déficit de energía (Reyes, 1992).

2.1.4. Excreción de la urea

Principalmente la urea sigue dos caminos, se excreta por difusión directa desde la sangre a través de las paredes del rumen, íleon, ciego y colon (Payne, 1981), y por la saliva siendo nuevamente reciclado y egresa del organismo, por orina y leche. Por término medio, el 20% de nitrógeno absorbido vuelve a penetrar a través de la pared del rumen en el aparato digestivo; la otra parte de urea sanguínea que alcanza el intestino grueso se transforma en proteína bacteriana y es eliminada por las heces.

Valores de referencia de urea para Cajamarca

Tabla 1. Estudios realizados por Sánchez (1999) en los establos de la campaña de Cajamarca.

Promedio DE mmol/l	Valores de referencia mmol/l	Coef. De Variación (%)
5.5 +- 1.1	3.3 – 7.7	20.0

2.2. BETA-HIDROXIBUTIRATO

Es un cuerpo cetónico, producto fisiológico del metabolismo de los glúcidos y lípidos. Sus precursores son los ácidos grasos de la dieta, así como depósitos de grasa del animal. Los ácidos grasos de cadena larga, producidos en la movilización de reservas de grasa, son convertidos en el hígado en acetoacetato y después en beta-hidroxibutirato, el cual puede ser fuente de energía para la síntesis de grasa en la leche. La concentración sanguínea del β HB ha sido utilizada como indicador de déficit energético o movilización grasa (Valenzuela, 1994).

El β HB es importante ya que cumple una tarea trascendente en el metabolismo del animal. Es oxidado en varios tejidos, incluidos músculo y la glándula mamaria (Paker, 1989). El β HB también actúa como una señal metabólica, ya que a altas concentraciones fisiológicas inhibe la liberación de ácidos grasos del tejido adiposo y de este modo su propia velocidad de producción (Devlin, 2004).

2.2.1. Diagnóstico de laboratorio

En sangre

En la actualidad se emplea con bastante éxito en los perfiles metabólicos la determinación de β HB en muestras de sangre, técnica que tiene nivel de detección entre 0,1 a 0,5 mmol/l, con excepción de vacas al inicio de lactancia en que se acepta hasta 0,8 mmol/l (Wittwer, 1996).

En leche

Últimamente se ha realizado estudios tendientes a determinar el β HB en muestras de leche, motivado por la facilidad en la obtención de muestras y al hecho que el β HB es estable, a diferencia de otros cuerpos cetónicos que son volátiles. Con dicho objeto se ha desarrollado un método semi-cuantitativo,

basado en química seca (uso de cintas reactivas) (Wittwer, 1996) o también puede determinarse siguiendo idéntica metodología empleada para sangre.

En orina

Está determinado por el pH ácido en este tipo de muestras, el umbral renal para β HB es de 10 a 25 mg/100 ml de plasma (Medway, 1987).

2.2.2 Valores de referencia

Benedito (1990), reporta resultados de concentraciones de β HB de bovinos en gestación (Cuadro 2) en diferentes fluidos orgánicos.

Tabla 2. Valores de referencia de β HB (mmol/l). Descrito por algunos autores.

Autores	Leche	Sangre	Orina
Bird (1977)		0,42	
Wittwer (1996)	< 0,1	0,1 - 0,5 0,8*	
Valenzuela (1994)		0,39** 0,5*	
Blood (1996)		0,1	
Medway (1973)		0,08 - 0,88	0,1- 0,25
Kaneko (1989)		0,22 – 0,46	

* Al inicio de la lactancia.** Final de la gestación.

Tabla 3. Valores de referencia de β HB (mmol/l) para Cajamarca.

-15 d	15d	30d	45d	60d
0.5	0.5	0.6	0.8	1.0

Tomados y modificados de la tesis María Sol Blanco¹.

2.3. CONDICIÓN CORPORAL

El consumo de dietas inadecuadas para abastecer los requerimientos de una situación determinada, obliga al organismo a poner en marcha exquisitos mecanismos de compensación basados en la movilización de sus depósitos de reserva. Este mecanismo es aprovechado en la práctica antes la disminución de la calidad y a veces de la cantidad de alimento aportado. De un buen manejo en esta etapa depende en gran parte el resultado del próximo servicio (Camps y col, 2001).

Las vacas podrán perder peso, estado o condición corporal (CC), a medida que dispongan de reservas suficientes para movilizar, aportando, a partir de estas reservas movilizadas, los nutrientes faltantes en la dieta, en relación a los requerimientos de los animales en ese momento (Camps, y col., 2001).

La meta ideal para la CC de vaca seca es de 3,5. Para lograr una producción y un estado de salud satisfactorio desde el comienzo de la siguiente lactación, la CC debe estar entre un mínimo de 3 y un máximo de 4 (Parker, 2002).

La vaca debería evaluarse frecuentemente desde los comienzos de la lactación. Es en ese momento, cuando la CC, como reflejo de reserva de energía, tiene su más alto impacto sobre la salud, producción y fertilidad de la vaca lechera (Parker, 2002). El sobrepeso de la vaca al

¹ Tesis: Evaluación de las concentraciones de BHB, urea sérica y condición corporal en bovinos Holstein friesian de la campiña de Cajamarca. 2001. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca, Perú. Comunicación personal.

comenzar una nueva lactación, con una CC superior a 4, corre un mayor riesgo de padecer los problemas del síndrome de las vacas gordas, tales como dificultades en el parto, retención de la placenta, metritis, mastitis, desplazamiento del abomaso, cetosis y fiebre de la leche. Su respuesta inmune es inadecuada para combatir el estrés del parto y su apetito no está preparado para alcanzar las exigencias energéticas del comienzo de la lactación (Parker, 2002).

Diferente ocurre cuando una vaca sin reservas suficientes de energía comienza su periodo de lactación, con una CC inferior a 3, esta vaca puede experimentar menos problemas de salud durante el parto, pero sus resultados de producción y de reproducción serán menores que los esperados (Parker, 2002; Gallardo, 2004).

Tabla 4. Escala de referencia para determinar condición corporal.

1.25	1.5	1.75	2.25	2.5	2.75	3.25	3.5	3.75	4.25	4.5	4.75
	1			2			3		4		5
Muy flaca			Flaca			Normal			gorda		obesa

2.4. ÁCIDOS GRASOS NO ESTERIFICADOS (NEFAs)

Son el resultado de la lipólisis y proteólisis que se produce para satisfacer los requerimientos de los animales durante el periodo de balance energético negativo (Rukkwamsuk, 1999).

En un estudio realizado por Spitzer (1995) menciona que las vacas con una alta nutrición posparto tienden a incrementar las concentraciones de NEFAs durante el periodo de apareamiento, comparadas con las vacas con una moderada nutrición posparto y que el incremento en las

concentraciones puede estar relacionado con el incremento en la producción láctea.

En los animales con balance energético negativo, generalmente los NEFAs se ven alterados (Canfield, 1990). Dichas alteraciones en los niveles de NEFAs son indicativo de la disponibilidad de energía y pueden proveer signos sobre el eje hipotálamo-pituitaria-ovario mediante efectos de desnutrición (Wettemann, 1992)

La movilización de la grasa resulta en el aumento de los ácidos grasos no esterificados en sangre. Esta se duplica en el plasma entre los días -17 y +2 respecto al parto y el contenido de triglicéridos, en el hígado se triplica el día del parto respecto a 28 días preparto (Calsamiglia, 2000). Aunque parte de la movilización se debe al estado endocrino animal, la disminución en la ingesta de la materia seca es el factor más importante (Grummer, 1995).

El incremento en las concentraciones de NEFAs puede tener una influencia negativa sobre la función ovárica (Bossis, 1999). Sin embargo, el aumento de las reservas energéticas corporales estimula el incremento pulsátil en la liberación de LH iniciado de esta manera la función ovárica.

Cuando la movilización de ácidos grasos es excesiva, se saturan las vías de metabolización de lípidos y se generan vías hepáticas alternas, entre las que la formación y almacenamiento hepático de triglicéridos son las más frecuentes (Grummer., 1995).

La determinación de concentraciones séricas de NEFAs es un buen indicador para evaluar la movilización de las reservas corporales, que con base en lo reportado por Canfield y Butler (1990), existe una relación negativa (a medida que disminuye la CC, se incrementa los niveles de NEFAs) eleva entre el balance energético y los niveles de NEFAs en plasma (Salas, 2003). Diversos estudios afirman que un importante indicativo para valorar este estado nutricional de los

animales es monitorear los perfiles metabólicos, los cuales indican la dinámica del estado nutricional; igualmente mencionan que las concentraciones y movilizaciones de NEFAs, que por lo regular se presenta en el posparto temprano, también permite determinar el estado nutricional de las vacas (Kronfel, 1980).

Los NEFAs miden la movilización de grasa (lipomovilización) y su determinación es importante en vacas secas (3-10 d antes del parto). Los valores normales son de ≤ 0.4 mmol/L (Bouda, 2010).

Tabla 5. Valores de referencia de NEFAS mmol/l

Pre parto	Parto	1 mes	2 mes
0.454	0.340	0.216	0.182

Tomados y modificados de Luis Ángel Quintela. Instituto de Biodiversidad Agraria. Universidad de Santiago de Compostela 2011.

2.5. PROTEÍNAS TOTALES

2.5.1. Definición Bioquímica

Las proteínas son moléculas cuyas propiedades químicas, crean la mayoría de las funciones biológicas. Son polímeros de aminoácidos. Cada aminoácido, de los que se componen las proteínas, que contiene el grupo amino y un grupo carboxilo, que sirven para la unión de moléculas, formando largas cadenas (McGilvery, 1977).

2.5.2. Importancia de las proteínas

Las proteínas determinan el metabolismo, forman tejidos, dan movimiento, transportan compuestos de una parte del organismo a otra, y protegen de invasiones nocivas (McGilvery, 1977).

Las proteínas tienen un papel básico en la función y estructura celular. Los análisis de ciertas proteínas y enzimas, que circulan

en la sangre se emplean extensamente con propósitos de diagnóstico. Por ejemplo, el análisis electroforético de la proporción plasmática albumina globulina, es parte integral de los estudios de la función hepática (Murray, 1994).

La albumina, es una proteína sintetizada en el hígado y su concentración sanguínea junto a la de la hemoglobina son útiles indicadores del aporte proteico de la ración; durante largos periodos (Rowlands, 1980).

Las globulinas, están relacionadas mayormente a la inmunidad del organismo, y su aumento sobre los valores de referencia, está dado por su mayor formación frente a inflamaciones agudas o crónicas, parasitosis, destrucción de tejidos, trastornos neoplásicos, fiebre y otros (Benjamín, 1988).

El fibrinógeno, interviene activamente en la sedimentación de los eritrocitos, acelerándola cuando está aumentado y retardándola cuando está disminuido. Así mismo, en la coagulación formando fibrina por acción de la trombina, y su incremento se describe, en forma general, en todas las infecciones (Angel, 1996), además de desplazarse del espacio extravascular para ayudar a localizar el proceso patológico. Debido a esta capacidad de identificar la presencia de tejidos enfermos, la determinación de fibrinógeno siempre debe parte de una valoración hematológica (Coles, 1988).

2.5.3. Formación

Las diferentes proteínas proceden de diferente composición de los aminoácidos de sus cadenas peptídicas. Las proteínas se forman de 20 aminoácidos que contienen grupos sustituyentes distintos o cadenas laterales, que no participan en la polimerización de las cadenas peptídicas. Una cadena peptídica tendrá, en consecuencia, una disposición de grupos químicos a

los largo de su estructura que dependerá de los diferentes grupos de aminoácidos que la integran y del orden en que se encuentren unidos, un cambio de esta secuencia, o estructura primaria, del péptido creará nuevas posiciones en los grupos químicos, y cambios en las propiedades del péptido (McGilvery, 1977).

2.5.4. Síntesis

La mayoría de las proteínas plasmáticas se sintetizan en el hígado. No obstante, las alfa-globulinas se sintetizan en las células plasmáticas, y ciertas proteínas plasmáticas se forman en otros sitios, como las células endoteliales (Murray y col., 1992).

La producción de albumina, está sujeta a un mecanismo regulador de la presión osmótica coloidal y es secundario a las alteraciones de la concentración de globulinas. El hígado sintetiza lipoproteínas y los factores de coagulación VII, VIII, IX, X (Benjamín, 1988). La mayor parte de las proteínas plasmáticas se sintetizan como pre proteínas. Por lo común están sujetas a varias modificaciones pos-traducción (proteólisis, glucosilación, fosforilización, etc.) conforme viajan a través de la célula (Murray, 1992).

Tabla 6. Valores hematológicos de referencia en bovinos de diferentes edades.

Autores	Constituyentes	g/l*
	Proteínas Totales	67.4 - 74.6
Benjamín M (1988)	Albúmina	30.0 - 35.5
	globulina	30.0 - 34.8
	Fibrinógeno	4.5 - 7.5
	Proteínas Totales	65 - 84
Wittwer y Böhmwald (1987)	Albúmina	27 - 36
	globulina	31- 52
	Fibrinógeno	2.0 - 5.0
	Proteínas Totales	40.9 - 104.2
Briones C. (1997)	Albúmina	15.9 - 48.9
	globulina	17.7 - 74.3

(*) S.I.U. = Sistema Internacional de Unidades

2.6. HEMOGLOBINA

El componente más importante en los eritrocitos es la Hb (Lynch, 1987). Como su similar, la mioglobina muscular, y como las enzimas de citocromos, peroxidasas y catalasas, es una hemoproteína. La parte proteínica se llama globina, es incolora y consta de cuatro cadenas peptídicas formando asas complicadas. En la molécula de Hb, el grupo heme está rodeado por dos pares de cadenas polipeptídicas. La hemoglobina normal del adulto (HbA1) tiene dos pares de cadenas alfa y beta. Otro componente secundario de la Hb del adulto es HbA2, en la cual las cadenas betas son substituidas por cadenas delta (Lynch, 1987).

2.6.1. Estructura de la hemoglobina

Químicamente la Hb es un complejo compuesto orgánico formado por 4 pigmentos rojos de porfirina, cada uno de los cuales contiene a un átomo de hierro, mas globina (Fradson, 1982).

2.6.2. Funciones de la hemoglobina

Transporte de oxígeno de los pulmones a los tejidos y del dióxido de carbono de los tejidos a los pulmones.

Participación de la regulación ácido básica eliminado CO_2 en los pulmones y amortiguando los cambios de pH por acción de los grupos histimidazol de la Hb (Lynch, 1987, Cunningham, 1995).

2.6.3. Dosaje de hemoglobina

El método de la cianometahemoglobina, es el más adecuado en uso; así mismo, permite medir todas las formas de la Hb (Lynch, 1987). Este método determina la cantidad de Hb en gramos presentes en un decilitro (dL) de sangre (Lynch, 1987; Mendoza, 2000).

2.6.4. Hemoglobina calculada usando como referencia el hematocrito

En la actualidad, diferentes laboratorios clínicos, vienen haciendo uso de métodos electrónicos o cálculo matemático para obtener la concentración de Hb a partir de la medición de Hematocrito (microhematocrito).

En los métodos electrónicos el hematocrito se determina mediante mediciones conductométricas. La conductividad medida tras la corrección de la concentración de electrolitos, es inversamente proporcional al Hematocrito. El uso del Hematocrito obtenido de esta manera, está pensado para

utilizarse en la cuantificación *in vitro* de la fracción volumen de sangre entera, arterial, venosa o capilar ocupada por los hematíes (CLSI, 2000).

El sistema descrito por CLSI (2000), proporciona un resultado electrónico calculado de Hb que se determina de la siguiente manera.

$$\text{Hemoglobina (g/dl)} = \text{hematocrito (\% PCV)} * 0,34$$

$$\text{Hemoglobina (g/dl)} = \text{Hematocrito (fracción decimal)} * 34$$

Cuando la determinación de las concentraciones de Hb se hace mediante cálculo matemático manual, estas se obtienen basadas en algunas consideraciones fisiológicas manifestadas por diferentes autores: en primer lugar partimos del concepto que los eritrocitos contienen la proteína denominada Hb, la cual funciona como el portador primario de O₂ y del CO₂ de la sangre (Cunningham, 1995).

(Schalm, 1964), sostiene que el contenido hemoglobínico de los eritrocitos, en volumen, es de 30 a 35% con un promedio de 33% excepto en casos de enfermedad en que hay defectuosa utilización del hierro. Así mismo, afirma que causa de esta íntima relación entre contenido de hemoglobina y hematocrito, es posible obtener el valor aproximado de hemoglobina partiendo del hematocrito, dividiendo ésta por 3.

Los eritrocitos tiene la capacidad de concentrar Hb en su líquido celular hasta un valor aproximado de 34 g/dl de células rojas. La concentración de Hb nunca supera este valor, que parece ser el límite metabólico de la capacidad de la célula para formar este compuesto (Guyton, 1992). La hemoglobina constituye cerca del 33% del peso celular del eritrocitario (Tortora, 1996).

