



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

---

---

UNIDAD XOCHIMILCO  
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

**RESPUESTA METABÓLICA CAUSADA POR LA PRODUCCIÓN  
DE GRASA Y PROTEÍNA DE LECHE EN BOVINOS  
MEXICANOS: MODELOS DE SIMPLIFICACIÓN BIOLÓGICA**

**T E S I S**

Que para obtener el grado de  
**DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

PRESENTA  
**ARTURO CÉSAR GARCÍA CASILLAS**

**COMITÉ TUTORAL**

Director:

**Dra. María Guadalupe Prado Flores**

Co-Director:

**Dr. Fernando Borderas Tordesillas**

Asesor:

**Dr. Octavio Alonso Castelán Ortega**

Ciudad de México, enero del 2017



**RESPUESTA METABÓLICA CAUSADA POR LA PRODUCCIÓN DE GRASA Y PROTEÍNA  
DE LECHE EN BOVINOS MEXICANOS: MODELOS DE SIMPLIFICACIÓN BIOLÓGICA**

La presente tesis fue realizada bajo la supervisión del comité tutorial indicado a continuación y aprobada como requisito en el plan de estudios para obtener el grado de:

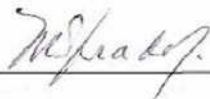
**DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

COMITÉ TUTORAL

DIRECTOR

Dra. María Guadalupe Prado Flores

[gprado@correo.xoc.uam.mx](mailto:gprado@correo.xoc.uam.mx)



---

CO-DIRECTOR

Dr. Fernando Borderas Tordesillas

[fbras@correo.xoc.uam.mx](mailto:fbras@correo.xoc.uam.mx)

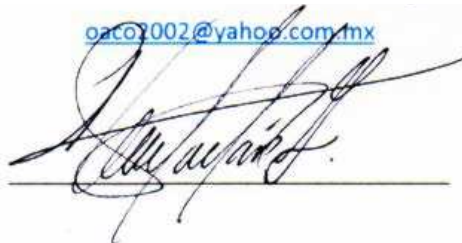


---

ASESOR

Dr. Octavio Alonso Castelán Ortega

[oaco2002@yahoo.com.mx](mailto:oaco2002@yahoo.com.mx)



---

Este trabajo fue realizado en establos lecheros del Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca Hidalgo.

Laboratorio de Análisis Clínicos del Departamento de Producción Agrícola y Animal, de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

Laboratorio de Análisis Lácteos del Departamento de Producción Agrícola y Animal, de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

“El programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT y cuenta con el apoyo del mismo consejo.

Durante el trabajo realizado en el programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias de la UAM-Xochimilco recibí una beca otorgada por el CONACYT, con número de becario/CVU 373192/367126, durante el período 2013-2016.

El financiamiento de esta tesis fue otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con el número de beca 373192 y por la Red Temática de Colaboración Académica: Producción, Calidad, e Inocuidad de la Leche de Vaca. Programa para el Desarrollo Profesional Docente, para el Tipo Superior (PRODEP).

## TRABAJOS GENERADOS DE ESTA TESIS

### Artículos en revistas indizadas

1. **García, C. A. C.**, F. M. G. Prado., L. L. Galicia, y T. F. Borderas. 2016. *Reference values for biochemical analytes in Mexican dairy farms: interactions and adjustments between production groups*. ISSN: 0.102-0.935. Arq Bras Med Vet Zootec, *In Press*. Revistas Indizadas, *Journal Citation Report*.
2. **García, C. A. C.**, R. L. A. Montiel, y T. F. Borderas. 2014. Grasa y proteína de la leche de vaca: componentes, síntesis y modificación. ISSN: 0004-0592. Arch Zootec 63(1):85-105. Revistas Indizadas, *Thomson Reuters. Web of Science*.
3. **García, C. A. C.** y R. L. A. Montiel. 2012. Integración bioquímica para modelar las respuestas metabólicas dentro de la producción láctea de bovinos lecheros. ISSN: 1665-1189. Rev Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente 12(24):189-206. Revistas Indizadas, *Latindex*.

### Trabajos en congresos

1. Grisel, L. G. A., F. M. G. Prado., L. L. Galicia, y **C. A. C. García**. 2016. Concentración de colesterol y lipoproteínas de alta y baja densidad y su relación con la grasa de leche. En 5 Congreso y 1 Feria Técnico Científica del Departamento de Producción Agrícola y Animal. Ciudad de México, México.
2. Valdivia M. L. S., F. M. G. Prado., L. L. Galicia, y **C. A. C. García**. 2016. Concentración de sodio, potasio, cloruro, bicarbonato y su relación con el déficit aniónico en vacas Holstein. En 5 Congreso y 1 Feria Técnico Científica del Departamento de Producción Agrícola y Animal. Ciudad de México, México.
3. **García, C. A. C.**, F. M. G. Prado., L. L. Galicia, y T. F. Borderas. 2016. Concentraciones sanguíneas de colesterol,  $\beta$ -hidroxibutirato, urea y su relación con la grasa y proteína de leche de vaca. En Congreso Veterinario. León, Guanajuato.
4. **García, C. A. C.**, F. M. G. Prado., L. L. Galicia, y T. F. Borderas. 2016. Relación entre el perfil metabólico y el contenido de grasa y proteína de leche en vacas Holstein. En XL Congreso Nacional e Internacional de Buiatría. Zacatecas, Zacatecas.

5. **García, C. A. C.**, T. F. Borderas., L. L. Galicia, y R. L. A. Montiel. 2015. Valores de referencia para analitos bioquímicos en establos lecheros mexicanos: interacciones entre grupos de producción. En XXXIX Congreso Nacional e Internacional de Buiatría. Puebla, Puebla.
6. **García, C. A. C.** y R. L. A. Montiel. 2014. Relación grasa: proteína de leche y  $\beta$ -hidroxibutirato sanguíneo. Un vínculo útil durante la lactancia temprana. En 8° Seminario Internacional en Reproducción Animal y Producción de Leche y Carne. Ciudad de México, México.
7. **García, C. A. C.** y R. L. A. Montiel. 2014. La cetosis y su influencia negativa sobre la producción de leche. En XXXVIII Congreso Nacional de Buiatría. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos. Villahermosa, Tabasco.
8. **García, C. A. C.**, R. L. A. Montiel, y V. Girard. 2013. Modelo discriminante para predecir cetosis subclínica a nivel hato a través de la relación grasa: proteína de la leche. En XXXVII Congreso Nacional de Buiatría. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos. Acapulco, Guerrero.

#### **Dirección de tesis de Licenciatura**

1. Concentración de sodio, potasio, cloruro, y bicarbonato en vacas Holstein de lactancia temprana y su relación con el déficit aniónico sanguíneo. Universidad Autónoma Metropolitana, Licenciatura de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Estudiante: Lorena Samantha Valdivia Magaña. Matrícula: 210233851.
2. Concentración de colesterol y lipoproteínas de alta y baja densidad en establos lecheros tecnificados y su relación con la grasa de leche. Universidad Autónoma Metropolitana, Licenciatura de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Estudiante: Ana Grisel Lara García. Matrícula: 210234483.
3. Concentración de glucosa, urea, y proteína total-sérica en establos lecheros tecnificados y su relación con la proteína de leche. Universidad Autónoma Metropolitana, Licenciatura de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Estudiante: Erika Arias Islas. Matrícula: 207234660.
4. Concentración de  $\beta$ -hidroxibutirato, triacilgliceroles y colesterol en establos lecheros tecnificados y su relación con la grasa de leche. Universidad Autónoma Metropolitana, Licenciatura de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Estudiante: Loan Pazcual García Casiano. Matrícula: 210230489.