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización

La investigación se realizó en la campiña de Cajamarca y en el Laboratorio de Fisiología Veterinaria, los cuales están ubicados en el departamento, provincia y distrito de Cajamarca; tiene las siguientes características geográficas y meteorológicas*.

3.2. Datos Geometeorológicos

Altitud	:	2676 msnm
Latitud Sur	:	7° 30´
Longitud Oeste	:	78° 30´
Temperatura máxima promedio anual	:	22 °C
Temperatura media promedio anual	:	14 °C
Temperatura mínima promedio anual	:	07 °C
Humedad relativa promedio anual	:	63.8%
Humedad máxima	:	86%
Humedad mínima	:	40%
Radiación Solar	:	5.6 h
Precipitación pluvial anual acumulada	:	650mm lineales/año
Presión máxima	:	740 milibares
Velocidad del viento	:	1 m/seg.

*Datos Proporcionados por la Estación Meteorológica "Augusto Weberbauer" (2012/2013).UNC

3.3. Materiales

3.3.1. Material Biológico

Se seleccionaron 84 vacas Holstein: 14 en seca y 70 en post-parto (hasta los 60 días), con más de tres partos por vaca y con una producción mayor a 15 litros cada una.

3.3.2. Materiales y equipos de laboratorio

Cubetas para espectrofotómetro de 1cm de espesor.

Micropipetas de 20 uL; WHEATON 851164.

Micropipetas de 1000 uL; WHEATON 851164.

Tips para micropipeta de 100 uL; EPERDORF.

Tips para micropipeta de 1mL EPERDORF.

Tubos Plásticos de 1,5 ml EPERDORF.

Tubos de ensayo de 10 mm x 10 mm. EPERDORF.

Pipetas de vidrio de 10mL.

Congeladora.

Centrifuga.

Estufa.

Espectrofotómetro marca Genesys-5

Baño maría.

3.3.3. Reactivos

Set de reactivos para la determinación de urea, β HB, NEFAs, albumina y Proteínas totales.

3.3.4. Material de Campo

Algodón hidrófilo.

Alcohol de 96°.

Mameluco.

Tablero de campo.

Estetoscopio.

Termómetro.

Botas de jebe.

Agujas hipodérmicas # 16-18g x 1 ½”.

Naricera.

Stickers para identificación.

3.4. Metodología

3.4.1. Ubicación, selección y características de los predios

Se realizó el estudio en 7 predios ubicados en el distrito y provincia de Cajamarca, se seleccionaron los establos lecheros teniendo en consideración similares características topográficas, de pasturas, alimentación y manejo en general de los animales.

3.4.2. Manejo y alimentación de los animales

El manejo de los animales en los fundos, es extensivo con y sin suplementación. No obstante las vacas de los fundos con manejo extensivo sin suplementación son pastoreadas en potreros bajo riego que cuentan con la combinación de Rye grass-Trébol blanco, las vacas de los fundos con sistema extensivo con suplementación pastorean en similares condiciones a las del fundo extensivo, pero éstas reciben además una suplementación de concentrado.

3.4.3. Selección de los grupos de animales

Los animales se seleccionaron en cada una de las visitas quincenales que se realizaron entre marzo, abril y junio, y se encontraron dentro del periodo proyectado. Las 84 muestras fueron tomadas siguiendo el siguiente esquema:

N^a de muestras

Vacas en seca, 15 días antes del parto	:	14
Vacas en producción:		
2 días; calostro	:	14
15 días	:	14
30 días	:	14
45 días	:	14
60 días	:	14

3.4.4. Obtención y manejo de las muestras de sangre

Las muestras de sangre se obtuvieron por la mañana en ayunas, mediante venopunción coccígea de cada una de las vacas que se encuentran en diferentes estados: seca y los 60 primeros días de lactación en cada uno de los fundos en estudio. Las muestras con anticoagulante (heparina) y sin anticoagulante obtenidas se identificaron y acondicionaron en una gradilla metálica para ser transportadas al Laboratorio de Fisiología Veterinaria de la Universidad Nacional de Cajamarca, donde se separó el suero correspondiente, y se almacenó en Tubos plásticos de 1.5 ml las cuales se guardaron en congelación a -20°C hasta su posterior análisis.

Mediante las muestras con anticoagulante se procedió a determinar el hematocrito para la posterior determinación de Hb.

3.5. Determinación de los parámetros de estudio

3.5.1. Valoración de la urea sérica

La concentración de urea se hizo por medio del Método Ureasa-Berthelot modificado y empleando un kit comercial obtenido para tal fin. El fundamento de la técnica se basa en que la ureasa descompone a la urea produciendo dióxido de carbono y amoníaco. El salicato y el hipoclorito del reactivo reaccionan con los iones amonio para formar un complejo verde (2,2 dicarboxilindofenol) que se determina colorimétricamente.

La lectura del valor de urea se realizó en un espectrofotómetro GENESYS-S5 longitud de onda de 540 nm, a 37⁰C.

3.5.2. Determinación de β -hidroxibutirato

La concentración de β HB se realizó por medio del método Ultra Violeta para D-3 Hidroxibutirato, empleando un kit comercial, es un método cinético enzimático para medir el nivel de D-3 Hidroxibutirato en suero o plasma. Se basa en la oxidación de β HB a acetoacetato por acción de la enzima 3 hidroxibutirato deshidrogenasa. Concomitante con esta oxidación el cofactor NAD se reduce a NADH y el cambio de absorbancia asociado está en relación directa con la concentración de D-3-hidroxibutirato.

La lectura se realizó en el espectrofotómetro GENESYS-S5 longitud de onda 340 nm, a 37⁰C.

3.5.3. Determinación de la condición corporal (CC)

Para la puntuación de la CC se tomó la escala desarrollado por Edmonson y col. (1989). Estos autores basan la exploración de los animales únicamente en la inspección visual y fijan puntuaciones extremas de la CC de 1 a 5, pero incorporando

fracciones intermedias de 0,25 puntos, lo que configura una escala de 17 graduaciones posibles en total. La asignación a la condición corporal de la puntuación que mejor ajuste entre las 17 posibles se hace una vez examinada “por observación”:

TABLA 7. Puntuación de la Condición corporal

1.25	1.5	1.75	2.25	2.5	2.75	3.25	3.5	3.75	4.25	4.5	4.75
	1			2			3		4		5
Muy flaca			Flaca			normal			gorda		Obesa

3.5.4. Determinación de ácidos grasos no esterificados (NEFAs)

La determinación de NEFAs se realizó utilizando un kit comercial de reacción enzimática de acuerdo a la metodología descrita en el kit comercial y los cambios de color en cada una de las muestras se determinaron en el espectrofotómetro.

3.5.5. Dosaje de hemoglobina (Hb)

Se realizó mediante la lectura del hematocrito multiplicado por 0,34 (Ruiz, 2012).

3.5.6. Medición de la proteína total sérica (PT)

Los enlaces peptídicos de las proteínas reaccionan con el ión cúprico, en medio alcalino, para dar un complejo color violeta con máximo de absorción a 540 nm, cuya intensidad es proporcional a la concentración de proteínas totales en la muestra.

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó para cada una de las variables: NEFAs, urea, β HB, proteínas totales, albumina, CC y Hb un análisis de varianza (ANDEVA) y significancia. Luego se realizaron pruebas de Turkey al 0.05 y regresión a cada una de las variables.

Los resultados se presentaron como medias correspondientes a la totalidad de los valores obtenidos para la variable, y gráficos donde se visualice los cambios en las concentraciones en ambos metabolitos.

3.7. HISTOGRAMA

Para cada grupo se elaboró un histograma (H), donde se presentan los valores de H para cada una de las variables en estudio. De esta forma se entrega gráficamente las diferencias, en unidades de desviación estándar, que hay entre las medias poblacionales y la del grupo, lo que permitió comparar las desviaciones encontradas para cada variable mediante una escala común. El valor de H se encontró mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Histograma} = \frac{(\text{promedio del grupo} - \text{promedio poblacional})}{\text{desvío estandar de la población}}$$

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Del total de muestras aptas para los análisis de laboratorio 42 de ellas correspondieron a vacas bajo el sistema de manejo extensivo sin suplementación y 42 muestras de vacas bajo el sistema extensivo con suplementación y se distribuyó por periodos (pre-parto y post parto 2, 15, 30, 45 y 60 días respectivamente). En la Tabla 1 presenta los resultados de las concentraciones de las vías energéticas y metabólicas en estudio de preparto y post parto en todos los animales, los cuales se encuentran dentro de los valores normales.

Tabla 1. Promedio de la Condición Corporal y las concentraciones séricas de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y Proteína total del total de muestras estudiadas.

PERIODOS (días)	CC Puntos	NEFAS mmol/l	β HB mmol/l	UREA mmol/l	HB g/dl	ALBUM g/l	PROT.TOT. g/l
PRE PARTO							
15	3.3	0.4	0.6	4.0	12.0	29.7	64.5
POST PARTO							
2	3.4	0.4	0.7	5.4	11.8	30.4	66.1
15	2.9	0.4	0.8	4.0	11.4	29.6	70.1
30	2.8	0.4	0.8	4.7	11.6	28.0	75.0
45	2.5	0.3	0.8	4.0	11.0	27.8	72.4
60	2.4	0.3	0.8	4.7	10.6	28.5	72.2
X post parto	2.8	0.3	0.8	4.6	11.3	28.9	71.2

4.1. Resultados individuales de las vías energéticas y proteicas, valores promedio de grupo y poblacional e histograma de vacas en pre parto y post parto bajo el sistema de manejo extensivo sin y con suplementación en distinto periodo productivo.

Animales sin suplementación

En la tabla 2 se observa los resultados individuales durante el preparto, donde se aprecia un animal con β HB sobre de los valores normales establecidos, un animal con urea, dos con albumina y otro con proteínas totales están con valores disminuidos, no afectando el promedio de grupo respectivo. CC normal y las concentraciones séricas de NEFAs, Hb están dentro de los valores poblacionales normales establecidos.

El histograma y/o los resultados de la CC y las concentraciones séricas de NEFAs, β HB, Urea, Hb, y Proteínas Totales se encuentran normales.

Tabla 2. Promedio de la CC y las concentraciones de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y proteínas totales en vacas sin suplemento en el periodo de pre parto.

PERIODO	MUESTRA	CC Puntos	NEFAs mmol/l	β HB mmol/l	UREA mmol/l	Hb g/dl	ALBUM g/l	PROT. TOT. g/l
PRE PARTO	1	3	0.2	0.7	5.0	12.2	32.6	68.9
	2	3.25	0.3	0.7	4.9	10.9	24.1-	54.5-
	3	3.25	0.6	0.6	4.2	11.9	24.9-	69.2
	4	3.5	0.5	0.8+	3.1-	11.5	31.3	79.9
	5	3.25	0.3	0.7	4.1	12.2	30.8	60.5
	6	3.25	0.5	0.5	5.6	11.6	29.9	69.9
	7	3.5	0.4	0.6	3.7	12.0	28.1	60.5

X	3.3	0.4	0.6	4.4	11.8	28.8	66.2
D.E	0.2	0.1	0.1	0.9	0.5	3.3	8.4
H	0.3	-0.1	1.6	-1.4	0.5	-1.1	-1.0

Dónde: (+) vacas con valores energéticos y/o proteicos elevados

Dónde: (-) vacas con valores energéticos y/o proteicos disminuidos.

VALORES DE REFERENCIA POBLACIONAL

X	3	0.5	0.5	5.5	11.1	32.2	72.9
D.E.	1	0.5	0.1	0.8	1.2	3.0	6.4
MIN	1	0.1	0.3	3.3	8.7	26.1	60.1
MAX	5	1.0	0.7	7.7	13.5	38.2	85.7

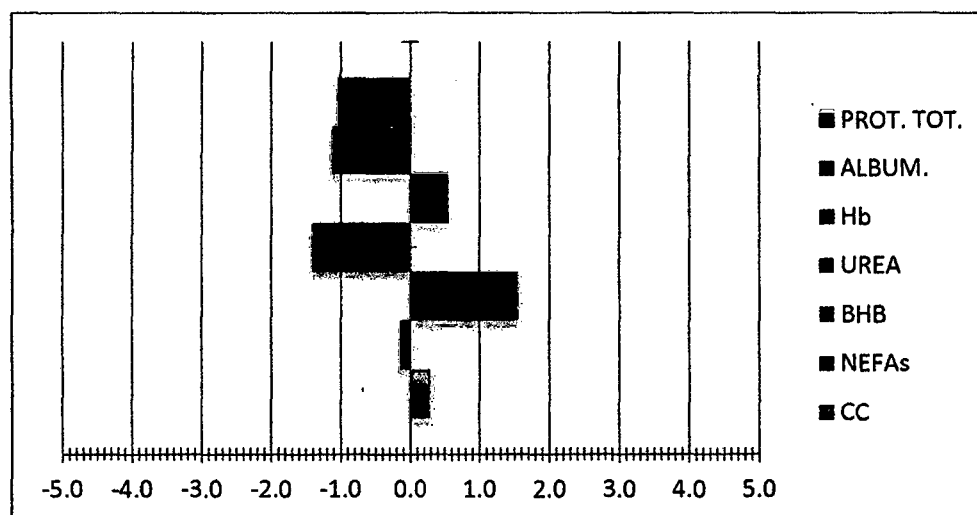


Figura 1. Histograma a los 15 días pre parto.

En la Tabla 3, se observa los resultados individuales a los dos días post parto, donde se aprecia un animal con valor elevado en β HB y otro con NEFAs, éstos no afectan el promedio de grupo respectivo. CC normal y las concentraciones séricas de Urea, Hb, Albúmina y Proteínas Totales están dentro de los valores poblacionales normales establecidos.

El histograma y/o los resultados de la CC y las concentraciones séricas de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y Proteínas Totales se encuentran normales.

Tabla 3. Promedio de CC y concentraciones de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y proteínas totales en vacas sin suplemento a los 02 días post parto.

PERIODO	MUESTRA	CC Puntos	NEFAs mmol/l	β HB mmol/l	UREA mmol/l	Hb g/dl	ALBUM g/l	PROT. TOT. g/l
02 DIAS POST PARTO	1	3.25	0.4	0.6	3.5	10.5	32.5	68.2
	2	3.25	0.2	0.5	4.2	12.2	38.1	66.6
	3	3.25	0.6	0.8	3.9	10.9	27.3	63.6
	4	3.0	0.3	1.0+	3.8	9.5	31.7	69.2
	5	3.0	0.8+	0.7	4.2	12.9	28.1	62.9
	6	3.5	0.3	0.7	4.3	12.3	30.8	67.5
	7	3.25	0.4	0.6	4.6	11.6	27.2	72.2
X		3.2	0.4	0.7	4.1	11.4	30.8	67.2
D.E		0.2	0.2	0.1	0.4	1.2	3.9	3.2
H		0.2	0.3	1.0	-1.6	0.8	-0.1	-1.0

Dónde: (+) vacas con valores energéticos y/o proteicos elevados

Dónde: (-) vacas con valores energéticos y/o proteicos disminuidos.

VALORES DE REFERENCIA POBLACIONAL

X	3	0.3	0.5	5.7	10.4	31.1	73.3
D.E	1	0.3	0.2	1.0	1.2	3.7	6.2
MIN	1	0.1	0.0	3.3	8.0	23.7	60.9
MAX	5	0.9	0.9	7.7	12.8	38.5	85.6

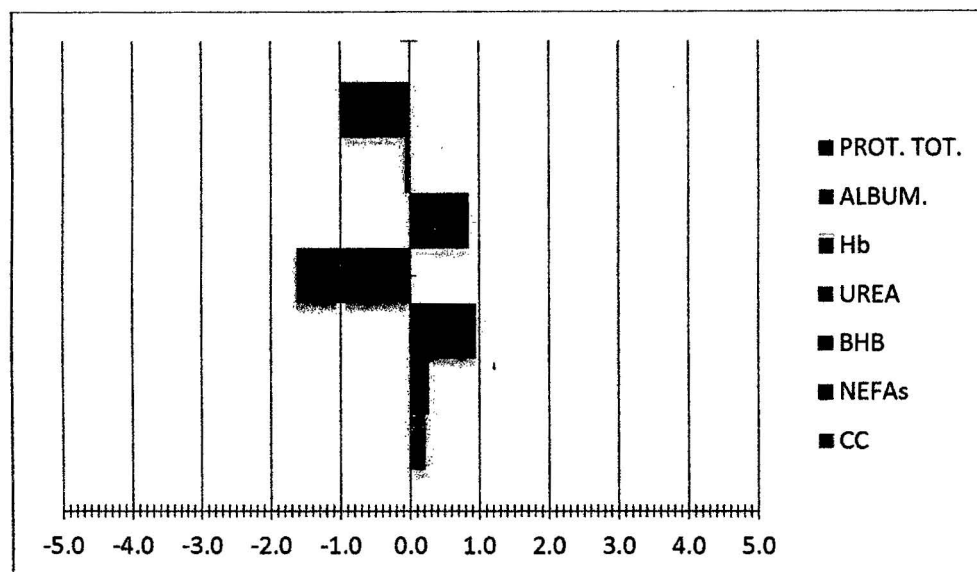


Figura 2. Histograma a los 02 días post parto.

En la Tabla 4, se observa los resultados individuales a los 15 días post parto, donde se aprecia valores elevados en cinco animales con NEFAs y dos con β HB, valores disminuidos en un animal con urea y otro con Hb. Los valores establecidos afectan el promedio de grupo respectivo en NEFAs. Condición corporal normal y las concentraciones séricas de Albúmina y Proteínas Totales están dentro de los valores poblacionales normales establecidos.

El histograma y/o los resultados de la CC y las concentraciones séricas de Urea, Hb, Albúmina y Proteínas Totales se encuentran normales. β HB tiene una tendencia a estar elevado mientras que Los NEFAs se encuentran aumentados.

Tabla 4. Promedio de CC y concentraciones de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y proteínas totales en vacas sin suplemento a los 15 días post parto.

PERIODO	MUESTRA	CC Puntos	NEFAs mmol/l	β HB mmol/l	UREA mmol/l	Hb g/dl	ALBUM g/l	PROT. TOT g/l
15 DIAS POST PARTO	1	2.75	0.5+	0.9	2.8-	11.6	33.2	72.1
	2	2.75	0.3	1.0+	4.5	10.9	26.1	69.2
	3	2.5	0.5+	0.9	3.9	11.2	36.9	74.1
	4	2.75	0.4+	1.0+	4.6	6.8-	34.5	67.1
	5	2.75	0.7+	0.9	3.6	11.2	24.2	65.7
	6	2.75	0.2	0.7	3.6	12.2	35.5	65.4
	7	2.5	0.4+	0.8	4.3	12.4	28.1	62.9
	X	2.7	0.4	0.9	3.7	10.9	31.2	68.1
	D.E	0.1	0.2	0.1	0.6	1.9	5.0	4.0
	H	-0.3	2.1	2.0	-0.9	0.4	0.0	-0.8

Dónde: (+) vacas con valores energéticos y/o proteicos elevados

Dónde: (-) vacas con valores energéticos y/o proteicos disminuidos.

VALORES DE REFERENCIA POBLACIONAL

X	3	0.2	0.5	4.6	10.4	31.1	73.3
D.E	1	0.1	0.2	1.0	1.2	3.7	6.2
MIN	1	0.1	0.0	3.3	8.0	23.7	60.9
MAX	5	0.3	0.9	7.7	12.8	38.5	85.6

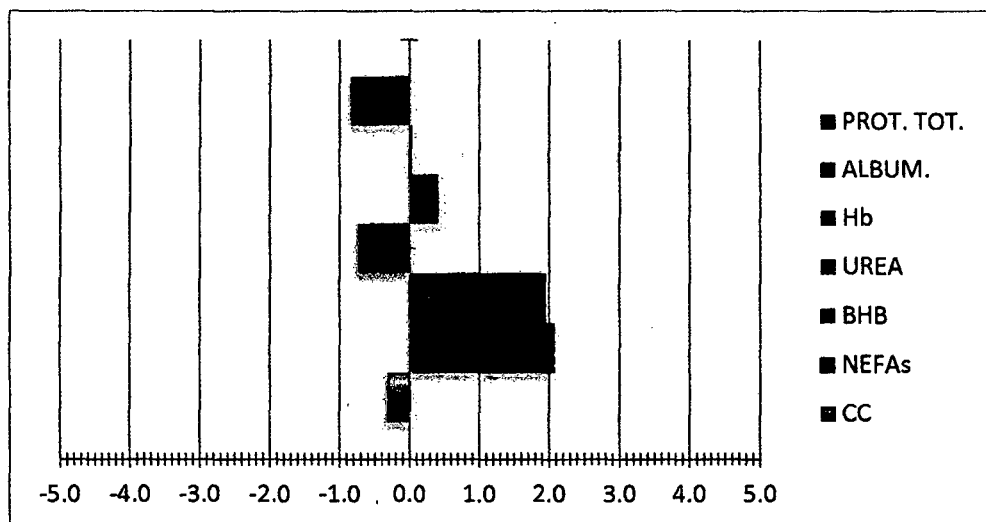


Figura 3. Histograma a los 15 días post parto.

En la Tabla 5, se observa los resultados individuales a los 30 días post parto, donde se aprecia cinco animales con valores elevados uno en NEFAs y otro en β HB, un animal con valores disminuidos en urea, éstos valores de NEFAs afectan el promedio del grupo respectivo. CC normal y las concentraciones séricas de Hb, Albúmina y Proteínas Totales están dentro de los valores poblacionales normales establecidos.

El histograma y/o los resultados de la CC y las concentraciones séricas de β HB, Urea, Hb, Albúmina y Proteínas Totales se encuentran normales. Los NEFAs se encuentran aumentados.

Tabla 5. Promedio de la CC y concentraciones de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y proteínas totales en vacas sin suplemento a los 30 días post parto.

PERIODO	MUESTRA	CC Puntos	NEFAs mmol/l	β HB mmol/l	UREA mmol/l	Hb g/dl	ALBUM g/l	PROT. TOT. g/l
30 DIAS POST PARTO	1	2.75	0.5+	0.8	4.8	10.5	31.2	75.2
	2	2.5	0.6+	0.8	5.5	10.2	24.1	78.2
	3	2.75	0.5+	1.2+	5.1	10.2	35.4	79.2
	4	2.75	0.2	0.7	4.5	12.2	24.5	71.3
	5	2.75	0.4+	0.8	3.1-	10.5	24.9	83.4
	6	2.75	0.3	0.8	3.9	11.2	33.3	72.4
	7	2.75	0.5+	0.4	4.1	12.3	25.3	74.5
	X	2.7	0.4	0.8	4.4	11.0	28.4	76.3
	D.E	0.1	0.1	0.2	0.8	0.9	4.8	4.2
	H	-0.3	2.2	0.9	-0.2	0.5	-0.7	0.5

Dónde: (+)vacas con valores energéticos y/o proteicos elevados

Dónde: (-) vacas con valores energéticos y/o proteicos disminuidos.

VALORES DE REFERENCIA POBLACIONAL

X	3	0.2	0.6	4.6	10.4	31.1	73.3
D.E	1	0.1	0.2	1.0	1.2	3.7	6.2
MIN	1	0.1	0.1	3.3	8.0	23.7	60.9
MAX	5	0.3	1.1	7.7	12.8	38.5	85.6

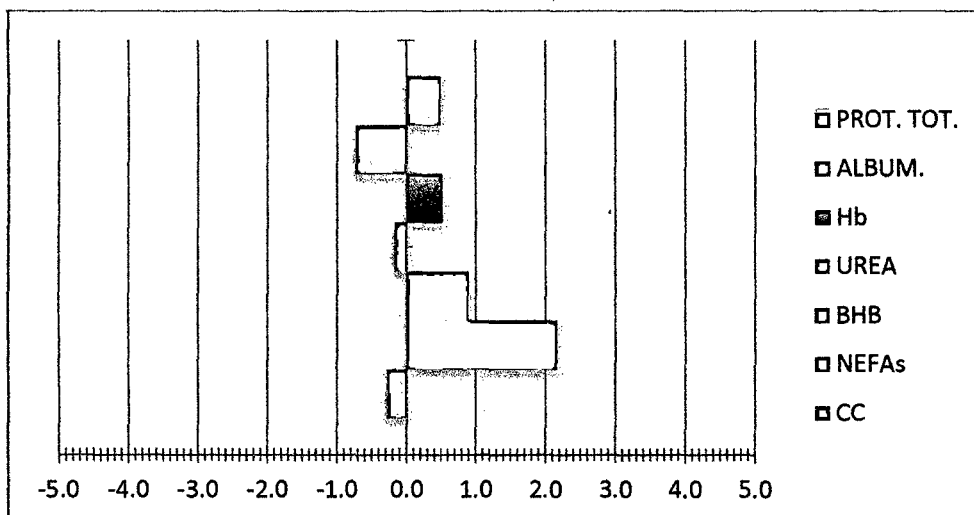


Figura 4. Histograma a los 30 días post parto.

En la Tabla 6, se observa los resultados individuales a los 45 días post parto, donde se aprecia valores disminuidos en NEFAs de tres animales y uno en urea. CC normal y las concentraciones séricas de β HB, Hb, Albúmina y Proteínas Totales están dentro de los valores poblacionales normales establecidos, valores no afectan el promedio de grupo respectivo.

El histograma y/o los resultados de la CC y las concentraciones séricas de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y Proteínas Totales se encuentran normales.

Tabla 6. Promedio de la CC y las concentraciones de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y proteínas totales en vacas sin suplemento a los 45 días post parto.

PERIODO	MUESTRA	CC Puntos	NEFAs mmol/l	β HB mmol/l	UREA mmol/l	Hb g/dl	ALBUM g/l	PROT. TOT. g/l
45 DIAS P+OST PARTO	1	2.5	0.5+	0.6	4.2	10.5	32.1	76.6
	2	2.5	0.2	0.9	3.7	10.5	35.1	70.6
	3	2.5	0.4+	0.5	3.4	11.8	24.1	77.5
	4	2.5	0.5+	0.7	5.0	11.9	24.3	76.4
	5	2.25	0.3	0.5	5.5	10.8	28.1	67.5
	6	2.25	0.2	0.7	4.1	12.3	24.4	72.2
	7	2.5	0.3	0.4	3.2-	12.4	26.2	69.9

X	2.4	0.3	0.6	4.2	11.5	27.8	73.0
D.E	0.1	0.1	0.2	0.8	0.8	4.3	3.9
H	-0.6	2.0	-0.4	1.4	0.9	-0.9	-0.1

Dónde: (+) vacas con valores energéticos y/o proteicos elevados

Dónde: (-) vacas con valores energéticos y/o proteicos disminuidos.

VALORES DE REFERENCIA POBLACIONAL

X	3	0.2	0.8	2.7	10.4	31.1	73.3
D.E	1	0.1	0.3	1.0	1.2	3.7	6.2
MIN	1	0.1	0.1	3.3	8.0	23.7	60.9
MAX	5	0.3	1.5	7.7	12.8	38.5	85.6

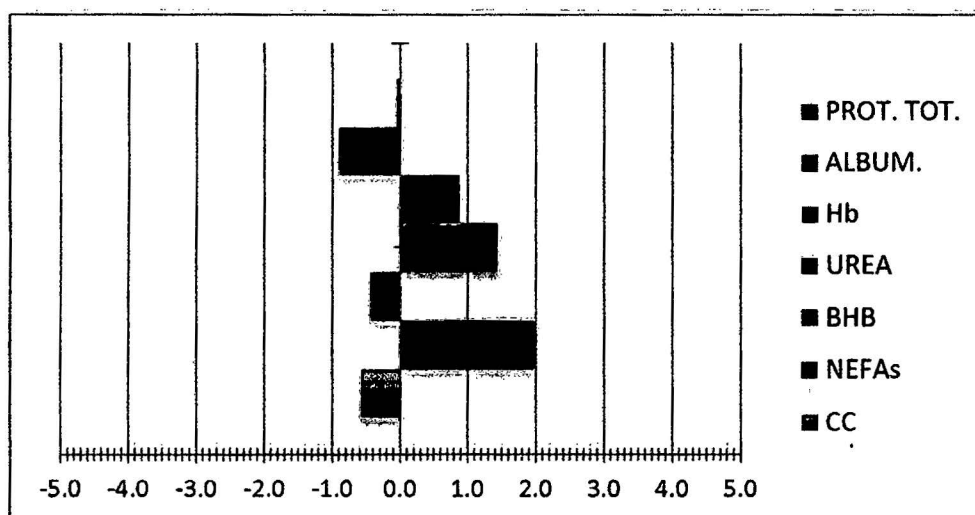


Figura 5. Histograma a los 45 días post parto.

En la Tabla 7, se observa los resultados individuales a los 60 días post parto, donde se aprecia valores elevados de NEFAs en tres animales, CC normal y las concentraciones séricas de β HB, Urea, Hb, Albúmina y Proteínas Totales están dentro de los valores poblacionales normales.

El histograma y/o los resultados de la CC y las concentraciones séricas de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y Proteínas Totales se encuentran normales.

Tabla 7. Promedio de la CC y las concentraciones de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y proteínas totales en vacas sin suplemento a los 60 días post parto.

PERIODO	MUESTRA	CC Puntos	NEFAs mmol/l	β HB mmol/l	UREA mmol/l	Hb g/dl	ALBUM g/l	PROT. TOT. g/l
60 DIAS POST PARTO	1	2.25	0.1	0.8	4.3	9.9	25.3	70.1
	2	2.5	0.2	1.0	3.5	9.2	31.3	72.7
	3	2.5	0.1	1.3	5.2	9.8	26.2	74.8
	4	2.5	0.4+	0.7	7.8	10.2	25.3	65.9
	5	2.25	0.4+	0.5	4.1	10.4	27.2	74.5
	6	2.25	0.5+	0.6	5.5	9.7	28.1	72.2
	7	2.25	0.2	0.4	4.1	9.9	26.2	65.2

X	2.4	0.3	0.8	4.9	9.9	27.1	70.8
D.E	0.1	0.1	0.3	1.4	0.4	2.1	3.9
H	-0.6	0.9	-0.5	1.1	-0.4	-1.1	-0.4

Dónde: (+) vacas con valores energéticos y/o proteicos elevados

Dónde: (-) vacas con valores energéticos y/o proteicos disminuidos.

VALORES DE REFERENCIA POBLACIONAL

X	3	0.2	1.0	3.8	10.4	31.1	73.3
D.E	1	0.1	0.5	1.0	1.2	3.7	6.2
MIN	1	0.1	0.0	3.3	8.0	23.7	60.9
MAX	5	0.3	2.0	7.7	12.8	38.5	85.6

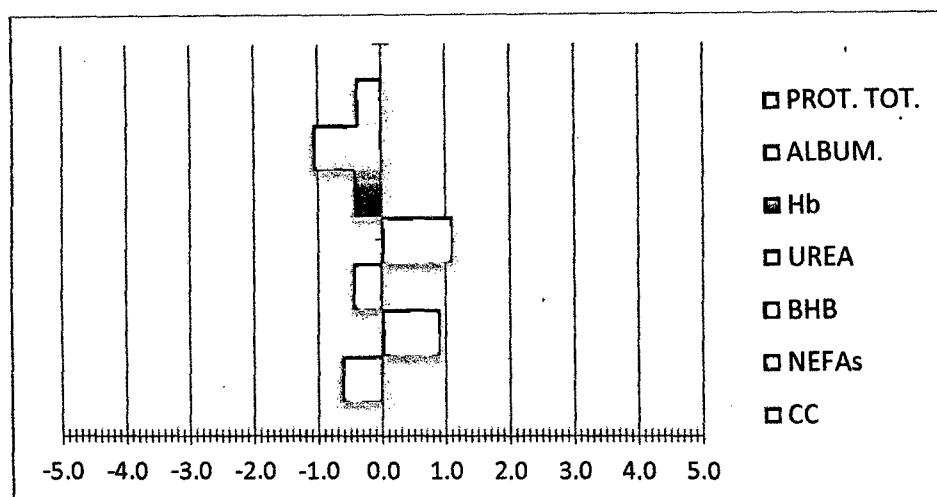


Figura 6. Histograma a los 60 días post parto.

Animales suplementados

En la Tabla 8, se observa los resultados individuales a los 15 días pre parto, donde se aprecia dos animales con valores elevados en β HB, un animal con urea y tres con Proteínas Totales valores disminuidos. CC normal y las concentraciones séricas de NEFAs, Hb y Albúmina están dentro de los valores poblacionales normales establecidos.

El histograma y/o los resultados de la CC y las concentraciones séricas de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y Proteínas Totales se encuentran normales.

Tabla 8. Promedio de la CC y las concentraciones de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y proteínas totales en vacas con suplemento a los 15 días pre parto.

PERIODO	MUESTRA	CC Puntos	NEFAs mmol/l	β HB mmol/l	UREA mmol/l	Hb g/dl	ALBUM g/l	PROT. TOT. g/l
PRE PARTO	1	3.25	0.3	0.3	5.0	12.2	28.4	67.8
	2	3.5	0.4	0.8+	4.5	12.6	30.8	76.8
	3	3.25	0.4	0.7	3.4	12.9	29.6	58.7-
	4	3.5	0.5	0.6	3.3	11.6	33.5	58.2-
	5	3.5	0.3	0.6	2.8-	11.9	30.8	61.5
	6	3.25	0.4	0.9+	6.4	12.2	31.3	51.7-
	7	3.5	0.4	0.6	4.1	11.7	29.1	65.2

X	3.4	0.4	0.6	4.2	12.2	30.5	62.8
D.E	0.1	0.1	0.2	1.2	0.5	1.7	8.1
H	0	-0.2	1.4	-1.6	0.9	-0.6	-1.6

Dónde: (+) vacas con valores energéticos y/o proteicos elevados

Dónde: (-) vacas con valores energéticos y/o proteicos disminuidos.