## AGRADECIMIENTOS

Durante estos años son muchas las personas que han participado en este proyecto de investigación y a quienes quiero expresar mi gratitud por la confianza que me han otorgado.

Un sincero agradecimiento a la Dra. María Guadalupe Prado Flores por su siempre desinteresada colaboración y participación, aportándome su claridad conceptual y sus atinadas sugerencias y/o correcciones, logrando contagiarme su pasión por la bioquímica.

Me complace agradecer al Dr. Fernando Borderas Tordesillas por haber confiado en mi persona, por haberme proporcionado una amistad desde que lo conocí hasta la fecha y por sus conocimientos estadísticos que llevo conmigo.

Mi reconocimiento al Dr. Octavio Alonso Castelán Ortega porque cuando necesité una mano, me dio dos, orientándome por el camino del conocimiento.

Mi gratitud al Dr. Luis Arturo García Hernández quien como Coordinador del Doctorado en Ciencias Agropecuarias siempre me impulsó con su ejemplo a buscar nuevos retos y desafíos personales y académicos.

Agradezco a mi esposa la Psic. Claudia Tirado Torres mi compañera y confidente, todo esto nunca hubiera sido posible sin su amparo incondicional.

No puedo olvidar agradecer a mi madre la Sra. Alma Patricia Casillas Vargas que me acompañó en esta aventura que significó el Doctorado y que, de forma incondicional entendió mis ausencias y mis malos momentos.

Dr. Lisandro Atilio Montiel Ramos<sup>†</sup>, su fallecimiento cambió mi vida, pero mucho más lo hizo el imborrable recuerdo del tiempo que pasamos trabajando juntos. Descansa en paz amigo mío...

Gracias a todos



¿Cuántos caminos debe un hombre caminar,  
antes de que lo llamen hombre?  
¿Cuántos mares debe surcar una paloma blanca,  
antes de que duerma en la arena?  
¿Cuántas veces deben volar las balas de cañón,  
antes de que las prohíban por siempre?

¿Cuántos años puede existir una montaña,  
antes de que sea bañada por el mar?  
¿Cuántos años pueden existir algunas personas,  
antes de que se les permita ser libres?  
¿Cuántas veces puede un hombre voltear la cara,  
y pretender que simplemente no ve?

¿Cuántas veces debe voltear un hombre hacia arriba,  
antes de que pueda ver el cielo?  
¿Cuántos oídos debe tener un hombre,  
antes de que pueda escuchar a la gente llorar?  
¿Cuántas muertes tomará hasta que él sepa,  
que demasiada gente ha muerto?

La respuesta, amigo mío, está flotando en el viento.

Bob Dylan. 1963. *Blowing in the wind*.

## Resumen

El objetivo de este estudio fue establecer valores de referencia para diferentes analitos bioquímicos en: 1) vacas de alto rendimiento [ $42 \pm 15$  d postparto; producción de leche (media  $\pm$  DE):  $34.96 \pm 1.69$  kg/d], 2) vacas de bajo rendimiento [ $91 \pm 17$  d postparto; producción de leche (media  $\pm$  DE):  $16.14 \pm 1.12$  kg/d], y 3) vacas secas ( $21 \pm 5$  d antes del parto; final de la gestación y sin producción de leche). Y cuantificar las correlaciones entre grasa de leche, proteína de leche, relación grasa: proteína y las concentraciones de los analitos, en granjas lecheras Mexicanas. Se calcularon los valores medios para: 1) Perfil energético: glucosa, colesterol, triacilgliceroles,  $\beta$ -hidroxibutirato, ácidos grasos no esterificados, 2) Perfil proteico: urea, albúmina, globulina y proteína-total, 3) Perfil mineral: ion calcio, fosfato inorgánico, ion sodio, ion potasio, ion magnesio, ion cloruro, dióxido de carbono, bicarbonato y déficit aniónico y 4) Enzima:  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa.

Las concentraciones de los analitos antes descritos, son consistentes con los valores reportados por la literatura internacional. Sin embargo, se encontraron valores bajos para urea, ion calcio e ion sodio; y valores altos para colesterol, y  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa. Correlaciones negativas entre  $\beta$ -hidroxibutirato con glucosa y urea, entre  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa con urea, y entre bicarbonato con urea, fosfato inorgánico y déficit aniónico fueron identificadas. Correlaciones positivas entre  $\beta$ -hidroxibutirato con colesterol y déficit aniónico, entre ácidos grasos no esterificados con déficit aniónico, entre colesterol con globulina, entre diferentes iones con déficit aniónico, entre urea con glucosa y entre ion sodio e ion calcio fueron cuantificadas. Se observaron diferencias entre los tres grupos de producción, con respecto a las concentraciones de  $\beta$ -hidroxibutirato y colesterol. La concentración de  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa fue similar en vacas de alto y bajo rendimiento, pero fue mayor en comparación con las vacas secas. El ion calcio mostró diferencias entre las vacas de alto rendimiento y los otros dos grupos, y el ion sodio mostró la mayor concentración en las vacas secas. La grasa de leche se correlacionó positivamente con colesterol y  $\beta$ -hidroxibutirato en las vacas de alto rendimiento. La proteína de leche se correlacionó positivamente con glucosa, urea, proteína-total, fosfato inorgánico, ion sodio e ion cloruro en las vacas de alto rendimiento. Una dependencia prácticamente lineal también se encontró entre grasa de leche con colesterol y triacilgliceroles, entre proteína de leche con urea, y entre relación grasa: proteína con colesterol y triacilgliceroles en las vacas de bajo rendimiento. Se identificó el punto de mayor influencia sobre la grasa de leche, a los 7 y 45 d posparto para colesterol, a los 45 y 60 d posparto para triacilgliceroles y a los 30 d posparto para  $\beta$ -hidroxibutirato. Se cuantificó el punto de mayor influencia sobre la proteína de leche, a los 45 y 60 d posparto para urea.

Los intervalos de confianza calculados se podrían utilizar a nivel hato para detectar situaciones de alerta cuando al menos el 5 % de las vacas en la muestra se sitúen fuera del intervalo de referencia. Además, pueden ser el punto de partida para elaborar propuestas técnicas que ayuden a refinar la competitividad de la lechería mexicana y efectuar comparaciones entre diferentes zonas agroecológicas, niveles de tecnificación y con otros países. Los hallazgos en las correlaciones, proporcionan una visión de los mecanismos fisiológicos subyacentes a la lactancia y la identificación de los vínculos entre analitos clave y rasgos de la leche, tales como la proteína y el contenido de grasa. Una comprensión más detallada acerca de las relaciones entre la grasa de leche con lipoproteínas de muy baja densidad y lipoproteínas de alta densidad sería benéfico para nuestra comprensión de la fisiología de la lactancia y potencialmente para el desarrollo de biomarcadores para la salud y rasgos comercialmente relevantes en el ganado lechero.

***Palabras clave:*** *Química sanguínea, Perfil metabólico, Grasa y proteína de leche, Vaca lechera.*

## Abstract

The aim of this study was to establishing reference values for different biochemical analytes in: 1) high-yielding cows [42 ± 15 d postpartum; milk production (Mean ± SD): 34.96 ± 1.69 kg/d], 2) low-yielding cows [91 ± 17 d postpartum; milk production (Mean ± SD): 16.14 ± 1.12 kg/d], and 3) dry cows (21 ± 5 d prepartum; end of pregnancy and not producing milk). And quantify the correlations between milk fat, milk protein, fat: protein ratio, and analytes concentrations, in Mexican dairy farms. Mean values were calculated for: 1) Energy profile: glucose, cholesterol, triglycerides, β-hydroxybutyrate, and non-esterified fatty acids, 2) Protein profile: urea, albumin, globulin, and total protein, 3) Mineral profile: calcium ion, inorganic phosphate, sodium ion, potassium ion, magnesium ion, chlorine ion, carbon dioxide, bicarbonate, and anion gap, and 4) Enzyme: γ-glutamyl transpeptidase.