VALORES DE REFERENCIA POBLACIONAL

X	3	0.5	0.5	5.5	11.1	32.2	72.9
D.E	1	0.5	0.1	0.8	1.2	3.0	6.4
MIN	1	0.1	0.3	3.3	8.7	26.1	60.1
MAX	5	1.0	0.7	7.7	13.5	38.2	85.7

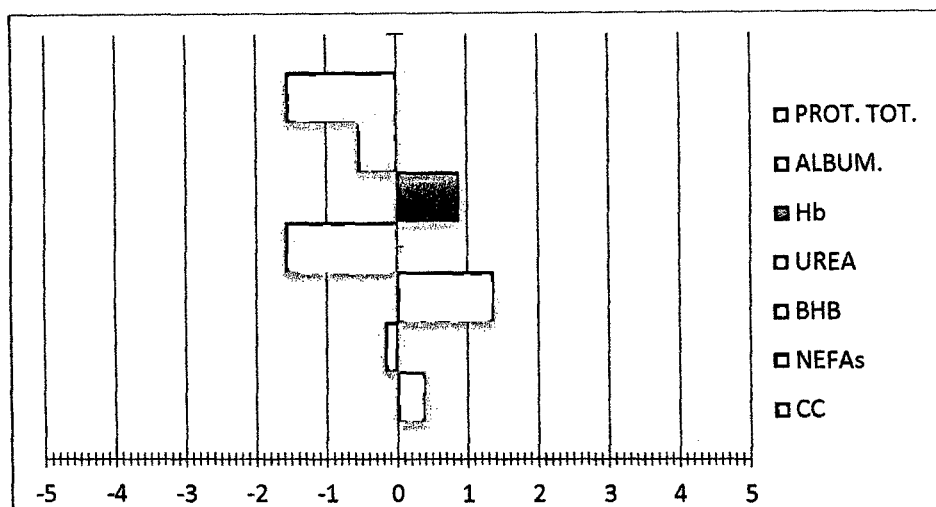


Figura 7. Histograma a los 15 días pre parto.

En la Tabla 9, se observa los resultados individuales a los 02 días post parto, donde se aprecia valores elevados en tres animales en β HB y uno en Hb, valores disminuidos en dos animales en proteínas totales, éstos no afectan el promedio del grupo. CC normal y las concentraciones séricas de NEFAs, Urea, y Albúmina están dentro de los valores poblacionales normales establecidos.

El histograma y/o los resultados de la CC y las concentraciones séricas de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y Proteínas Totales se encuentran normales.

Tabla 9. Promedio de la CC y las concentraciones de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y proteínas totales en vacas con suplemento a los 02 días post parto.

PERIODO	MUESTRA	CC Puntos	NEFAs mmol/l	β HB mmol/l	UREA mmol/l	Hb g/dl	ALBUM g/l	PROT. TOT g/l
02 DIAS POST PARTO	1	3.25	0.5	0.9+	3.8	11.6	36.2	63.3
	2	3.25	0.1	0.6	4.0	12.9+	24.4	58.6-
	3	3.75	0.3	1.1+	4.1	13.6	24.7	81.1
	4	3.5	0.2	0.8+	4.3	11.2	33.2	55.6-
	5	3.5	0.2	0.6	3.8	12.2	26.6	59.4
	6	3.75	0.5	0.5	4.3	11.7	33.5	62.9
	7	3.5	0.3	0.6	4.4	11.5	31.7	74.5

X	3.5	0.3	0.7	4.1	12.1	30.0	65.1
D.E	0.2	0.1	0.2	0.2	0.9	4.7	9.3
H	0.5	-0.1	1.1	-1.6	1.4	-0.3	-1.3

Dónde: (+) vacas con valores energéticos y/o proteicos elevados

Dónde: (-) vacas con valores energéticos y/o proteicos disminuidos.

VALORES DE REFERENCIA POBLACIONAL

X	3	0.3	0.5	5.7	10.4	31.1	73.3
D.E	1	0.3	0.2	1.0	1.2	3.7	6.2
MIN	1	0.1	0.3	3.3	8.0	23.7	60.9
MAX	5	0.6	0.7	7.7	12.8	38.5	85.6

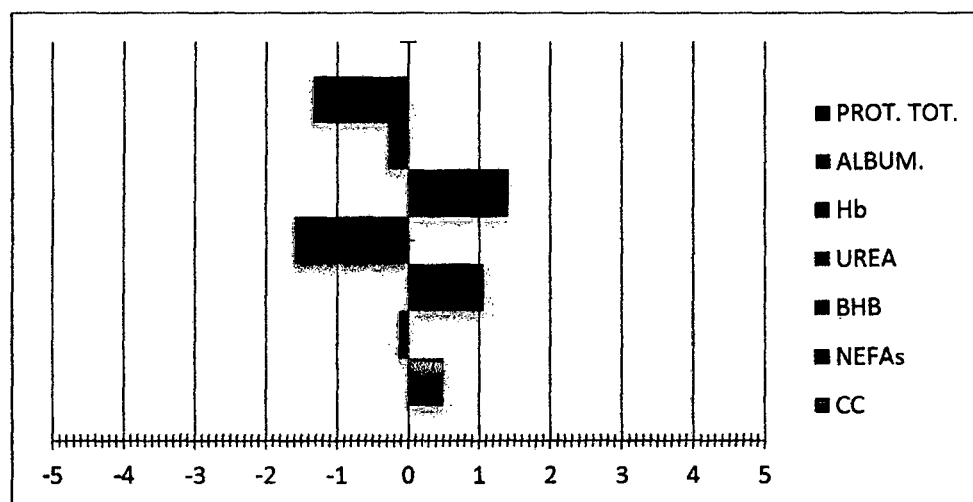


Figura 8. Histograma a los 02 días post parto.

En la tabla 10 se observa los resultados individuales a los 15 días post parto, donde se aprecia dos animales con valores elevados de β HB y cuatro en NEFAs, tres animales con valores disminuidos de urea. CC normal y las concentraciones séricas de Hb, Albúmina y Proteínas Totales están dentro de los valores poblacionales normales establecidos, valores no afectan el promedio del grupo.

El histograma y/o los resultados de la CC y las concentraciones séricas de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y Proteínas Totales se encuentran normales.

Tabla 10. Promedio de la CC y las concentraciones de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y proteínas totales en vacas con suplemento a los 15 días post parto.

PERIODO	MUESTRA	CC Puntos	NEFAs mmol/l	β HB mmol/l	UREA mmol/l	Hb g/dl	ALBUM g/l	PROT. TOT. g/l
15 DIAS POST PARTO	1	3	0.3	0.7	2.2-	11.6	25.8	69.9
	2	3.25	0.5+	0.5	2.6-	11.6	29.6	61.3
	3	3.25	0.3	1.0+	4.5	10.9	25.9	75.5
	4	3	0.4+	1.0+	5.2	12.6	25.1	83.4
	5	3.35	0.5+	0.7	4.6	12.2	29.4	72.2
	6	3	0.4	0.5	3.2-	12.3	29.9	67.5
	7	3	0.3	0.7	4.1	11.9	30.8	74.5

X	3.1	0.4	0.7	3.8	11.9	28.1	72.0
D.E	0.2	0.1	0.2	1.1	0.6	2.4	6.9
H	0.1	1.7	1.1	-0.9	1.2	-0.8	-0.2

Dónde: (+) vacas con valores energéticos y/o proteicos elevados

Dónde: (-) vacas con valores energéticos y/o proteicos disminuidos.

VALORES DE REFERENCIA POBLACIONAL

X	3	0.2	0.5	4.6	10.4	31.1	73.3
D.E	1	0.1	0.2	1.0	1.2	3.7	6.2
MIN	1	0.1	0.0	3.3	8.0	23.7	60.9
MAX	5	0.3	0.9	7.7	12.8	38.5	85.6

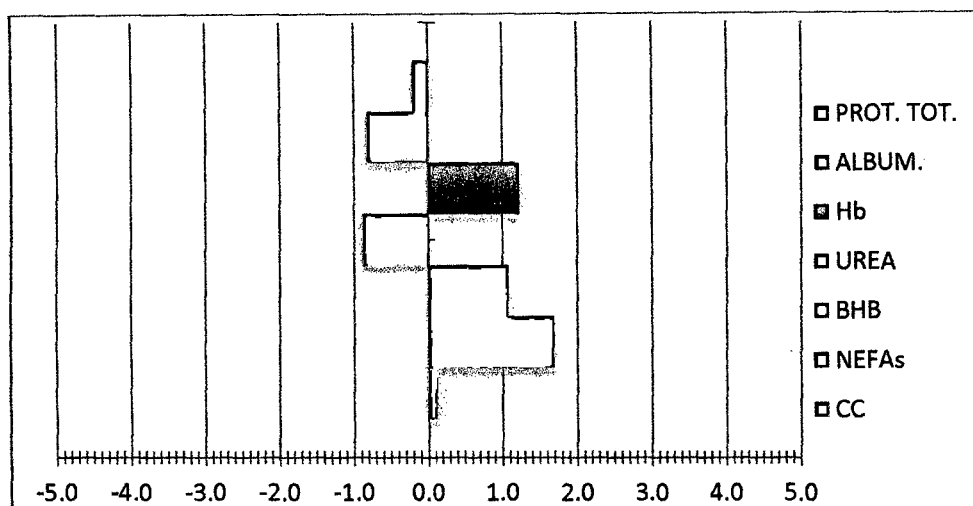


Figura 9. Histograma a los 15 días post parto.

En la Tabla 11, se observa los resultados individuales a los 30 días post parto, donde se aprecia valores elevados en NEFAs de cuatro animales y 02 animales con valores disminuidos en urea. CC normal y las concentraciones séricas de β HB, Hb, Albúmina y Proteínas Totales están dentro de los valores poblacionales normales establecidos, valores no afectan el promedio del grupo respectivo.

El histograma y/o los resultados de la CC las concentraciones séricas de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y Proteínas Totales se encuentran normales.

Tabla 11. Promedio de la CC y las concentraciones de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y proteínas totales en vacas con suplemento a los 30 días post parto.

PERIODO	MUESTRA	CC Puntos	NEFAs mmol/l	β HB mmol/l	UREA mmol/l	Hb g/dl	ALBUM g/l	PROT. TOT. g/l
30 DIAS POST PARTO	1	2.75	0.4+	1.0	3.2-	11.6	26.2	78.7
	2	2.75	0.5+	0.9	3.5	12.6	28.8	77.5
	3	3	0.5+	1.0	3.2-	11.6	30.9	68.7
	4	2.75	0.2	0.9	4.9	13.3	25.6	76.4
	5	3	0.5+	0.6	3.9	12.4	26.2	69.9
	6	3	0.3	0.5	5.5	11.8	28.1	67.5
	7	2.75	0.2	0.5	4.6	12.6	27.2	76.8

X	2.9	0.4	0.8	4.1	12.3	27.6	73.6
D.E	0.1	0.1	0.2	0.9	0.6	1.9	4.7
H	-0.1	1.6	0.8	-0.5	1.6	-1.0	0.1

Dónde: (+) vacas con valores energéticos y/o proteicos elevados

Dónde: (-) vacas con valores energéticos y/o proteicos disminuidos.

VALORES DE REFERENCIA POBLACIONAL

X	3	0.2	0.6	4.6	10.4	31.1	73.3
D.E	1	0.1	0.2	1.0	1.2	3.7	6.2
MIN	1	0.1	0.1	3.3	8.0	23.7	60.9
MAX	5	0.3	1.1	7.7	12.8	38.5	85.6

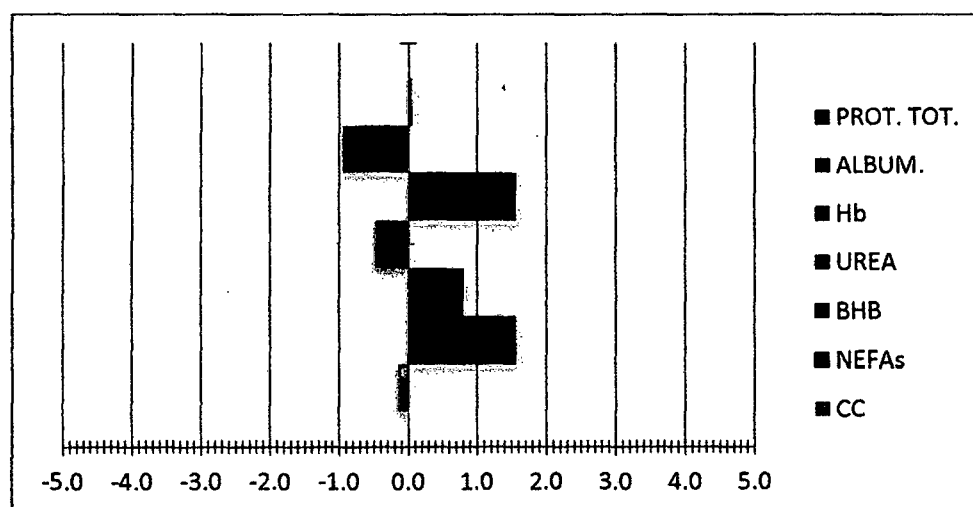


Figura 10. Histograma a los 30 días post parto.

En la Tabla 12, se observa los resultados individuales a los 45 días post parto, donde se aprecia valores elevados de NEFAs en tres animales y uno en Hb, y valores disminuidos en urea de dos animales. CC normal y las concentraciones séricas de β HB Albúmina y Proteínas Totales están dentro de los valores poblacionales normales establecidos, valores no afectan el promedio del grupo respectivo.

El histograma y/o los resultados de la CC y las concentraciones séricas de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y Proteínas Totales se encuentran normales.

Tabla 12. Promedio de la CC y las concentraciones de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y proteínas totales en vacas con suplemento a los 45 días post parto.

PERIODO	MUESTRA	CC Puntos	NEFAs mmol/l	β HB mmol/l	UREA mmol/l	Hb g/dl	ALBUM g/l	PROT. TOT. g/l
45 DIAS POST PARTO	1	2.75	0.3	1.0	4.5	11.6	24.9	72.7
	2	2.5	0.2	0.9	3.2-	10.5	25.6	67.5
	3	2.5	0.4+	0.8	4.5	6.5-	33.1	78.7
	4	2.5	0.5+	1.1	4.0	9.9	25.2	69.9
	5	2.5	0.3	1.3	3.1-	12.9+	29.7	71.5
	6	2.5	0.4+	0.9	4.4	10.5	26.2	68.7
	7	2.5	0.2	0.6	3.7	11.4	30.8	74.5

X	2.5	0.3	0.9	3.9	10.5	27.9	71.9
D.E	0.1	0.1	0.2	0.6	2.0	3.2	3.8
H	-0.5	1.3	0.6	1.2	0.1	-0.9	-0.2

Dónde: (+) vacas con valores energéticos y/o proteicos elevados

Dónde: (-) vacas con valores energéticos y/o proteicos disminuidos.

VALORES DE REFERENCIA POBLACIONAL

X	3	0.2	0.8	2.7	10.4	31.1	73.3
D.E	1	0.1	0.3	1.0	1.2	3.7	6.2
MIN	1	0.1	0.1	3.3	8.0	23.7	60.9
MAX	5	0.3	1.5	7.7	12.8	38.5	85.6

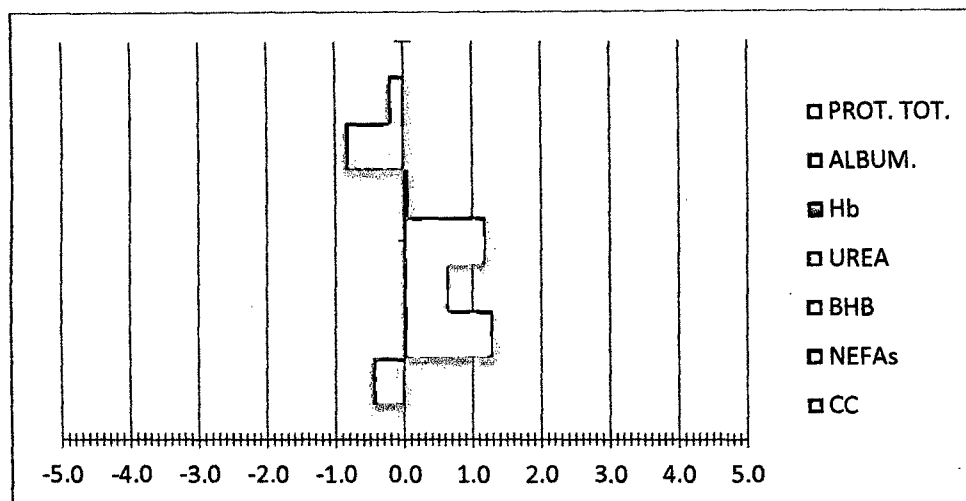


Figura 11. Histograma a los 45 días post parto.

En la Tabla 13, se observa los resultados individuales a los 60 días post parto, donde un animal presenta valor elevado en NEFAs, CC y las concentraciones séricas de β HB, Urea, Hb Albúmina y Proteínas Totales están dentro de los valores poblacionales normales establecidos.

El histograma y/o los resultados de la CC y las concentraciones séricas de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y Proteínas Totales se encuentran normales.

Tabla 13. Promedio de la CC y las concentraciones de NEFAs, β HB, Urea, Hb, Albúmina y proteínas totales en vacas con suplemento a los 60 días post parto.

PERIODO	MUESTRA	CC Puntos	NEFAs mmol/l	β HB mmol/l	UREA mmol/l	Hb g/dl	ALBUM g/l	PROT. TOT. g/l
60 DIAS POST PARTO	1	2.25	0.5+	0.8	4.5	10.5	26.3	61.6
	2	2.25	0.1	1.1	4.1	11.2	31.2	76.8
	3	2.5	0.3	0.7	3.9	10.9	25.4	71.3
	4	2.5	0.2	0.8	3.4	13.3	31.6	86.6
	5	2.5	0.2	0.9	4.8	10.5	25.4	79.2
	6	2.5	0.1	0.8	5.4	11.6	30.7	72.4
	7	2.25	0.3	0.6	4.6	11.8	28.1	67.5

X	2.4	0.3	0.8	4.4	11.4	28.4	73.6
D.E	0.1	0.1	0.2	0.7	1.0	2.8	8.1
H	-0.6	0.9	-0.4	0.5	0.8	-0.7	0.1

Dónde: += vacas con valores energéticos y/o proteicos elevados

Dónde: -= vacas con valores energéticos y/o proteicos disminuidos.

VALORES DE REFERENCIA POBLACIONAL

X	3	0.2	1.0	3.8	10.4	31.1	73.3
D.E	1	0.1	0.5	1.0	1.2	3.7	6.2
MIN	1	0.1	0.0	3.3	8.0	23.7	60.9
MAX	5	0.3	2.0	7.7	12.8	38.5	85.6

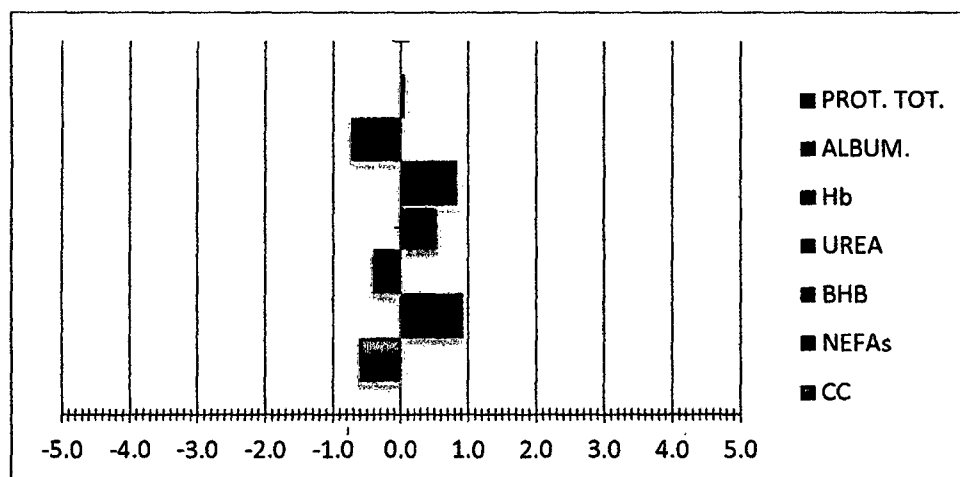


Figura 12. Histograma a los 15 días pre parto.

En la Tabla 14 se observa que el promedio de la condición corporal en las vacas sin suplemento en el pre parto y a los 2 días post parto son iguales, los periodos de 15, 30 días son iguales; y a los 45 y 60 días también son iguales pero diferentes cada uno de los grupos. En las vacas suplementadas se tiene que los periodos de preparto y 2 días son iguales, el puntaje de los 15 y 30 días son diferentes al resto de periodos y el puntaje a los 45 y 60 días son iguales pero diferentes a los periodos obtenidos anteriores.

También se tiene que entre ambos grupos experimentales existe una diferencia significativa a los 02 y 30 días post parto ($P < 0.05$) y altamente significativa a los 15 quince días ($P < 0.01$) post parto, en el resto de periodos no existe tal diferencia ($P > 0.05$).

Tabla 14. Promedio de valores de la CC (Puntos) entre vacas suplementadas y no suplementadas en los diferentes periodos.

Días	No Suplementadas	Suplementadas	Significancia
-15PP	3.29±0.17 a	3.39±0.13 a	$P > 0.05$
2	3.21±0.17 a	3.50±0.20 a	$P < 0.05$
15	2.68±0.12 b	3.12±0.16 b	$P < 0.01$
30	2.71±0.09 b	2.86±0.13 c	$P < 0.05$
45	2.43±0.12 c	2.54±0.09 d	$P > 0.05$
60	2.36±0.13 c	2.39±0.13 d	$P > 0.05$

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia ($P < 0.05$, Tukey)

En la Tabla 15 se observa que la producción láctea en los diferentes periodos en vacas sin suplemento a los 15 días es diferente a los 60 días pero similar los dos anteriores a los 30 y 45 días que a la vez estos son iguales. En suplementadas son iguales; no obstante entre estos dos grupos experimentales existe una diferencia significativa a los 45 días ($P < 0.05$) altamente significativa a los 60 días ($P < 0.01$), en el resto de periodos no existe diferencia significativa ($P > 0.05$).

Tabla 15. Promedio de Valores de Producción de Leche (L.) entre vacas suplementadas y no suplementadas en los diferentes periodos de producción láctea.

Días	No Suplementadas	Suplementadas	Significancia
-15PP			
2			
15	20.67±5.16 a	23.43±4.69 a	P>0.05
30	18.86±2.67 ab	21.14±4.91 a	P>0.05
45	16.57±3.31 ab	21.71±3.86 a	P<0.05
60	15.29±2.56 b	23.86±3.24 a	P<0.01

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia (P<0.05, Tukey)

En la Tabla 16, se observa que el promedio de NEFAs en las vacas sin suplemento en el pre parto y a los 2 días post parto son iguales, a los 15 días es similar a los 30 días pero diferentes a los 45 y 60 días, a los 30 días es similar a los 45 pero diferente a los 60 días, los 4 grupos últimos son similares al pre parto y 02 días respectivamente. En las vacas suplementadas se tiene que los periodos de preparto, 2, 45 y 60 días son iguales, el puntaje de los 15 días es igual a los 30 días pero diferentes al resto de periodos.

En los grupos experimentales no hay diferencia significativa (P>0.05)

Tabla 16. Promedio de Valores de NEFAs (mmol/L) entre vacas suplementadas y no suplementadas en los diferentes periodos de producción láctea.

Días	No Suplementadas	Suplementadas	Significancia
-15PP	0.39±0.12 abc	0.37±0.06 a	P>0.05
2	0.44±0.20 abc	0.30±0.13 a	P>0.05
15	0.43±0.16 a	0.37±0.10 b	P>0.05
30	0.44±0.15 ab	0.38±0.14 b	P>0.05
45	0.33±0.12 bc	0.28±0.08 a	P>0.05
60	0.25±0.14 c	0.25±0.13 a	P>0.05

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia (P<0.05, Tukey)

En la Tabla 17, se observa que el promedio de β HB en las vacas sin suplemento es igual en todos los periodos. En las vacas suplementadas de la misma manera los promedios son iguales.

En los grupos experimentales hay una diferencia altamente significativa a los 45 días ($P < 0.01$). En el resto de periodos no existe diferencia ($P > 0.05$)

Tabla 17. Promedio de Valores de β HB (mmol/L) entre vacas suplementadas y no suplementadas en los diferentes periodos de producción láctea.

Días	No Suplementadas	Suplementadas	Significancia
-15PP	0.65±0.11 a	0.64±0.21 a	P>0.05
2	0.69±0.15 a	0.71±0.20 a	P>0.05
15	0.89±0.12 a	0.72±0.20 a	P>0.05
30	0.78±0.23 a	0.76±0.24 a	P>0.05
45	0.62±0.16 a	0.94±0.22 a	P<0.01
60	0.77±0.32 a	0.80±0.17 a	P>0.05

Letras similares diferentes en una misma columna indican igualdad ($P > 0.05$)

En la Tabla 18, se observa el promedio de urea en vacas sin suplemento en el periodo pre parto es diferente a los 02 días pero similar a los demás, los periodos 15, 30, 45 y 60 días son iguales. En las vacas con suplemento todos los periodos son iguales. No existe diferencia significativa en estos periodos ($P > 0.05$).

Tabla 18. Promedio de Valores de Urea (mmol/L) entre vacas suplementadas y no suplementadas en los diferentes periodos de producción láctea.

Días	No Suplementadas	Suplementadas	Significancia
-15PP	4.37±0.85 b	4.22±1.22 a	P>0.05
2	4.06±0.36 a	4.11±0.24 a	P>0.05
15	3.89±0.88 ab	3.76±1.14 a	P>0.05
30	4.43±0.79 ab	4.12±1.90 a	P>0.05
45	4.16±0.85 ab	3.90±0.62 a	P>0.05
60	4.94±1.43 ab	4.38±0.67 a	P>0.05

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia ($P < 0.05$, Tukey)

En la Tabla 19, se observa el promedio de Hb en vacas sin suplemento en el pre parto es diferente a los 60 días pero similar a los 02, 15, 30, 45 días que estos son iguales. En vacas suplementadas el pre parto, 02, 15 y 60 días son iguales; a los 30 días es diferente a los 45 días pero estos son similares a los anteriores.

También se tiene que entre ambos grupos experimentales existe una diferencia significativa a los 30 días post parto ($P<0.05$) y altamente significativa a los 60 días ($P<0.01$) post parto, en el resto de periodos no existe tal diferencia ($P>0.05$).

Tabla 19. Promedio de Valores de Hb (g/dl) entre vacas suplementadas y no suplementadas en los diferentes periodos de producción láctea.

Días	No Suplementadas	Suplementadas	Significancia
-15PP	11.76±0.46 a	12.16±0.47 ab	P>0.05
2	11.41±1.18 ab	12.10±0.86 ab	P>0.05
15	10.90±1.89 ab	11.87±0.56 ab	P>0.05
30	11.01±0.91 ab	12.27±0.63 a	P<0.05
45	11.46±0.83 ab	10.47±2.01 b	P>0.05
60	9.87±0.38 b	11.40±0.98 ab	P<0.01

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia ($P<0.05$, Tukey)

En la Tabla 20, se observa que el promedio de Albúmina en vacas sin suplemento es igual en todos los periodos. En las vacas suplementadas de la misma manera los promedios son iguales.

En los grupos experimentales en todos los periodos no existe diferencia significativa ($P>0.05$).

Tabla 20. Promedio de Valores de Albúmina (g/l) entre vacas suplementadas y no suplementadas en los diferentes periodos de producción láctea.

Días	No Suplementadas	Suplementadas	Significancia
-15PP	28.81±3.26 a	30.50±1.68 a	P>0.05
2	30.81±3.86 a	30.04±4.74 a	P>0.05
15	31.21±5.01 a	28.07±2.37 a	P>0.05
30	28.39±4.77 a	27.57±1.86 a	P>0.05
45	27.76±4.32 a	27.93±3.24 a	P>0.05
60	27.09±2.11 a	28.39±2.76 a	P>0.05

Letras similares diferentes en una misma columna indican igualdad (P>0.05)

En la Tabla 21, se observa que el promedio de Proteína Total en vacas sin suplemento en el pre parto, 02 y 15 días post parto no presentan diferencia significativa (P>0.05), pero difieren con los promedios obtenidos a los 30 días (P<0.05). Este periodo (30 días) no presenta ninguna diferencia con los periodos 45 y 60 días (P>0.05). En las vacas suplementadas al pre parto, 02, 15 y 60 días post parto no presentan diferencia significativa. Se observa que a los 30 días es diferente a los 45 días pero estos son similares a los anteriores.

En los grupos experimentales en todos los periodos no existe diferencia significativa (P>0.05)

Tabla 21. Promedio de Valores de Proteína total (g/l) entre vacas suplementadas y no suplementadas en los diferentes periodos de producción láctea.

Días	No Suplementadas	Suplementadas	Significancia
-15 PP	66.20±8.36 b	62.84±8.06 ab	P>0.05
2	67.17±3.21 b	65.06±9.29 ab	P>0.05
15	68.07±3.96 b	72.04±6.92 ab	P>0.05
30	76.31±4.22 a	73.64±4.73 a	P>0.05
45	72.96±3.89 ab	71.93±3.82 b	P>0.05
60	70.77±3.90 ab	73.63±8.15 ab	P>0.05

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia (P<0.05, Tukey)

En la Tabla 22, se observa tanto en vacas suplementadas como en sin suplementar no hay correlación entre los parámetros en estudio (Producción, Hb, proteína total, β HB, albumina). Salvo la CC versus el periodo de tiempo que es inversamente proporcional (-0.09) debido al balance energético negativo, bajo consumo de alimento e incremento de la producción láctea.

Tabla 22. Correlaciones en vacas suplementadas y no suplementadas.

Correlaciones No suplementadas

	Condición Corporal	Producción
Producción	0.510 (P<0.01)	
Hemoglobina	0.462 (P<0.01)	
Proteína Total	-0.365 (P<0.01)	
Periodo	-0.874 (P<0.01)	-0.541 (P<0.01)

	Hemoglobina	Albúmina	Proteína
BHB	-0.360 (P<0.01)		
Periodo	-0.481 (P<0.01)	-0.287 (P<0.05)	0.426 (P<0.01)

Correlaciones suplementadas

	Condición Corporal	Hemoglobina	BHB
BHB	-0.352 (P<0.05)	-0.357 (P<0.05)	
Proteína Total	-0.380 (P<0.05)		0.332 (p<0.05)
Periodo	-0.939 (P<0.01)		0.338 (p<0.05)
Hemoglobina	0.357 (P>0.05)		
Periodo	Proteína 0.441 (P<0.01)		

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo, se presenta lo siguiente:

5.1. En el pre parto

En el pre parto encontramos la CC con valores de 3.3 y 3.4 puntos para los grupos de vacas sin suplementar y suplementadas, respectivamente; puntaje que se encuentra dentro del rango establecido por Grummer y col. (1995), este autor considera que las vacas deben calificar con 3.5 de CC al parto. En NEFAs se obtuvo un promedio de 0.4 mmol/l para ambos grupos, este valor se encuentra en el límite superior normal descrito por Bouda (2010), ya que una movilización lipídica incrementa las concentraciones plasmáticas de NEFAs los cuales son transportados al hígado para su esterificación o producción de triacilglicérolos.

Las concentraciones promedio de β HB fue de 0.6 mmol/L en las vacas suplementadas y sin suplementar, concentración que se encuentra dentro de los valores de referencia reportados por Wittwer (1996) y aumentados con respecto a Blanco (1999). Tomando en consideración a Blanco (1999), quien trabajó en las vacas de la campiña de Cajamarca, los resultados obtenidos indicarían movilización de las reservas corporales (Canfield y Butler, 1990) y relacionado a los cambios endocrinológicos, al menor consumo de materia seca y a la movilización de grasa corporal (Jorritsma, 2003 y Contreras, 2011).

Respecto a urea, encontramos una concentración promedio de 3.8 y 4.2 mmol/l en las sin suplementar y suplementadas, respectivamente; las cuales están dentro de los valores normales reportados por Sánchez (1999), la concentración de urea sérica de las vacas no suplementadas se acerca hacia el valor inferior del rango, este resultado podría deberse a un aporte deficiente de proteína y energía en el alimento, concordando con Reyes (1992), quien manifiesta que la concentración de urea sérica está directamente relacionada al aporte proteico de la ración y con la relación energía:proteína de la dieta. Esta situación coincidió con las concentraciones de proteína total que fueron de 66.2 y 62.8 g/l para ambos grupos respectivamente, donde se aprecia la tendencia hacia el límite inferior descrito por Rubio (2002), y disminuidos según Benjamín (1992), que se debería a un menor aporte de proteína digerible en la dieta.

Las concentraciones de albúmina fueron de 28.8 y 30.5 g/l, valores que se encontraron dentro de los valores referenciales descritos por Rubio (2002); en ambas concentraciones se observa tendencia hacia el límite inferior, que indicarían posible parasitosis, daño hepático, diarreas o déficit de proteína digerible en dieta.

Las concentraciones de hemoglobina (11.8 en suplementadas y 12.2 en las no suplementadas) se encontraron dentro de los valores referenciales descritos por Mendoza (2000).

Todos estos resultados podrían deberse a lo descrito, además, Valenzuela (1994) quien señala la posibilidad de una deficiencia en la ración consumida o una escasez de forraje asociado a una limitación del consumo voluntario de alimento al final de la gestación e inicio de la lactancia, impidiendo a las vacas satisfacer sus requerimientos.