The concentrations of the described analytes, are consistent with values reported by international literature. However, lower values were found for urea, calcium ion, and sodium ion; higher values were found for cholesterol, and γ-glutamyl transpeptidase. Negative correlations were found between β-hydroxybutyrate and glucose or urea, γ-glutamyl transpeptidase and urea, and bicarbonate and urea or inorganic phosphate or anion gap. Positive correlations were found between β-hydroxybutyrate and cholesterol or anion gap, non-esterified fatty acids and anion gap, cholesterol and globulin, different analytes of mineral profile and anion gap or urea or glucose, and between sodium ion and calcium ion. Differences among the three production groups were observed for β-hydroxybutyrate and cholesterol concentrations. The γ-glutamyl transpeptidase concentration was similar in high and low-yielding cows but was higher in comparison to serum levels of dry cows. Calcium ion showed differences between high-yielding cows and the other two groups, and sodium ion showed the highest concentration in dry cows. Milk fat was positively correlated with cholesterol and β-hydroxybutyrate at the high-yielding cows. Milk protein was positively correlated with glucose, urea, total protein, inorganic phosphate, sodium ion and chlorine ion at the high-yielding cows. A virtually linear dependence has also been found between milk fat and cholesterol, between milk protein and urea, and between fat: protein ratio and cholesterol in low-yielding cows. The point of greatest effect on milk fat was identified to 7 and 45 d postpartum for cholesterol, 45 and 60 d postpartum for triglycerides, and 30 d postpartum for β-hydroxybutyrate. The point of greatest effect on milk protein was identified to 45 and 60 d postpartum for urea.

The calculated confidence intervals could be used at herd level to detect alert situations when at least 5 % of the sampled cows would fall outside of the reference range. Additionally, they can be the starting point for developing technical proposals that help to refine the competitiveness of Mexican dairy and to make comparisons between different agroecological zones, levels of technology and with other countries. The findings of the study provide insights into the physiological mechanisms underlying lactation and identification of links between key metabolites and milk traits such as the protein and fat content of milk. A more detailed understanding of the relationships between milk fat with very low density lipoprotein and high density lipoprotein would be of potential benefit to our understanding of the physiology of lactation, and potentially for development of biomarkers for health and commercially relevant traits in dairy cattle.

***Keywords:*** *Blood chemistry, Metabolic profile, Fat and protein milk, Dairy cow.*

<b>ÍNDICE DE CONTENIDO</b>	<b>PÁGS.</b>
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REFERENCIA DE SIGLAS Y ABREVIATURAS.....	3
III. ANTECEDENTES.....	6
IV. MARCO DE REFERENCIA.....	9
IV. 1. Producción internacional de leche y productos lácteos.....	9
IV. 2. Producción nacional de leche y productos lácteos.....	12
IV. 3. Comercio nacional de leche y productos lácteos.....	16
V. MARCO TEÓRICO.....	20
V. 1. Componentes lipídicos en la leche.....	20
V. 2. Síntesis de la grasa láctea.....	23
V. 3. Componentes proteicos en la leche.....	28
V. 4. Síntesis de la proteína láctea.....	32
V. 5. Perfiles metabólicos en el ganado lechero.....	36
VI. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	40
VII. JUSTIFICACIÓN METODOLÓGICA.....	41
VIII. OBJETIVOS.....	43
VIII.1. General.....	43
VIII. 2. Particulares.....	43
IX. HIPÓTESIS O PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	44
X. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	45
XI. VALORES DE REFERENCIA PARA DIFERENTES ANALITOS BIOQUÍMICOS, EN ESTABLOS TECNIFICADOS DEL COMPLEJO AGROPECUARIO INDUSTRIAL DE TIZAYUCA HIDALGO.....	49
XI. 1. Muestreo sanguíneo I y determinación de los perfiles metabólicos.....	49
XI. 2. Análisis estadístico.....	53
XI. 3. Resultados.....	53
XI. 4. Discusión.....	57
XI. 5. Conclusiones y recomendaciones.....	63

XII. AJUSTES EN LA CONCENTRACIÓN DE DIFERENTES ANALITOS BIOQUÍMICOS, COMO RESPUESTA A LA PRODUCCIÓN DE GRASA Y PROTEÍNA DE LECHE .....	64
XII. 1. Colecta de leche I y análisis de grasa y proteína láctea.....	64
XII. 2. Muestreo sanguíneo II y determinación de los perfiles metabólicos.....	69
XII. 3. Análisis estadístico.....	69
XII. 4. Resultados.....	71
XII. 5. Discusión.....	72
XII. 6. Conclusiones y recomendaciones.....	80
XIII. COMPARACIÓN DE ANALITOS BIOQUÍMICOS CORRELACIONADOS CON LA PRODUCCIÓN DE GRASA Y PROTEÍNA DE LECHE A TRAVÉS DEL TIEMPO.....	81
XIII.1. Colecta de leche II y análisis de grasa y proteína láctea.....	81
XIII. 2. Muestreo sanguíneo III y determinación de los perfiles metabólicos.....	81
XIII. 3. Análisis estadístico.....	82
XIII. 4. Resultados.....	83
XIII. 5. Discusión.....	84
XIII. 6. Conclusiones y recomendaciones.....	89
XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	90
XV. APÉNDICE.....	109
Anexo 1. Paquete NIR para concentrado alta producción y baja producción.....	109
Anexo 2. Reactivos y métodos analíticos para la determinación de analitos bioquímicos.....	112
Anexo 3. Procedimiento SAS para estadística descriptiva, análisis de varianza y modelos de regresión lineal simple y múltiple de diferentes analitos bioquímicos.....	130

## ÍNDICE DE CUADROS

## PÁGS.

Cuadro 1. Producción internacional de leche por especie año 2011, millones de toneladas de equivalente de leche.....	9
Cuadro 2. Mercado internacional de producción de leche período 2011-2013, millones de toneladas de equivalente de leche.....	10
Cuadro 3. Precios internacionales para los principales productos lácteos período 2010-2013, dólares/tonelada.....	12
Cuadro 4. Regiones agroecológicas-ganaderas de la producción de leche de vaca en México.....	15
Cuadro 5. Principales importaciones lácteas período 2011-2014, toneladas.....	17
Cuadro 6. Precios y estímulos económicos por litro de leche fluida en México, pesos/litro.....	18
Cuadro 7. Principales ácidos grasos en la leche de vaca, porcentaje aproximado.....	22
Cuadro 8. Principales proteínas presentes en la leche de vaca, gramos/litro y porcentaje.....	29
Cuadro 9. Analitos bioquímicos, unidades, métodos y reactivos comerciales correspondientes....	51
Cuadro 10. Media ( $\bar{x}$ ), desviación estándar (DE), valor de referencia, intervalo de confianza (IC) y percentiles ( $P_{10}$ - $P_{90}$ ) y ( $P_{25}$ - $P_{75}$ ) para diferentes analitos bioquímicos, $n = 189$ vacas Holstein.....	54
Cuadro 11. Coeficientes de correlación de Pearson para diferentes analitos bioquímicos, $n = 189$ vacas Holstein.....	55
Cuadro 12. Comparación de diferentes analitos bioquímicos por grupo de producción, $n = 63$ vacas Holstein/grupo.....	56
Cuadro 13. Producción de leche/composición y sus correlaciones con los analitos bioquímicos, $n = 63$ vacas Holstein/grupo.....	71