5.2. En el post parto

La disminución de la CC a 2.7 puntos para los periodos de 15 y 30 días y 2.4 puntos para los periodos de 45 y 60 días en vacas no suplementadas y en suplementadas se tiene 3.1 para 15 días, 2.9 para 30 días, 2.5 para 45 días y 2.4 para 60 días por lo cual hay un balance energético negativo (Canfield, 1990; Whitaker, 1993) con movimiento de reservas grasas desde los depósitos corporales, hecho que ocurre comúnmente al inicio de la lactancia descrito por Valenzuela (1994), esto mejoraría la capacidad cetogénica por incrementar la gluconeogénesis hepática descrito por Kaneko (2008), Staples y col. (1992) y Ruegg y Milton (1995) plantean que generalmente la pérdida de la CC no debe exceder de 0.5 en la lactancia temprana para minimizar los efectos reproductivos negativos. Esta disminución de la CC porque el consumo de materia seca no es suficiente para cubrir los requerimientos energéticos, lo cual entran a un balance energético negativo. En ambos grupos experimentales existe una diferencia significativa a los 02 y 30 días post parto ($P < 0.05$) y altamente significativa a los 15 quince días ($P < 0.01$) post parto.

Las concentraciones de NEFAs de los 02 días post parto hasta los 30 días post parto tienen un promedio de 0.4 mmol/l en vacas sin suplementación y en vacas suplementadas tienen el mismo promedio a partir de los 15 días hasta los 30 días dichas concentraciones se encuentran dentro del rango normal en el límite superior descrito por Bouda (2010), y sobre los valores descrito por Quintela (2010) esto indicaría un balance energético negativo debido al incremento de la demanda energética para la producción de leche en el post parto que conlleva a una movilización lipídica para suplir los requerimientos energéticos (Ospina, 2010). La movilización lipídica incrementa las concentraciones plasmáticas de NEFAs los cuales son transportados al hígado para su esterificación o producción de triacilglicérol. Sin embargo está asociado a una mayor demanda de oxalacetato para la

gluconeogénesis durante el balance energético negativo, hay un mayor ingreso de NEFAs a la mitocondria para formar cuerpos cetónicos (Ospina, 2010). Dichas concentraciones en los niveles de NEFAs son indicativo de la disponibilidad de energía (Wettemann, 1992), la disminución en la ingesta de la materia seca es el factor más importante (Grummer, 1995). A partir de los 45 días hay una ligera tendencia de baja en las concentraciones de NEFAs encontrándose dentro del rango normal descrito por Bouda (2010).

Las concentraciones de β HB notamos que comienzan a elevarse para vacas sin suplementar y suplementadas a partir de los 02 días teniendo como promedio 0.7 mmol/l para ambos grupos a los 02 días y con un máximo de 0.9 mmol/l a los 15 días en vacas sin suplementar y a los 45 días en vacas suplementadas, dichas concentraciones séricas están dentro de los rangos de referencia descritos por Blanco (1999), aunque cercanos al límite superior, y por encima del valor referencial reportado por Wittwer (1996), apreciándose una elevación con respecto al pre parto, lo que indicaría presencia de balance energético negativo con movimiento de reservas grasas desde los depósitos corporales, hecho que ocurre comúnmente al inicio de la lactancia (Valenzuela, 1994). En estas situaciones, la energía necesaria para la producción de leche se obtiene a partir del alimento consumido y de la movilización de las reservas corporales, más del 40% de grasa butirosa de la leche producida en los primeros días de lactancia es sintetizada a partir de las reservas grasas movilizadas (Beh, 1995), la concentración de β HB ha sido utilizada como indicador del déficit energético (Kelly, 1977) o movilización grasa; entonces el aumento de la concentración de β HB sérico indica un balance energético negativo con movilización de reservas grasas desde los depósitos corporales Valenzuela (1994) y puede durar de diez a doce semanas después de su inicio (Wattiaux, 1996). En los grupos experimentales hay una diferencia altamente significativa a los 45 días ($P < 0.01$).

Las concentraciones promedio de urea se encuentran disminuidas con respecto a los otros periodos a los 15 días con un promedio de 3.9 mmol/l en vacas sin suplementar y 3.8 mmol/l en vacas suplementadas, y con un máximo 4.9 mmol/l a los 60 días en vacas sin suplementar y 4.4 mmol/l en vacas suplementadas, estas concentraciones están dentro de los rangos referenciales descritos por Sánchez (1999). La disminución del metabolito coincide con el incremento gradual de los valores de β HB, estos valores nos podrían indicar un aporte deficiente de proteína y energía en el alimento concordando con Reyes (1992), quien manifiesta que la concentración de urea sanguínea está directamente relacionada al aporte proteico de la ración y con la relación energía:proteína de la dieta; mientras que la concentración de β HB ha sido utilizada como indicador del déficit energético (Kelly, 1977) o movilización grasa; entonces el aumento de la concentración de β HB sérico indica un balance energético negativo con movilización de reservas grasas desde los depósitos corporales Valenzuela (1994) y puede durar de diez a doce semanas después de su inicio (Wattiaux, 1996).

La hemoglobina se encuentra disminuido en la mayoría de periodos con respecto al pre parto, la cual se encontró concentraciones de 10.9 y 9.9 g/dl a los 15 y 60 días en vacas sin suplementación, siendo más notorios que en las suplementadas con un valor más bajo de 10.5 g/dl, se tiene que entre ambos grupos experimentales existe una diferencia significativa a los 30 días post parto ($P < 0.05$) y altamente significativa a los 60 días ($P < 0.01$) post parto. Los valores disminuidos puede deberse a que en este periodo hay mayor demanda para producción de leche, de proteínas y hierro, lo que ocasionaría una menor formación de hemoglobina y por eso el resultado promedio obtenido, aunque manteniéndose dentro de los valores de referencia reportados por Ortiz y Claxton (1996) y Mendoza (2000).

En la albúmina a partir de los 15 días se encuentran valores 31.2, 28.4, 27.8 y 27.1 g/l en vacas sin suplementar y 28.1, 27.6, 27.9 y 28.4 g/l valores dentro de los rangos normales, descritos por Rubio (2002).

Al igual que en proteínas totales encontramos valores como 68.1, 76.3, 73.0 y 70.8 g/l en vacas no suplementadas y en vacas suplementadas 72.0, 73.6, 71.9 y 73.6 g/l están dentro de los valores de referencia descritos por Rubio (2002) trabajando en la misma zona.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

- Los valores promedios de la condición corporal y las concentraciones de NEFAs, β HB, urea, albumina, hemoglobina, albumina y proteínas totales en vacas Holstein a los 15 días pre parto se encontraron dentro de los valores normales tanto en suplementadas y no suplementadas.
- La condición corporal disminuye a partir de los 2 y 15 días post parto en vacas sin suplementación, mientras que en las suplementadas hay pérdida de condición corporal a partir de los 15 días post parto, conforme se incrementaron las concentraciones de β HB y NEFAs durante los periodos en estudio.
- La correlación entre la condición corporal y periodo de estudio es inversamente proporcional en vacas con suplementación y sin suplementación mostrando una disminución de la condición corporal conforme va aumentando los días de lactación.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

BARTON B.A. AND CARROLL, D.J. (1992). Dietary crude and reproductive efficiency in dairy cows: considerations when designing or evaluating research protocols. Pacific Northwest Anim. Conf. Spokane, WA., 21.

BEH A.W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. J. Anim. Sci. 73:2804-2819.

ALLEN Y SAMSON, G. R. (1976). The Compton Metabolic Profile Test. Vet. Rec, 98, 451-456.

ANGEL M. A. (1996). Interpretación Clínica de Laboratorio (5 ed.). Bogotá, Colombia: Internacional Médica Panamericana Ltda.

BENJAMÍN M. (1988). Manual de Patología Clínica en Veterinaria (1 ed.). Mexico D.F, México: Limusa S.A.

BISHOP D.K. Y WETTEMANN R.P. (1992). Blood metabolites in steers fed protein supplement daily or at 4-day intervals. Animal Science Research Rept. Oklahoma Agricultural Experiment Station, 245-250.

BLANCHE D. (2003). Balance de Energía y Reproducción en Rumiantes. Procesos endocrinos y neuroendocrinos. III curso Internacional de Fisiología de la Reproducción en Rumiantes, 151-167.

BLANCO M.S. 2001. Evaluación de las concentraciones de BHB, urea sérica y condición corporal en bovinos Holstein Friesian de la campiña de Cajamarca. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca, Perú. Comunicación personal

BLOWEY R. (1972). Metabolic profiles. some aspects of their interpretation and use in the field. *vet. ann*, 13: 21-30.

BOGIN E. (1990). Handbook for Veterinary Clinical Chemistry. Instituto Veterinario Kimron, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Hebrea.

BOSSIS I. W. R. (1999). Nutritional induced anovulation in beef heifers: Ovarian and endocrine function preceding cessation of ovulation. *J. Anim. Sci*, 1536-1546.

BOUDA JAR. UNAM. Monitoreo, diagnóstico y prevención de trastornos metabólicos en vacas lecheras. *Vet. Méx.*, 28, No. 3, 189 - 195, 1997.

BRIONES C.J. Determinación de los niveles de proteínas totales séricas, relación albumina/globulina y hematocrito en vacunos Holstein en la campiña de Cajamarca Tesis, M.V Universidad Nacional de Cajamarca, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cajamarca, Perú.

CALSAMIGLIA S. (2000). Nuevos avances en el manejo y alimentación de la vaca durante el parto. Universidad Autónoma de Barcelona. XVI curso de actualización.

CAMPS D., GONZALES, GARCIA J. & ZOPPI A. C. (09 de junio de 2001). condición corporal: una importante herramienta para monitorear el programa nutricional de los rodeos de cría. *Portal Veterinaria*. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, 38.

CANFIELD R. W. Y BUTLER W.R. (1991). Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early postpartum dairy cows. *J. Anim. Sci*, 69:740.

CONTRERAS H., MARÍN M.P., RÍOS, C., ROBLES J., MELÉNDEZ P. Ácidos grasos no esterificados al parto y su relación con producción lechera en vacas Holstein. Arch. Zootec. 60, 230: 257-264. 2011.

CARMONA -FONSECA J. (2003). Valores de Referencia de Hemoglobina y Hematocrito en una población Laboral Colombiana. Acta Médica Colombiana, 28, 63-70.

COLES E. (1988). Diagnóstico y Patología Veterinaria (4 ed.). Mexico: Interamericana, McGraw - Hill.

CUNNIGHAM G. (1995). Fisiología Veterinaria (2 ed.). Mexico: Interamericana.

CUNNINGHAM J. (1995). Fisiología Veterinaria (1 ed.). México D.F, México: Interamericana, S.A de C.V.

DEVLIN T. M. 2004. *Bioquímica*, 4ª edición. Reverté, Barcelona. ISBN 84-291-7208-4

DEHARENG D. Y. (1994). Annales de Medicine Veterinaire. Origin and Fate of Rimunal Ammonia - A literature Survey .2. Absortionand Subsenquent Fate- Ammonia Poisoning, 401-415.

DUQUE H. Y. (1981). Fisiología de los Animales Domesticos (4 ed.). Mexico: Aguilar.

FRADSON, R. (1982). Anatomia y Fisiología de Los Animales Domésticos (2 ed.). México D.F, México: Interamericana S.A.

GRUMMER R.R., H. P. (1995). Effect of prepartum and postpartum dietary energy on growth and lactation of primiparous cows. J Dairy Sci, 172 - 180.

GÜTLER H. A., KETZ E., KOLB L., SCHRÖDER Y H. SEIDEL. (1987). Fisiología Veterinaria (3 ed.). Zaragoza, España: Acribia.

GUYTON A. (1992). Tratado de Fisiología Médica (8 ed.). Madrid, España: Interamericana - McGraw-Hill.

JORRITSMA T. Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. *Vet. Res* 34, 1: 11-26. 2003

KANEKO J.J. Carbohydrate metabolism and its uses. in: KANEKO, J.J.; HARWEY, J.W., BRUSS M.L. (Eds). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Academic Press. San Diego, California. Pp. 46- 80. 2008

KAUFMANN W. (1976). Zur Bedeutung der Energieversorgung hochleistender Milchkühe für den Milcheiweißgehalt und die Fruchtbarkeit. *kiel milchwirtsch Forschung*(28), 532-539.

KRONFEL D.S Y MEWAY W. (1980). *Química Sanguinea*. Mexico D.F: Uteha.

LYNCH M. R. (1987). *Métodos de Laboratorio* (2 ed., Vol. I y II). Mexico D.F, Mexico: Interamericana S.A.

LUCY M.C. 1990. Effects of calcium salts of longchain fatty acids, growth factors, and energy balance on ovarian follicular dynamics in postpartum dairy cows. PhD. Thesis. University of Florida. Florida, USA

MCGILVERY R. (1977). *Conceptos bioquímicos*. Barcelona, España: Revete. S.A.

MEDWAY W. (1987). *Nutrición Animal* (7 ed.). Hill. Mexico: Mc Graw.

MENDOZA ESTELA J. (2000). *Valores Hematológicos de Referencia para el Ganado Vacuno Holstein Freisan de la Campiña de Cajamarca*. Tesis. M.V. Universidad Nacional De Cajamarca, Facultad de Ciencias Veterinarias.

MURRAY R. D. (1994). *Bioquímica de Harper* (13 ed.). Mexico D.F, México: El Manual Moderno, S.A. de C.V.

OLTNER R. Y. (1983). Urea concentrations in milk and blood as influenced by feeding varying of protein and energy to dairy cows. *livest. prod. Sci*, 457-468.

OSPINA P.A., NYDAM D.V., STOKOL T., OVERTON, T.R. Associations of elevated nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. *J. Dairy Sci.* 93: 1596-1603. 2010.

OSRKOV. (1992). Protein Nutrition in Ruminants. Academic press Limited, 24-28.

PAKER R. (1989). Using Body Condition Scoring in Dairy Herd Management. Canada.

PAYNE J. (1981). Enfermedades Metabólicas de los Animales Zootécnicos. Zaragoza, España: Acribia.

QUINTELA L.A. Departamento de Patología Animal. Reproducción y Obstetricia. Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela, 27002 Lugo España. 2011.

RANDEL R.D. 1990. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *J. Anim. Sci.* 68:853.

RASBY R.J., W. R. (1992). GnRH in the infundibular stalk-median eminence is related to percentage body fat in carcasses of beef cows. *Domest. Anim. Endocrin.* 71-76.

REYES A. J. (1992). Concentraciones de urea en muestras de leche de rebaños bovinos. Tesis, M.V. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias.

ROWLAND G. (1980). A review of variations in the concentrations of metabolites in the blood of beef and dairy cattle associated with physiology nutrition and disease with particular reference to the metabolic profiles. *Wld. Rev. Nutr. Diet.* 35:, 135-235.

ROWLANDS G. (1980). A review of variations in the concentrations of metabolites in the blood of beef and dairy cattle associated with physiology nutrition and disease with particular reference to the metabolic profiles. *Wld. Rev. Nutr. Diet.* 35:, 172-235.

RUKKWAMSUK T. K. T. (1999). Hepatic fatty acid composition in periparturient dairy cows with fatty liver induced by intake of a high energy diet in the dry period. *J Dairy Sci*, 82: 280-287.

SALAS R.G. G. V. (2003). Acidos Grasos No Esterificados y condición Corporal postparto de vacas Holstein en sistemas de producción a pequeña escala. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 139-143.

SALAS R.G., G. V.G. (1997). Condición, peso corporal y producción láctea durante el parto y posparto de vacas bajo sistema familiar de producción de leche. *Memorias. Seminario Taller Nacional en Sistemas de Producción de leche en Pequeña escala. Universidad Autónoma del Estado de México*, 32.

SAMARÜTEL J., LING. K., WALDMANN A., JAAKSON H., KAART T., LEESMAE A. (2008). Field trial on progesterone cycles, metabolic profiles, body condition score and their relation to fertility in Estonian Holstein dairy cows. *Reprod Dom Anim.* 43, 4: 457-463.

SÁNCHEZ, J. (1999). Concentración de urea sérica en bovinos lecheros de once establos de la campiña de Cajamarca. *Universidad Nacional de Cajamarca - Facultad de Ciencias Veterinarias.*

SATO H. Y. (1988). Blood metabolite, mineral levels and enzymatic activities in lactating dairy cows on grazing pasture without concentrate feeding. *Jpn.J. Vet. Sci*, 50: 503-508.

SCHALM W. (1964). *Hematología Veterinaria. Unión Topografica.*

SCHINLLINGER D. (1981). A B Holstein y H Erdebersdobler. Bestimmung des Harnstoffgehaltes in der Milch Teststrifen (Reflotest urea) und refelktometrischer Auswertung (Reflomat), 768-773.

SPAIN J. (1996). Optimal body condition Score at Calving for production and Health. In: Advances in Dairy Technology- Focus on the Future Proceeding. Westem: Cadanadian Dairy Seminar, Red Deer. Alberta.

SPITZER J.C., M. D. (1995). Reproductive responses and calf birth and weanig weights as efect by body condition at parturition and postpartum weight gain in prmipours beef cows. J Anim. Sci, 1251-1257.

STYER . (1976). Bioquímica (1 ed.). Barcelona, España: Reveté.

TORTORA G.J., Y S. REYNOLDS GRABOWSKI. (1996). Principios de Anatomía y Fisiología. Madrid, España: Mosby/Doyma Libros S.A.

VALENZUELA L. (1994). Desbalances Metabólicos Nutricionales en Rebaños bovinos en pqueños productores de leche. Tesis. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Clinicas Veterinarias.

VASQUEZ F. (1987). Comparación de las concentraciones de urea mediante métodos de Bertholot - Ureasa y Replotest- ureaen mustras de sangre y leche en vacas. Tesis, M.V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias.

VIDAL J . (1984). Curso de Química Orgánica y Nociones de Química Biológica. (17 ed.). Buenos Aires, Argentina: Stella.

WATTIAUX M. (1996). Universidad de Wisconsi - Madison. Reproduccion y nutricion.

WETTEMANN R.P. (1994). Precalving nutrition/birth weight interaction and rebearding efficiency. Oklahoma State University (Ed)., Anim.Sci.Res.Report.

WITWER F., H. BÖHMWALD. (1987). Manual de Patología Clínica Veterinaria. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Vterinarias, Instituto de Ciencias Clinicas Veterinarias.

Anexo 1. Análisis de varianza completamente al azar de la Condición Corporal de las no suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	5,329	5	1,066	55,092	0,000
Error	0,696	36	0,019		
Total	6,025	41			

Anexo 2. Análisis de varianza completamente al azar de la Producción de las no suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	111,852	3	37,284	3,048	0,049
Error	281,333	23	12,232		
Total	393,185	26			

Anexo 3. Análisis de varianza completamente al azar de NEFAS de las no suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,924	5	0,185	5,217	0,001
Error	1,276	36	0,035		
Total	2,200	41			

Anexo 4. Análisis de varianza completamente al azar de BHB mmol /L de las no suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,348	5	0,070	1,861	0,126
Error	1,348	36	0,037		
Total	1,696	41			

Anexo 5. Análisis de varianza completamente al azar de UREA mmol/L de las no suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	16,402	5	3,280	2,866	0,028
Error	41,204	36	1,145		
Total	57,607	41			

Anexo 6. Análisis de varianza completamente al azar de Hemoglobina g/dl de las no suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	15,464	5	3,093	2,707	0,035
Error	41,126	36	1,142		
Total	56,590	41			

Anexo 7. Análisis de varianza completamente al azar de ALBUMINA g/l de las no suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	96,704	5	19,341	1,203	0,327
Error	578,740	36	16,076		
Total	675,444	41			

Anexo 8. Análisis de varianza completamente al azar de Proteína Total (g/L).de las no suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	525,016	5	105,003	4,370	0,003
Error	864,949	36	24,026		
Total	1389,965	41			

Anexo 9. Análisis de varianza completamente al azar de la Condición Corporal de las suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	7,119	5	1,424	66,630	0,000
Error	0,769	36	0,021		
Total	7,888	41			

Anexo 10. Análisis de varianza completamente al azar de la Producción de las suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	36,107	3	12,036	0,674	0,577
Error	428,857	24	17,869		
Total	464,964	27			

Anexo 11. Análisis de varianza completamente al azar de NEFAS de las suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	1,567	5	0,313	17,229	0,000
Error	0,655	36	0,018		
Total	2,222	41			

Anexo 12. Análisis de varianza completamente al azar de BHB mmol /L de las suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,384	5	0,077	1,782	0,141
Error	1,552	36	0,043		
Total	1,936	41			

Anexo 13. Análisis de varianza completamente al azar de UREA mmol/L las suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	9,497	5	1,899	1,737	0,151
Error	39,358	36	1,093		
Total	48,855	41			

Anexo 14. Hemoglobina g/dl de las suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	16,264	5	3,253	2,928	0,026
Error	40,000	36	1,111		
Total	56,264	41			

Anexo 15. Análisis de varianza completamente al azar de ALBUMINA g/l de las suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	51,736	5	10,347	1,182	0,337
Error	315,089	36	8,752		
Total	366,825	41			

Anexo 16. Análisis de varianza completamente al azar de Proteína Total (g/L) de las suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	769,046	5	153,809	3,051	0,021
Error	1814,797	36	50,411		
Total	2583,843	41			

Anexo 17. Análisis de varianza completamente al azar de Hemoglobina g/dl de las no suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	15,464	5	3,093	2,707	0,035
Error	41,126	36	1,142		
Total	56,590	41			

Anexo 18. Análisis de varianza completamente al azar de ALBUMINA g/l de las no suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	96,704	5	19,341	1,203	0,327
Error	578,740	36	16,076		
Total	675,444	41			

Anexo 19. Análisis de varianza completamente al azar de Proteína Total (g/L) de las no suplementadas entre periodos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	525,016	5	105,003	4,370	0,003
Error	864,949	36	24,026		
Total	1389,965	41			

Anexo 20. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) al inicio del experimento de la condición corporal.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,040	1	0,040	1,688	0,218
Error	0,286	12	0,024		
Total	0,326	13			

Anexo 21. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) al inicio del experimento del NEFAS.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,001	1	0,001	,132	0,722
Error	0,109	12	0,009		
Total	0,111	13			

Anexo 22. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) al inicio del experimento del BHB.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,001	1	0,001	,021	0,887
Error	0,330	12	0,027		
Total	0,330	13			

Anexo 23. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) al inicio del experimento de la Urea.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,617	1	0,617	,528	0,482
Error	14,041	12	1,170		
Total	14,659	13			

Anexo 24. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) al inicio del experimento de la Hemoglobina.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,560	1	0,560	2,551	0,136
Error	2,634	12	0,220		
Total	3,194	13			

Anexo 25. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) al inicio del experimento de la Albúmina.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	9,946	1	9,946	1,479	0,247
Error	80,689	12	6,724		
Total	90,634	13			

Anexo 26. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) al inicio del experimento de la Proteína Total.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	39,446	1	39,446	,585	0,459
Error	809,157	12	67,430		
Total	848,604	13			

Anexo 27. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 2 días del experimento de la condición corporal.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,286	1	0,286	8,000	0,015
Error	0,429	12	0,036		
Total	0,714	13			

Anexo 28. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,070	1	0,070	1,970	0,186
Error	0,427	12	0,036		
Total	0,497	13			

(suplementadas y no suplementadas) a los 2 días del experimento del NEFAS.

Anexo 29. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 2 días del experimento del BHB.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,002	1	0,002	0,059	0,812
Error	0,371	12	0,031		
Total	0,373	13			

Anexo 30. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 2 días del experimento de la Urea.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,613	1	0,613	0,534	0,479
Error	13,775	12	1,148		
Total	14,389	13			

Anexo 31. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 2 días del experimento de la Hemoglobina.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	1,646	1	1,646	1,532	0,239
Error	12,889	12	1,074		
Total	14,534	13			

Anexo 32. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 2 días del experimento de la Albúmina.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	2,083	1	2,083	0,111	0,744
Error	224,306	12	18,692		
Total	226,389	13			

Anexo 33. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 2 días del experimento de la Proteína Total.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	15,646	1	15,646	0,324	0,580
Error	579,311	12	48,276		
Total	594,957	13			

Anexo 34. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 15 días del experimento de la Producción.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	24,645	1	24,645	1,023	0,334
Error	265,048	11	24,095		
Total	289,692	12			

Anexo 35. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 15 días del experimento de la Condición Corporal.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,686	1	0,686	35,266	0,000
Error	0,234	12	0,019		
Total	,920	13			

Anexo 36. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 15 días del experimento del NEFAS.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,016	1	0,016	0,469	0,507
Error	0,421	12	0,035		
Total	0,438	13			

Anexo 37. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 15 días del experimento del BHB.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,106	1	0,106	3,777	0,076
Error	0,338	12	0,028		
Total	0,444	13			

Anexo 38. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 15 días del experimento de la Urea.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,835	1	0,835	0,691	,422
Error	14,504	12	1,209		
Total	15,339	13			

Anexo 39. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 15 días del experimento de la Hemoglobina.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	3,303	1	3,303	1,699	0,217
Error	23,334	12	1,945		
Total	26,637	13			

Anexo 40. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 15 días del experimento de la Albúmina.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	34,571	1	34,571	2,254	0,159
Error	184,083	12	15,340		
Total	218,654	13			

Anexo 41. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 15 días del experimento de la Proteína Total.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	55,203	1	55,203	1,734	0,212
Error	381,931	12	31,828		
Total	437,134	13			

Anexo 42. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 30 días del experimento de la condición corporal.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	,071	1	,071	5,333	,040
Error	,161	12	,013		
Total	,232	13			

Anexo 43. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 30 días del experimento de la Producción.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	18,286	1	18,286	1,169	0,301
Error	187,714	12	15,643		
Total	206,000	13			

Anexo 44. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 30 días del experimento del NEFAs.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,006	1	,006	0,120	0,735
Error	0,599	12	,050		
Total	0,605	13			

Anexo 45. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 30 días del experimento del BHB.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,001	1	0,001	0,022	0,884
Error	0,651	12	0,054		
Total	,653	13			

Anexo 46. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 30 días del experimento de la Urea.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	1,010	1	1,010	0,726	0,411
Error	16,683	12	1,390		
Total	17,693	13			

Anexo 47. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 30 días del experimento de la Hemoglobina.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	5,531	1	5,531	9,015	0,011
Error	7,363	12	0,614		
Total	12,894	13			

Anexo 48. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 30 días del experimento de la Albúmina.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	2,321	1	2,321	0,177	0,681
Error	157,063	12	13,089		
Total	159,384	13			

Anexo 49. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 30 días del experimento de la Proteína Total.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	24,978	1	24,978	1,242	0,287
Error	241,286	12	20,107		
Total	266,264	13			

Anexo 50. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 45 días del experimento de la condición corporal.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,040	1	0,040	3,375	0,091
Error	0,143	12	0,012		
Total	0,183	13			

Anexo 51. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 45 días del experimento de la Producción.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	92,571	1	92,571	7,160	0,020
Error	155,143	12	12,929		
Total	247,714	13			

Anexo 52. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 45 días del experimento del NEFAs.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,014	1	0,014	0,918	0,357
Error	0,181	12	0,015		
Total	0,195	13			

Anexo 53. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 45 días del experimento del BHB.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,368	1	0,368	10,145	0,008
Error	0,435	12	0,036		
Total	0,803	13			

Anexo 54. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 45 días del experimento de la Urea.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,226	1	0,226	0,411	0,533
Error	6,603	12	0,550		
Total	6,829	13			

Anexo 55. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 45 días del experimento de la Hemoglobina.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	3,401	1	3,401	1,441	0,253
Error	28,311	12	2,359		
Total	31,712	13			

Anexo 56. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 45 días del experimento de la Albúmina.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,103	1	0,103	0,007	0,934
Error	175,071	12	14,589		
Total	175,174	13			

Anexo 57. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 45 días del experimento de la Proteína Total.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	3,703	1	3,703	0,249	0,627
Error	178,411	12	14,868		
Total	182,114	13			

Anexo 58. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 60 días del experimento de la condición corporal.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,004	1	0,004	0,250	0,626
Error	0,214	12	0,018		
Total	,219	13			

Anexo 59. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 60 días del experimento de la Producción.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	257,143	1	257,143	30,168	0,000
Error	102,286	12	8,524		
Total	359,429	13			

Anexo 60. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 60 días del experimento del NEFAs.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,000	1	0,000	0,004	0,951
Error	0,193	12	0,016		
Total	0,193	13			

Anexo 61. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 60 días del experimento del BHB.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	0,003	1	0,003	0,044	0,837
Error	0,774	12	0,065		
Total	0,777	13			

Anexo 62. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 60 días del experimento de la Urea.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	1,086	1	1,086	0,872	0,369
Error	14,956	12	1,246		
Total	16,042	13			

Anexo 63. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 60 días del experimento de la Hemoglobina.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	8,178	1	8,178	14,882	0,002
Error	6,594	12	0,550		
Total	14,772	13			

Anexo 64. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 60 días del experimento de la Albúmina.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	5,915	1	5,915	0,977	0,342
Error	72,617	12	6,051		
Total	78,532	13			

Anexo 65. Análisis de Varianza completamente al azar entre grupos (suplementadas y no suplementadas) a los 60 días del experimento de la Proteína Total.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Entre Grupos	28,571	1	28,571	0,700	0,419
Error	489,649	12	40,804		
Total	518,220	13			

ANEXO 66.

TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DE UREA SÉRICA

UREA- S

Reactivo para la determinación enzimática de urea en suero, plasma y otros fluidos biológicos.

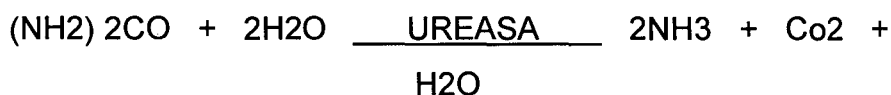
Para uso en el diagnóstico *in vitro*.

1. Significación clínica

La urea es el producto final mayoritario del metabolismo del nitrógeno proteico en los seres humanos. Constituye la fracción más abundante del nitrógeno no proteico. La urea se produce en el hígado y es excretada por la orina. Su elevación es producto de trastornos en la función renal o hepática, problemas dietéticos, diabetes y otros.

2. Fundamentos del método

La urea presente en la muestra es desdoblada a amonio por acción de la enzima ureasa, según la proposición de Fawcett y Scott.



El amonio producido reacciona con salicilato e hipoclorito en ambiente alcalino, formándose un complejo de color verde. La intensidad del color producido es directamente proporcional a la cantidad de urea presente en la muestra, y su absorbancia se lee a 600 nm. (580-620).

3. Reactivos

La Urea S de VALTEK® NO CONTIENE FENOL.

Conservados entre 2° y 8°C y protegidos de la luz, estables hasta la fecha de caducidad indicada en cada etiqueta.

1. Suspensión de ureasa

- Ureasa ≥50 U/ml
- Estabilizantes y preservantes no reactivos c.s.

2. Reactivo Salicilato

- Ácido salicílico 5mM
- Nitroprusiato 5mM

3. Reactivo hipoclorito

- Hipoclorito 10mM
- NaOH 200mM

4. Solución Estándar

- Urea 66 mg/100
 - Equivalente Nitrógeno Ureico 30 mg/100
 - Estabilizantes y preservantes no reactivos
-

4. Muestras

Suero, plasma u orina diluida 1:100. El plasma debe obtenerse utilizando anticoagulantes libres de amonio. No utilizar fluoruro pues inhibe la acción enzimática de la ureasa. La urea es estable en el suero por lo menos 24 horas a temperatura ambiente, varios días entre 2° y 8°C., más de seis meses a -20°C.

5. EQUIPO REQUERIDO

Espectrofotómetro o fotocolorímetro de filtros capaz de leer absorbancias a 600 nm (rango 580 a 620 nm), timer, pipetas y opcionalmente baño termorregulado a 37°C.

6. Técnica

La presentación para 250 determinaciones viene lista para usar. La presentación para 1000 determinaciones se entrega con el reactivo salicilato y el reactivo hipoclorito en forma concentrada. Para utilizar, diluir 25 ml de reactivo salicilato a 250 ml con agua destilada, proceder en igual forma con el reactivo hipoclorito. Conservar en frascos de vidrio color ambar en el refrigerador.

	Blanco	Estándar	Desconocido
Muestra	----	----	0.01 ml
Estándar	----	0.01 ml	----
Reactivo salicilato	1.00 ml	1.00 ml	1.00 ml
Ureasa	1/0.05 gotas/ml	1/0.05 gotas/ml	1/0.05 gotas/ml

Incubar 10 minutos a temperatura ambiente (sobre 20°C), ó 3 minutos a 37°C.

Agregar a cada tubo:

Reactivo hipoclorito	1.00 ml	1.00 ml	1.00 ml
-----------------------------	---------	---------	---------

Mezclar e incubar 10 minutos a temperatura ambiente (sobre 20°C), ó 5 minutos a 37°C. Leer las absorbancias dentro del plazo de una hora.

7. Cálculos

66

Factor = -----

Absorbancia Estándar

$\text{Urea (mg \%)} = \text{Factor} \times \text{Absorbancia desconocido}$

8. Observaciones

Para expresar los valores obtenidos como nitrógeno ureico (mg %), multiplicar el valor obtenido por 0.455.

La reacción es lineal hasta 300 mg % de urea. Para concentraciones mayores, diluir la muestra adecuadamente con agua destilada y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución correspondiente.

Los volúmenes de reacción pueden ser modificados proporcionalmente sin alteración en los resultados.

9. RANGOS DE REFERENCIA

Suero o plasma:

Urea	:	10 a 50 mg %
Nitrógeno ureico	:	4.5 a 22.7 mg %

Orina:

Urea	:	15 a 30 g/24 horas.
Nitrógeno ureico	:	7 a 14 g/24 horas.