## ÍNDICE DE FIGURAS

## PÁGS.

Figura 1. Correlación entre el $\beta$ -hidroxibutirato sanguíneo y la relación grasa: proteína de leche, $n = 59$ establos .....	8
Figura 2. Producción internacional de principales productos lácteos período 2010-2011, millones de toneladas .....	11
Figura 3. Estadísticas de la producción de leche de vaca en México período 2005-2015, millones de litros .....	13
Figura 4. Estimación de la oferta y consumo de leche de vaca en México período 2012-2018, millones de litros .....	13
Figura 5. Producción de leche de vaca por estado año 2011, porcentaje .....	14
Figura 6. Producción, importación y consumo de leche en México año 2014, millones de litros y toneladas .....	16
Figura 7. Precio al productor de leche fluida en México y en Estados Unidos período 2003-2013, pesos/litro .....	19
Figura 8. Sistema tricarboxilato mitocondrial y síntesis de ácidos grasos .....	24
Figura 9. Metabolismo de los ácidos grasos en la vaca lechera .....	26
Figura 10. Secreción apócrina del glóbulo graso en el lactocito .....	27
Figura 11. Metabolismo del nitrógeno en la vaca lechera .....	33
Figura 12. Transcripción y traducción proteica en el lactocito .....	34
Figura 13. Ajustes en el metabolismo energético-proteico, hepático y mineral-electrolítico .....	42
Figura 14. Cronograma de actividades .....	45
Figura 15. Punción en la vena coccígea utilizando tubos al vacío de 8.5 mL con activador de coagulación y gel separador .....	50
Figura 16. Centrifugación a 1 500 x g durante 10 min .....	50
Figura 17. Transporte de los sueros a 4 °C .....	50
Figura 18. Región ultravioleta cercana y luz visible del espectro electromagnético cubierta por el espectrofotómetro de doble haz UV-Vis ES-218 .....	52

Figura 19. Comparación de colesterol, $\beta$ -hidroxibutirato y calcio entre diferentes grupos de producción, $n = 63$ vacas Holstein/grupo.....	57
Figura 20. Concentración de $\gamma$ -glutamyl transpeptidasa entre diferentes grupos de producción, $n = 63$ vacas Holstein/grupo.....	57
Figura 21. Comparación de colesterol entre establos, $n = 21$ vacas Holstein/establo.....	60
Figura 22. Participación del colesterol en la esteroidogénesis ovárica: fases folicular y lútea.....	61
Figura 23. Mecanismo de intercambio entre $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ .....	63
Figura 24. Colecta y transporte de leche utilizando frascos de 100 mL con tapa.....	64
Figura 25. Muestras de leche a 37 °C en baño María.....	65
Figura 26. Determinación de grasa y proteína láctea mediante MilkoScan 133B.....	65
Figura 27. Región infrarroja del espectro electromagnético cubierta por MilkoScan 133B.....	66
Figura 28. Principio óptico del espectrofotómetro infrarrojo contenido en el MilkoScan 133B.....	67
Figura 29. Filtros del MilkoScan 133B para determinar grasa de leche.....	68
Figura 30. Filtro del MilkoScan 133B para determinar proteína de leche.....	68
Figura 31. Correlación entre grasa de leche y $\beta$ -hidroxibutirato, $n = 63$ vacas de alta producción.....	73
Figura 32. Correlación entre grasa de leche y triacilglicerol, $n = 63$ vacas de alta producción.....	74
Figura 33. Correlación entre grasa de leche y colesterol, $n = 63$ vacas de alta producción.....	74
Figura 34. Resumen de la síntesis de colesterol.....	75
Figura 35. Correlación entre proteína de leche y urea, $n = 63$ vacas de alta producción.....	78
Figura 36. Ciclo de la urea.....	79
Figura 37. Comparación de colesterol y su correlación con la grasa a través del tiempo, $n = 50$ vacas Holstein.....	84
Figura 38. Comparación de triacilglicerol y su correlación con la grasa a través del tiempo, $n = 50$ vacas Holstein.....	86
Figura 39. Comparación de $\beta$ -hidroxibutirato y su correlación con la grasa a través del tiempo, $n = 50$ vacas Holstein.....	87
Figura 40. Comparación de urea y su correlación con la proteína a través del tiempo, $n = 50$ vacas Holstein.....	88

## I. INTRODUCCIÓN

La leche de vaca sigue siendo un componente importante de la alimentación humana (Bauman *et al.*, 2006). Su relevancia nutricional radica fundamentalmente en dos componentes: 1) la fracción lipídica, formada principalmente por ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados (Harvatine *et al.*, 2009) y 2) la fracción proteica, donde se distinguen las caseínas, las proteínas del lactosuero y las proteínas de la membrana del glóbulo graso (Swaisgood, 2003).

Las actuales tendencias en producción y consumo de leche, favorecen la concentración lipídica y proteica sobre la cantidad de L o kg de leche producidos (Manterola, 2011), atendiendo los hábitos alimenticios de una creciente población urbana, con un consumo *per capita* de 235.2 kg/año (Vidal, 2013). En el caso concreto de México, el comercio de la leche fluida fija un precio para leche estándar con composición y calidad definida y los contenidos de grasa y proteína son bonificados mediante estímulos económicos (Liconsá, 2013). Las empresas captadoras de leche p. ej., Santa Clara<sup>MR</sup>, Alpura<sup>MR</sup> y grupo Lala<sup>MR</sup> otorgan estos incentivos, debido a que la concentración de grasa y proteína láctea, define la cantidad y calidad de los subproductos elaborados p. ej., quesos, lactosuero, crema y dulces (CNOG, 2012). Cabe señalar que el 65.88 % de la leche fluida en México, tiene como destino la industrialización (CANILEC, 2015).

Estas disposiciones en el mercado de los lácteos, han suscitado un gran interés científico en tecnologías que permiten modificar la concentración y composición química de la grasa y la proteína de la leche. Dentro de estas estrategias destacan: la manipulación nutricional (Colmenero y Broderick, 2006; Moallem *et al.*, 2010), el efecto de la raza (Barłowska *et al.*, 2009; Kliem *et al.*, 2009), la modificación del ambiente ruminal (Calsamiglia *et al.*, 2008) y la influencia de variantes genéticas (Stoop *et al.*, 2008; Schopen *et al.*, 2009). Los conocimientos adquiridos a partir de estas estrategias, son utilizados para actualizar periódicamente las ecuaciones que predicen los requerimientos nutricionales de las vacas (NRC, 1978; 1989; 2001). Sin embargo, es importante señalar que los resultados han sido menores a los esperados, ya que muchas de las modificaciones en la concentración lipídica y proteica repercuten directamente en el rendimiento de la leche.

Por esta razón, es necesario incrementar nuestra comprensión sobre el metabolismo energético, proteico y mineral (Heid y Keenan, 2005; Kumar *et al.*, 2009; García *et al.*, 2014), a partir de mediciones hematoquímicas que permitan entender con mayor claridad los mecanismos involucrados en la síntesis

de la grasa y la proteína de la leche. Este método fue definido en la década de los setenta como perfil metabólico (Payne, 1972; Payne *et al.*, 1973; Payne *et al.*, 1974). En la actualidad, la tendencia al incremento en el tamaño de los hatos, así como el reconocimiento de las consecuencias que en términos de salud, producción y economía, tienen las patologías clínicas y subclínicas de las vacas lecheras, ha generado un renovado interés en el uso de los perfiles metabólicos (van Saun, 2010). No obstante, en el caso de México, su utilización es muy escasa, ocasionando que la información sobre los diferentes analitos bioquímicos relacionados con la distribución energética y con la síntesis de la grasa y la proteína de la leche sea inexistente. También cabe señalar que los valores de referencia que se cotejan en las concentraciones de los diferentes analitos, son los reportados por la literatura internacional (Bouda *et al.*, 2005), y que dichos valores reflejan condiciones generales de producción muy distintas a las existentes en el sector lechero nacional.

Por lo tanto, este proyecto de investigación pretende establecer valores de referencia para diferentes analitos bioquímicos, en establos tecnificados del Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca Hidalgo que consideren: 1) el perfil energético: glucosa, colesterol, triacilglicerol,  $\beta$ -hidroxibutirato, ácidos grasos no esterificados, 2) el perfil proteico: urea, albúmina, globulina y proteína-total, 3) el perfil mineral: ion calcio, fosfato inorgánico, ion sodio, ion potasio, ion magnesio, ion cloruro, dióxido de carbono, bicarbonato y déficit aniónico y 4) la enzima:  $\gamma$ -glutamyl transpeptidasa. Posteriormente, se plantea identificar ajustes en la concentración de los diferentes analitos bioquímicos, como respuesta a la producción de grasa y proteína de leche, y analizar si existen diferencias para dicha respuesta a través del tiempo. De manera tal que se puedan obtener por un lado: valores sanguíneos procedentes de la cuenca lechera más importante de la región agroecológica-ganadera templada de México (SFA-SAGARPA, 2013), y por el otro: modelos de simplificación biológica que describan el comportamiento de la grasa y la proteína de la leche mexicana, en función de los perfiles metabólicos de sus vacas.

## II. REFERENCIA DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

AA	aminoácidos
aaRS	aminoacil-ARNt-sintetasas
AAS	arginosuccinato sintetasa
AcAc	acetoacetato
ADN	ácido desoxirribonucleico
AGNE	ácidos grasos no esterificados
AGV	ácidos grasos volátiles
ALB	albúmina
ALC	ácido linoleico conjugado
ALT	alanina-aminotransferasa
a.p.	antes del parto
apo B	apolipoproteína B
ARG	arginasa
ARNm	ácido ribonucleico mensajero
ARNt	ácido ribonucleico de transferencia
AST	aspartato aminotransferasa
ATP	adenosín trifosfato
BChE	butirilcolinesterasa
BEN	balance energético negativo
Ca <sup>2+</sup>	ion calcio
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	fosfato de calcio
CaCO <sub>3</sub>	carbonato de calcio
CANILEC	Cámara Nacional de Industriales de la Leche
CbP	carbamoil fosfato
Cl <sup>-</sup>	ion cloruro
CNOG	Confederación Nacional de Organizaciones Ganaderas
CO <sub>2</sub>	dióxido de carbono
COL	colesterol
DE	desviación estándar
EM	energía metabolizable
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>

FAPRI-ISU	<i>Food and Agricultural Policy Research Institute-Iowa State University's</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
Fe <sup>2+</sup>	ion ferroso
Fe <sup>3+</sup>	ion férrico
FIRA	Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura
g/dL	gramos por decilitro
GLOB	globulina
GLU	glucosa
H <sup>+</sup>	ion hidrógeno
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	ion bicarbonato
HDLc	lipoproteínas de alta densidad
IC	intervalo de confianza
IgA	inmunoglobulina A
IgG	inmunoglobulina G
IgM	inmunoglobulina M
K <sup>+</sup>	ion potasio
k/d	kilogramos por día
L/d	litros por día
LDLc	lipoproteínas de baja densidad
LDP	leche desnatada en polvo
LEP	leche entera en polvo
LF	lactoferrina
Mg <sup>2+</sup>	ion magnesio
MgSO <sub>4</sub>	sulfato de magnesio
mM	milimolar (10 <sup>-3</sup> Molar)
MS	materia seca
Na <sup>+</sup>	ion sodio
NADPH+H <sup>+</sup>	fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido reducido
NaHCO <sub>3</sub>	bicarbonato de sodio
NH <sub>3</sub>	amoníaco
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	ion amonio
nm	nanómetros (10 <sup>-9</sup> Metros)
NNP	nitrógeno no proteico

OTC	ornitina transcarbamilasa
PC	proteína cruda
PDR	proteína degradable en rumen
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	fosfato inorgánico
POF	plaguicidas organofosforados
PP	fracción proteosa-peptona
p.p.	posparto
PROT-T	proteína-total
SE	Secretaría de Economía de México
SFA-SAGARPA	Subsecretaría de Fomento a los Agronegocios-Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
STb	somatotropina bovina
TAG	triacilgliceroles
TIP47	proteína de interacción 47 kDa
U/L	unidades por litro
Valacta	<i>Dairy Production Centre of Expertise Quebec-Atlantic</i>
VLDLc	lipoproteínas de muy baja densidad
α-LA	α-Lactoalbúmina
α <sub>S1</sub> -CN	α <sub>S1</sub> -Caseína
α <sub>S2</sub> -CN	α <sub>S2</sub> -Caseína
β-CN	β-Caseína
β-HBA	β-hidroxibutirato
β-LG	β-Lactoglobulina
γ-CN	γ-Caseína
γ-GT	γ-glutamyl transpeptidasa
κ-CN	κ-Caseína
λ	longitud de onda
μM	micromolar (10 <sup>-6</sup> Molar)
v	frecuencia de onda
x	media
Ψ	amplitud de onda

### III. ANTECEDENTES

La necesidad de una mayor eficiencia en el proceso industrial de la leche y la creciente demanda de productos con mayor calidad por parte de los consumidores, han ocasionado un incremento en las exigencias de los estándares para la grasa y la proteína láctea (Comeron *et al.*, 2001; Manterola, 2011). Estos nuevos requerimientos, no sólo constituyen un elemento orientador sobre las tendencias en el mercado de los lácteos, sino que también provocan modificaciones en el pago de la leche (Comeron *et al.*, 2001; John, 2005). En efecto, a pesar de que normalmente se hace referencia a un precio por L o kg de leche producido, en realidad el mismo surge de la conjunción de parámetros como la concentración de grasa y proteína (Manterola, 2011).

De hecho, a nivel mundial el pago de la leche se está ajustando a dos principales esquemas: 1) un precio fijo para leche estándar con composición y calidad definida con beneficios y penalizaciones, de acuerdo a la cercanía con la referencia (CNOG, 2012), y 2) un precio fijo para componentes específicos, particularmente grasa y proteína, complementando el precio con la calidad y cantidad de leche producida (Gregory, 2005). Comeron *et al.* (2001) indicaron que en los países en vías de desarrollo prevalece el sistema de pago uno, mientras que en los países cuya industria lechera presenta un elevado nivel de tecnificación se utilizan ambos sistemas. Afirmación que concuerda con lo reportado por John (2005), quien señaló que los países desarrollados utilizan el sistema uno para solventar el abasto de la leche fluida y la crema, y el sistema dos para pagar la leche destinada a la industria de quesos, mantequilla y leche en polvo. Estas disposiciones tienen sentido, pues el rendimiento en la industrialización láctea depende directamente del contenido de estos dos componentes.

Así p. ej., en Holanda el pago de la leche se basa en el sistema dos, ya que el factor más importante para la determinación del precio es el valor monetario de la materia grasa y la proteína (Gregory, 2005). En Noruega, la leche contiene en promedio 3.9 % de grasa y 3.2 % de proteína. Se paga una bonificación por un contenido proteico mayor a 3.2 %, pero no existe un sobrepago para el contenido lipídico superior a la referencia (John, 2005). En Latinoamérica se han empleado distintas alternativas para impulsar la calidad de la leche cruda p. ej., Uruguay, Argentina y Chile establecieron sistemas de pago con el método de bonificación/sanción y el estado actúa como autoridad en el cumplimiento de las normas (Comeron *et al.*, 2001; John, 2005).