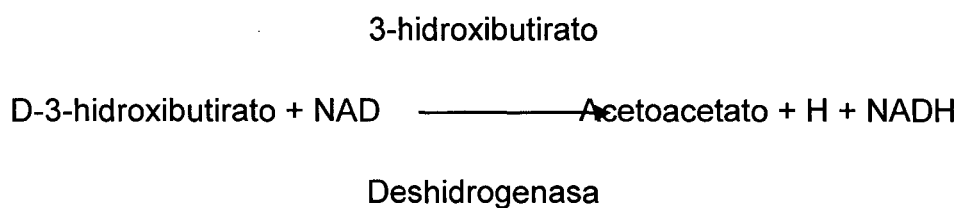
ANEXO 67.

TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DE BETA-HIDROXIBUTIRATO
D-3- Hidroxibutirato

1. MÉTODO UV

Este es un método cinético enzimático para medir el nivel de D-3-hidroxibutirato en suero o plasma. El método se basa en la oxidación de D-3-hidroxibutirato a acetoacetato por acción de la enzima 3-hidroxibutirato deshidrogenasa. Concomitante con esta oxidación el cofactor NAD se reduce a NADH y el cambio de absorbancia asociado está en relación directa con la concentración de D-3-hidroxibutirato.

2. Principio



3. Muestra

Suero, plasma heparinizado o EDTA plasma.

4. Reactivos

Componentes	Concentraciones iniciales de las soluciones
1. Tampón	
• Tampón tris	100 mmol/l, pH 8,5
• EDTA	
• Acido oxálico	2 mmol/l
	20 mmol/l
2. Enzima/ Coenzima	
• NAD	
• 3 – HBDH	2,5 mmol/l
• Patrón	0,12 U/ml
• D-3-Hidroxiacetato	
• Patrón	
• D-3- Hidroxiacetato	4 mmol/l
	1mmol/l

5. Preparación de las soluciones

5.1 Tampón

Listo para usar. Estable hasta la fecha de caducidad cuando se conserva entre -2 y +8°C.

5.2 Enzima/Coenzima

Cat. N° RB 1007 10 x10 ml

Reconstituir el contenido de un vial de enzima/ Coenzima 2 con 10 ml de Tampón 1. Estable durante 24 horas entre +15 y +25°C ó 7 Días entre +2 y +8°C.

Cat. N° RB 1008 10 x 50 ml

Reconstituir el contenido de un vial de Enzima/Coenzima 2 con una porción de tampón 1 y transferir el contenido a la botella 1 enjuagando varias veces la botella 2. Estable durante 24 horas entre +15 y +25°C ó 7 días entre +2 y +8°C.

Patrón (4 mmol/l)

Listo para usar. Estable hasta la fecha de caducidad cuando se conserva entre +2 y +8.

Patrón (1 mmol/l)

Listo para usar. Estable hasta la fecha de caducidad cuando se conserva entre +2 y +8.

6. Procedimiento:

• Longitud de onda	340 nm (Hg 334 nm ó Hg 365nm)
• Cubeta	1 cm de espesor
• Temperatura	37°C
• Medición	Frente a reactivo blanco

Pipetear en tubos de ensayo

	Macro		Semimicro	
	<i>Patrón o Muestra</i>	<i>Reactivo Blanco</i>	<i>Patrón o Muestra</i>	<i>Reactivo Blanco</i>
Patrón o Muestra	75µ	----	25µ	----
Agua destilada	----	75µ	----	25µ
Reactivo	3,00ml	3,00ml	1,00ml	1,00ml

Mezclar, incubar durante 30 seg a 37°C y medir la absorbancia. Leer de nuevo al cabo de 1, 2 y 3 min. Determinar la variación de absorbancia media por min. {AA} y utilizarla para los cálculos.

7. Cálculos

$$\text{concentración de D - 3 - Hidroxibutirato } \left(\frac{\text{mmol}}{\text{l}} \right) = \frac{A_{\text{muestra}}}{A_{\text{standar}}} \times \text{con. de Patrón}$$

8. Valores normales

Niveles en plasma (en ayunas) = 0,03 - 0,3 mmol/l.

9. Control de calidad

Para un control de exactitud y reproducibilidad: Multisueros normal y elevado ensayados.

Para un control de reproductibilidad: Multisueros bajo, normal y elevado.

10. Linealidad

El método es lineal entre concentraciones de 0,10 a 5,0 mmol/l. Las muestras con concentraciones superiores deberán diluirse 1:2 con agua destilada. El resultado deberá multiplicarse por 3.

11. Precauciones

Únicamente para diagnóstico in vitro. No pipetear con la boca. Respetar las precauciones normales necesarias, que se requieren al manejar reactivos de laboratorio.

La solución 1 contiene azida sódica. Evitar su ingestión o el contacto con la piel y mucosas. En caso de contacto con la piel, lavar inmediatamente el área afectada con agua abundante. En caso de ingestión o contacto con los ojos llamar inmediatamente a un médico.

La azida sódica reacciona con el cobre y plomo de las tuberías, lo que podría producir azidas explosivas.

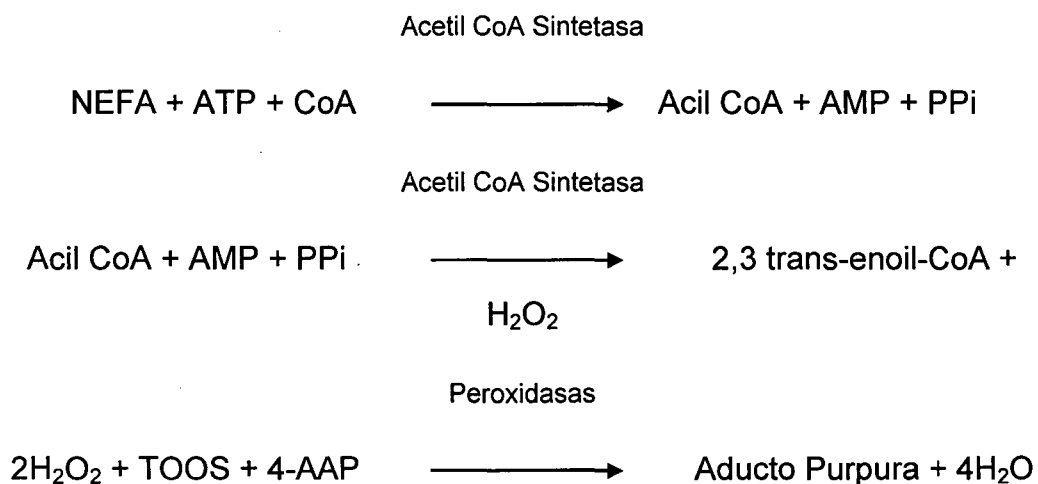
Cuando se tire este reactivo enjuagar abundantemente con agua para evitar la formación de estas azidas. Las superficies metálicas que hayan sido puestas en contacto con la azida sódica deben ser lavadas con hidróxido sódico al 10%.

ANEXO 68.

**TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS NO
ESTERIFICADOS
NEFAs**

1. MÉTODO COLORIMÉTRICO

1.- Principio



4-AAP = 4- Aminoantipirina

TOOS = N-etil-N-(2-hidroxi-3sulfopropil)-m-toluidina

2. Muestra

Suero, plasma

No usar plasma heparinizado, ya que la heparina interfiere en el análisis, los anticoagulantes adecuados son los siguientes:

EDTA, Citrato de Sodio, Fluoruro de Sodio, Oxalato de Amoniaco.

3. Reactivos

Componentes	Concentraciones iniciales de las soluciones
R1a Tampón	
Tampón fosfato	0,04 mol/l, pH 6,9
cloruro de magnesio	3 mmol/l
Surfactante	
R1b Enzima/ Coenzima	
Acil Coenzima A Sintetasa	≥0.3 U/ml
Escorbato Oxidasa	≥ 1,5 U/ml
Coenzima A	0,9 mmol/l
ATP	5,0 mmol/l
4- Aminoantipirina	1,5 mmol/l
R2a Diluyente del Enzima	
Fenoxietanol	0,3% (w/v)
Surfactante	
R2b Maleimida	10,6 mmol/l
R2c Enzima reactivo	
Acil Coenzima A Oxidasa	≥ 10 U/ml
Peroxidasa	7,5 U/ml
TOOS	1,2 mmol/l
CAL Patrón	vedi inserto lotto specifico

4. De las soluciones

R1a Tampón

Listo para su uso. Estable hasta la fecha de caducidad cuando se conserva entre +2 y +8°C.

R1b Enzima/ Coenzima

Reconstruir el contenido de un vial Enzima/ Coenzima R1b con 10 ml de tampón R1a. Estable durante 5 días entre +2 y +8°C. No congelar. Proteger de la luz.

R2a Diluyente del Enzima

Listo para su uso. Estable hasta la fecha de caducidad cuando se conserva entre +2 y +8°C.

R2b Maleimida

Reconstruir el contenido de una botella de Maleimida R2b con el contenido entero de una botella de diluyente del Enzima R2a. Asegúrese de que la maleimida está completamente disuelta. Usar inmediatamente para reconstruir la botella R2c.

R2c Reconstruir el contenido de un vial de Enzima R2a con una botella de solución R2b reconstituida. Estable durante 5 días entre +2 y +8°C. No congelar. Proteger de la luz.

CAL Patrón (1 mmol/l)

Listo para su uso. Estable hasta la fecha de caducidad cuando se conserva entre +2 y +8°C.

5. Procedimiento:

-
- | | |
|--------------------|--------------------------|
| • Longitud de onda | 550 nm |
| • Cubeta | 1 cm de espesor |
| • Temperatura | 37°C |
| • Medición | Frente a reactivo blanco |
-

Pipetear en la cubeta

	<i>Reactivo Blanco</i>	<i>Patrón</i>	<i>Muestra</i>	<i>*Muestra Blanco</i>
Agua destilada	50ul	----	----	----
Patrón	----	50ul	----	----
Muestra	----	----	50ul	----
Solución R2 muestra	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

Mezclar, incubar a 37°C durante 10 min. Leer la absorbancia de la muestra (A_{muestra}) y ($A_{\text{patrón}}$) frente a reactivo blanco.

*La muestra blanco solo se requiere en las muestras solo se requiere con niveles elevados de bilirrubina o hemoglobina (ver nota).

6. Cálculos

6.1 Utilizando la curva de calibración

La curva de calibración debe ser confirmada para cada lote de reactivos de la forma siguiente:

No. De tubo	1	2	3	4
Nombre	Blanco	Patrón Bajo	Patrón normal	Patrón elevado
NEFA patrón	----	25ul	50ul	100ul
Agua	50ul	25	----	----
Solución R1	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

Mezclar en incubar a 37°C durante 10 minutos

Solución R2	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Mezclar en incubar a 37°C durante 10 minutos				
Abs	0,000	(leer)	(leer)	(leer)
Nefa Conc. (mmol/l)	0,000	0,50	1,00	1,91

Representar absorbancias ($A_{550 \text{ nm}}$) frente a concentraciones de NEFA (mmol/l). Debe ser una línea recta, ya que sigue la ley de Beer y es lineal entre 0.0 y 2.0 (mmol/l).

6.2 Utilizando un patrón

La concentración de NEFA es una muestra que puede ser determinada por medio de la siguiente ecuación.

$$Mmol/l = \frac{A_{muestra}}{A_{patrón}} \times \text{concentración de patrón}$$

7. Control de calidad

Para un control de reproducibilidad. Multisuero bajo, normal y elevado.

8. Linealidad

El método es lineal hasta 2,0mmol/l para muestras con concentraciones superiores, diluir 1+3 con agua bidestilada y repetir la prueba. Multiplicar el resultado por 4.

9. Rango normal

En ayunas: 0.1 – 0.9 mmol/l

10. Notas

10.1 Las muestras visiblemente lipemicas requieren una muestra blanco.

10.2 Las muestras con Hemoglobina o Bilirrubina superiores a los que indican a continuación requieren una muestra blanco

	Nivel máximo permitido para pruebas de exactitud	Efecto sobre el resultado
Bilirrubina	10 mg/dl	Disminuido
Hemoglobina	100 mg/dl	aumentado

Las muestras requieren una muestra blanco ($A_{\text{muestra blanco}}$). La concentración de NEFA se clacula de la siguiente manera.

$$\text{Mmol/l} = \frac{A_{\text{muestra}} - A_{\text{muestra blanco}}}{A_{\text{patrón}}} \times \text{concentracion de patrón}$$

1. La muestra que se va a analizar no debe heparinizarse, ya esto estimularía la actividad de la lipoprotein-lipasa, provocando la liberación de NEFA de los triglicéridos asociados a las lipoproteínas sanguíneas. En consecuencia la sangre extraída de pacientes que están recibiendo tratamiento terapéutico con heparina, o sangre recogida en envases con heparina no es adecuada para la prueba.
2. Debido a la incorporación del ascorbato oxidasa en el Reactivo Enzima 4, niveles de ácido ascórbico superiores a

20mg/dl (es decir > 10 veces el valor normal) no interfieren en la prueba.

3. Las determinaciones de NEFA deben llevarse a cabo con suero obtenido de individuos en ayunas, de lo contrario los resultados no pueden ser directamente comparados con los rangos normales de controles en ayunas.
4. Si la muestra de suero permanece a temperatura ambiente durante un tiempo considerable, el nivel de NEFAS aumenta debido a la acción enzimática. Por tanto si el análisis no es inmediato, las muestras de suero pueden congelarse a -20°C durante un máximo de 24 horas.
- 5.
6. Si $A_{\text{patron}} - A_{\text{reactivo blanco}} < 0.180$ repetir la prueba con reactivo fresco.

11. Referencias:

- **Manual – NEFA- ácidos grasos no esterificados. Laboratios Randox**

ANEXO 69.

TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA TOTAL POR EL MÉTODO DE BIURET

1. Fundamento del método

Los enlaces peptídicos de las proteínas reaccionan con el ión cúprico, en medio alcalino, para dar un complejo color violeta con máximo de absorción a 540nm, cuya intensidad es proporcional a la concentración de proteínas totales en la muestra.

2. Composición. Reactivos provistos

Reactivo. Complejo EDTA/CU 13mmol/l, hidróxido sódico 875 mol/l y alquil aril polieter (AAP).

Patrón Proteína. Solución de albuminas y globilinas en estado nativo con título conocido de proteínas (Biuret o Kjeldhal) y albumina (unión BCF).

3. Instrucciones para su uso

Reactivos provistos: listos para su uso

4. Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:

Reactivos Provistos: son estables a temperatura ambiente hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Suero o patrón: es estable a temperatura ambiente (no mayor a 25°C) hasta la fecha indicada en la caja.

Una vez abierto debe conservarse en refrigerador.

5. Indicios de inestabilidad o deterioro de los reactivos

Variaciones en el pH de los reactivos pueden ocasionar su deterioro. Por este motivo se recomienda no intercambiar las tapas de los frascos

Cualquier variación en los caracteres organolépticos del suero patrón puede ser índice del deterioro del mismo.

6. Muestras:

Recolección: debe obtenerse suero libre de hemolisis. .

Aditivos: no se requieren.

Sustancias interferentes conocidas. En la determinación de proteínas totales no se observa interferencia por bilirrubina hasta 100mg/l, ni hemolisis ligera y en ningún caso se presenta turbiedad por quilomicrones.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: si no se procesa inmediatamente el suero puede conservarse hasta 3 días en refrigerador (2 a 10°C)

7. Procedimiento:

7.1 pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco	Patrón	Muestra
Agua destilada	50ul	----	----
Patrón Proteína	----	50ul	----
Muestra	----	----	50ul
Reactivo	3,5 ml	3,5 ml	3,5 ml

Mezclar con la varilla. Incubar durante 15 minutos a 37°C

Leer en el espectrofotómetro a 540nm o en fotocolorimétrico con filtro verde 520 a 560 nm llevando a cero con el blanco de reactivo.

8. Cálculos:

$$\frac{g}{dl} = D * f$$
$$f = \frac{P.T.g/dl}{S}$$

9. Método de control de calidad

Standartrol SN y SE

10. Características del método:

Linealidad: 12 g/dl

Límite de detección: depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. De acuerdo con la sensibilidad requerida para un absor.A mínimo de 0,001, el menor cambio de concentración detectable será de 0,02g/dl para proteínas totales.

11. Notas.

Este reactivo puede utilizarse en la mayoría de analizadores automáticos.

12. Bibliografía

- a. Doumas, B.T.; Watson, W.A. & Biggs, H.G. Clin. Chi Acta 31/1:87 (1971).
- b. Rodkey, F.L. Arch. Biochem and Elophys. 108:5 (1964).
- c. Gasbarro, L.; Bandinelli R & Tomassini, G. Clin. Chile. Acta 36:255 (1972).
- d. Strickland, R.D.; Freeman, M.L. & Gurule E.T. Alm Chem. 33:545 (1965).
- e. Peters, T.Jr. Clin. Chem 14:147 (1966).