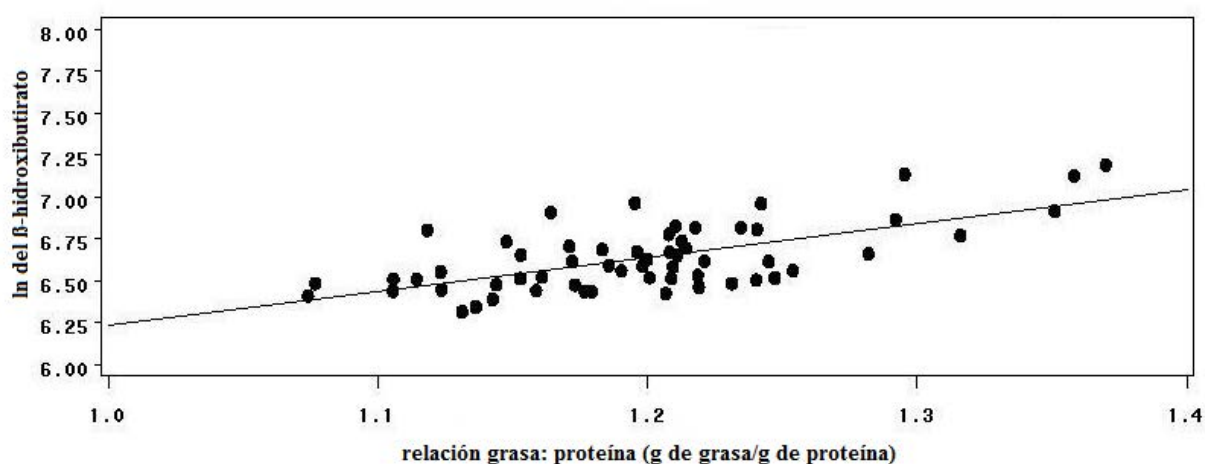


En el caso concreto de Uruguay, el Ministerio de Agricultura vigila la precisión y veracidad de los laboratorios encargados de los análisis lácteos, bajo la modalidad de rondas interlaboratorios con 20 muestras mensuales (Gregory, 2005; John, 2005). Estas nuevas disposiciones en el mercado de los lácteos, exigen crear metodologías que permitan mejorar la distribución energética, e incrementar el contenido lipídico y proteico de la leche (van Kneysel *et al.*, 2007). La grasa por ser el componente menos estable de la leche (Elgersma *et al.*, 2004), desde el año 1997 ha alcanzado un 3 % para su modificación (Ashes *et al.*, 1997). Por su parte, la proteína tan sólo ha alcanzado el 0.5 % como respuesta a la manipulación nutricional (Doepel y Lapierre, 2010). Sin embargo, es importante señalar que en ambos casos se ha reducido la producción total de leche. Por otro lado, se ha utilizado la administración de somatotropina bovina (**STb**) para la producción láctea (Tarazón *et al.*, 2009). No obstante, los porcentajes de grasa (3.59 frente a 3.72 %) y proteína (3.69 frente a 3.85 %) no han sido modificados significativamente. Concluyendo que la inyección de esta hormona, incrementa la producción de leche durante lactancias avanzadas, pero no modifica la concentración de la grasa o la proteína.

En lo referente a metodologías que describan los cambios en el metabolismo energético durante la lactancia, Ceballos *et al.* (2002) en un estudio realizado en Colombia reportaron correlaciones entre la producción de leche y la concentración de glucosa (**GLU**) y colesterol (**COL**), obteniendo ( $r = 0.14$ ;  $r = 0.31$ ;  $P < 0.05$ ) respectivamente. Sin embargo, los autores no consideraron identificar si existía una correlación directamente con la fracción lipídica o la fracción proteica de la leche. En el caso concreto de México, la mayoría de las investigaciones siguen la estrategia de la manipulación nutricional (Bouda *et al.*, 2005) y la información sobre los diferentes analitos bioquímicos, relacionados con la síntesis de la grasa y la proteína de la leche es inexistente.

Por último, producto de una investigación realizada en la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco, García *et al.* (2013) identificaron una asociación estocástica entre la relación grasa: proteína de leche y el ln del  $\beta$ -hidroxibutirato sanguíneo ( **$\beta$ -HBA**) ( $r = 0.65$ ;  $P < 0.001$ ) con un coeficiente de determinación  $R^2$  expresado en porcentaje = 42 ( $P < 0.001$ ) lo que sugiere que la relación grasa: proteína de la leche, se incrementa progresivamente conforme el ln del  $\beta$ -HBA también aumenta (figura 1).

**Figura 1.** Correlación entre el  $\beta$ -hidroxibutirato sanguíneo y la relación grasa: proteína de la leche,  $n = 59$  establos



ln del  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\bullet$ ); respuesta pronosticada (—).

**Fuente:** (García *et al.*, 2015).

Sin embargo, los datos utilizados se obtuvieron de establos lecheros ubicados en Québec Canadá y registrados en *Dairy Production Centre of Expertise Quebec-Atlantic (Valacta)*. Por lo que a partir de ese estudio, surgió la necesidad de realizar investigaciones en bovinos lecheros bajo condiciones de producción, clima, nutrición y sanidad animal propias de México.

## IV. MARCO DE REFERENCIA

### IV. 1. Producción internacional de leche y productos lácteos

A nivel mundial y debido a la diversidad biológica y cultural, la leche consumida por el hombre proviene de diferentes especies. Durante el año 2011 la producción internacional de leche de todas las especies alcanzó 742.2 millones de t de equivalente de leche (FAO, 2013). La leche de bovino (cuadro 1), representó el mayor volumen producido, con 616.02 millones de t de equivalente de leche, mientras que las otras especies lecheras como bubalino, caprino y ovino produjeron el 13, 2 y 1 % respectivamente (Vidal, 2013).

**Cuadro 1.** Producción internacional de leche por especie año 2011, millones de toneladas de equivalente de leche

<b>Especie</b>	<b>Volumen producido</b>	<b>Porcentaje</b>
	millones de t, eq. leche <sup>a</sup>	%
Bovino	616.02	83
Bubalino	96.48	13
Caprino	14.84	2
Ovino	7.42	1
Otros	7.42	1
Total	742.2	100

<sup>a</sup>equivalente de leche: es el promedio ponderado, calculado sobre una base de grasa de leche y una base de sólidos en leche sin grasa, con factores de conversión equivalente a:

- 1 000 mL. \* 11.8 % de sólidos totales para la leche entera.
- 1 000 mL. \* 8.5 % de sólidos no grasos para la leche descremada.
- 1 000 mL. \* 6.5 % de sólidos de leche para el lactosuero.
- 1 000 mL. \* 3.5 % de sólidos de leche para la crema.

**Fuente:** (Vidal, 2013).

Para el año 2012 la producción internacional de leche llegó a 765.6 millones de t de equivalente de leche (cuadro 2), y para el año 2013 la producción aumentó a 780.3 millones de t de equivalente de leche, con un consumo humano *per capita* mundial de 108.2 kg/año, es decir un incremento del 0.8 % respecto al año 2012 (FAO, 2013).

**Cuadro 2.** Mercado internacional de producción de leche período 2011-2013,  
millones de toneladas de equivalente de leche

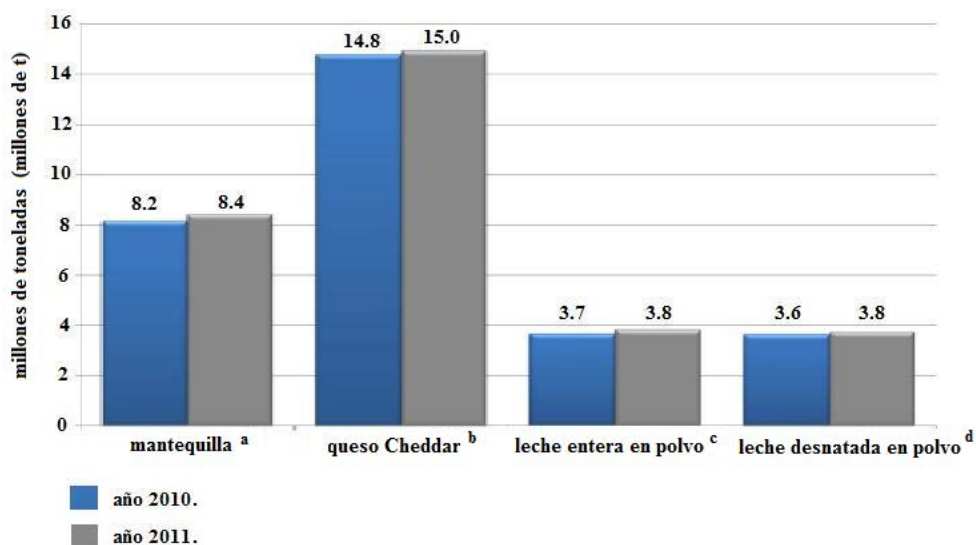
	Años			Variación de
	2011	2012	2013	2012 a 2013
	millones de t, eq. leche			%
<b>Balanza mundial</b>				
Producción total	742.2	765.6	780.3	1.9
Comercio total	49.7	53.4	53.0	-0.9
<b>Consumo humano per capita</b>				
Mundial (kg/año)	105.2	107.3	108.2	0.8
Países desarrollados (kg/año)	234.6	237.0	236.2	-0.3
Países en desarrollo (kg/año)	71.7	74.0	75.6	2.2

**Fuente:** (FAO, 2013).

El FIRA (2013) reportó que el consumo internacional de leche fluida al cierre del año 2010 se ubicó en 512.5 millones de t, cifra 1.5 % superior al año 2009. Los centros de consumo más importantes a nivel internacional fueron: la Unión Europea con 26.9 %, India con 22.8 % y Estados Unidos con 17.1 % (FAPRI-ISU, 2011). En cuanto a su distribución durante ese mismo año; el consumo industrial representó el 66.7 % del total mundial, mientras que el consumo humano directo utilizó el restante 33.3 % (FAO, 2013). En relación con el tema, el FIRA (2013) señaló que en Estados Unidos el consumo de leche para uso industrial durante el año 2010 se incrementó en 3.5 %. Cabe recordar, que en Estados Unidos alrededor de 67.0 % del consumo total de leche fluida es para la industria procesadora de queso (Vidal, 2013).

La FAO (2013) indicó que durante el año 2010 la producción internacional de productos lácteos alcanzó 30.3 millones de t, es decir 1.9 % superior al año 2009. Al cierre del año 2011 la leche entera en polvo (**LEP**) y la leche desnatada en polvo (**LDP**) alcanzaron las 3.8 millones de t (figura 2) mostrando un crecimiento de 0.1 y 0.2 millones de t respectivamente con relación al año 2010 (FIRA, 2013).

**Figura 2.** Producción internacional de principales productos lácteos período 2010-2011, millones de toneladas



<sup>a</sup> contenido de materia grasa 80 %, contenido máximo de agua 16 %, contenido máximo de extracto seco magro de la leche 2 % (CODEX STAN-279, 1971).

<sup>b</sup> contenido de materia grasa entre 48 y 60 % (CODEX STAN-263, 1966).

<sup>c</sup> contenido de materia grasa entre 26 y 42 %, contenido máximo de agua 5 %, contenido mínimo de proteínas en el extracto seco magro de la leche 34 % (CODEX STAN-207, 1999).

<sup>d</sup> contenido de materia grasa 1.5 %, contenido máximo de agua 5 %, contenido mínimo de proteínas en el extracto seco magro de la leche 34 % (CODEX STAN-207, 1999).

**Fuente:** (FIRA, 2013).

En el caso de la mantequilla y el queso Cheddar, durante el año 2011 alcanzaron las 8.4 y 15.0 millones de t producidas a nivel internacional (figura 2), mostrando un crecimiento de 0.2 millones de t con respecto al año 2010 (FIRA, 2013). El consumo internacional de productos lácteos al cierre del año 2010 se ubicó en 28.3 millones de t, cifra 3.3 % superior al año 2009. Los productos que mostraron mayor crecimiento anual en el consumo mundial fueron: LEP y LDP con 8.8 y 3.4 %, respectivamente (FAPRI-ISU, 2011).

La importancia de la LEP y la LDP como insumos para la industria láctea, los sitúa como referentes para los precios a nivel internacional (CANILEC, 2015). Durante el año 2013 en Europa, el precio de la LEP fue de 2 608 USD/t (cuadro 3) y en Estados Unidos durante ese mismo año, el precio de la LDP se ubicó en 2 310 USD/t (SFA-SAGARPA, 2013).

**Cuadro 3.** Precios internacionales para los principales productos lácteos período 2010-2013, dólares/tonelada

Año	LEP <sup>a</sup>	LDP <sup>b</sup>	Mantequilla	Queso Cheddar
	FOB-Europa	FOB-Estados Unidos	FOB- Estados Unidos	FOB-Europa
	USD/t			
2010	2 305	1 875	3 008	3 251
2011	2 404	2 145	3 318	3 315
2012	2 517	2 258	3 376	3 374
2013	2 608	2 310	3 415	3 441

<sup>a</sup> leche entera en polvo

<sup>b</sup> leche desnatada en polvo

El FOB es el valor de mercado que establecen las fronteras aduaneras de un país: costos de transporte de los bienes a la frontera aduanera, derechos de exportación y costo de cargar en el medio de transporte utilizado.

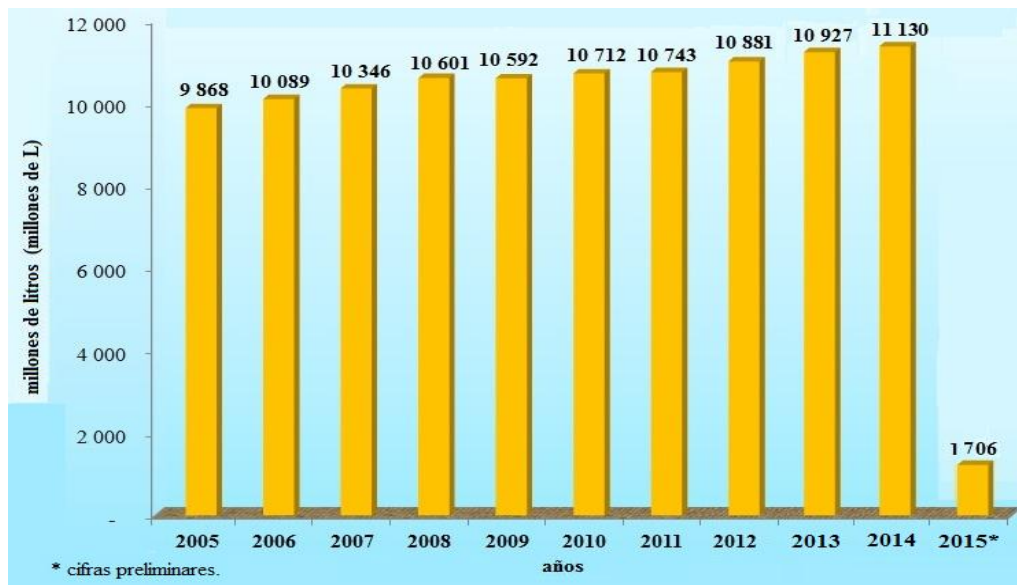
**Fuente:** modificado a partir de (SFA-SAGARPA, 2013).

#### IV. 2. Producción nacional de leche y productos lácteos

En México la leche se define como el producto obtenido de la secreción de la glándula mamaria de la vaca sin calostro, dicho producto debe ser sometido a tratamientos térmicos u otros procesos que garanticen su inocuidad. Además puede someterse a otras operaciones tales como clarificación, homogeneización, estandarización u otras, siempre y cuando no contaminen al producto y se cumpla con las especificaciones de su denominación (NOM -155 - SCFI, 2003).

La CANILEC (2015) reportó que durante el período comprendido entre los años 2000 y 2010, la producción de leche fluida en México creció alrededor de 1 401 millones de L, pasando de 9 311 millones de L en el año 2000 a 10 712 millones de L para el año 2010. Un factor a considerar durante el año 2010, fue que se presentaron cambios en los meses de mayor producción de forraje, debido principalmente a la presencia de factores climáticos particularmente lluvia. Así, el año 2010 fue el año más lluvioso de los últimos 70 años con un acumulado de 931.6 mm, representando un nivel 20 % superior al promedio entre los años 1941 y 2009 (El Economista, 2010). Durante el año 2014 la producción de leche fluida alcanzó los 11 130 millones de L y para febrero del año 2015 los 1 706 millones de L (figura 3).

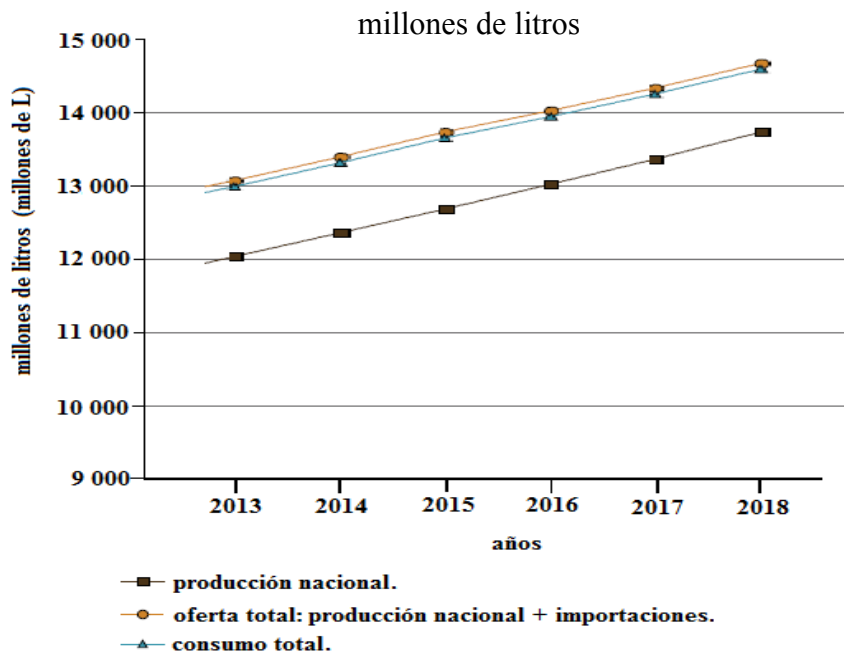
**Figura 3.** Estadísticas de la producción de leche de vaca en México período 2005-2015, millones de litros



Fuente: (CANILEC, 2015).

La SFA-SAGARPA (2013) estimó que para el año 2018 la producción de leche de vaca en México alcanzará los 13 745 millones de L, y que durante ese año se requerirá importar 946.1 millones de L para cubrir los 14 608 millones de L del consumo total de la población (figura 4).

**Figura 4.** Estimación de la oferta y consumo de leche de vaca en México período 2012-2018, millones de litros

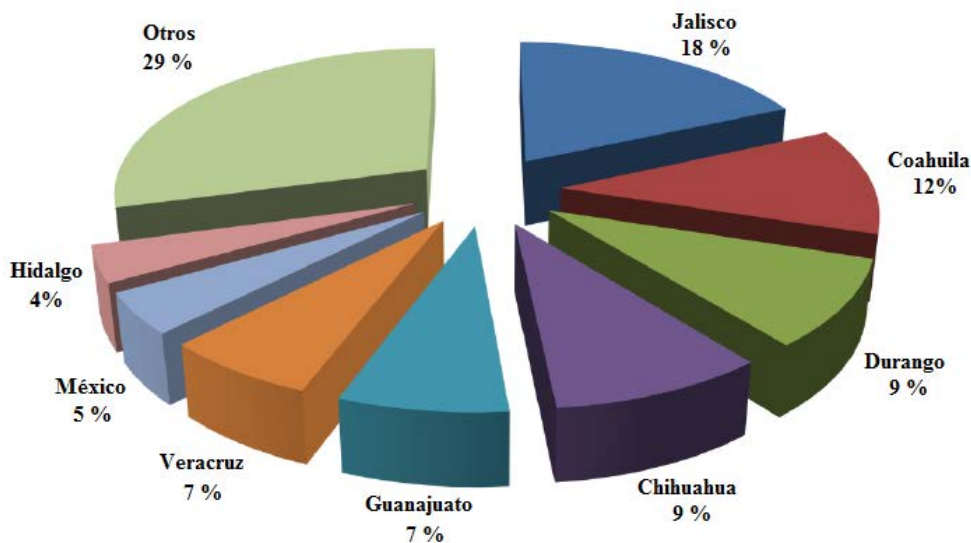


Fuente: modificado a partir de (SFA-SAGARPA, 2013).

En México la producción de leche de bovino es muy heterogénea desde el punto de vista tecnológico, agroecológico y socioeconómico, incluyendo la gran variedad de climas regionales, características tradicionales y costumbres de las poblaciones (FAO, 2013). La SE (2012) y la SFA-SAGARPA (2013) indicaron que durante el año 2012 la producción de leche fluida fue de 10 946 millones de L (figura 3), con un inventario ganadero cercano a 6.7 millones de vacas lecheras.

Al respecto la CNOG (2012) señaló que la mayor parte de esa producción la aportaron 13 estados, mostrando superioridad Jalisco, el mayor productor de leche de vaca en México (figura 5) con 2 024 968 miles de L y un coeficiente de agostadero de 8.50 ha/unidad animal/año, seguido por Coahuila con 1 287 918 miles de L y un coeficiente de agostadero de 26.02 ha/unidad animal/año, Durango con 1 037 913 miles de L y un coeficiente de agostadero de 15.70 ha/unidad animal/año y Chihuahua con 979 502 miles de L y un coeficiente de agostadero de 20.07 ha/unidad animal/año; el resto de la producción para ese año se cubrió por los estados de Guanajuato, Veracruz, Estado de México, Hidalgo, Aguascalientes, Puebla, Chiapas, Michoacán y Querétaro.

**Figura 5.** Producción de leche de vaca por estado año 2011, porcentaje



Fuente: (SE, 2012).

En Jalisco, Coahuila, Durango y Chihuahua prevalecen los sistemas productivos intensivos o especializados, con rendimientos promedio de 5 000 L anuales con 18 a 20 L/vaca/d, y un período de lactancia que fluctúa entre 210 y 305 días al año (CNOG, 2012). En Guanajuato, Estado de México, Hidalgo, Aguascalientes, Puebla, Michoacán y Querétaro con coeficientes de agostadero de 10.20, 9.33, 6.41, 11.56, 7.82, 7.00 y 13.49 ha/unidad animal/año respectivamente, prevalecen los sistemas



productivos semi intensivos o semi especializados, con rendimientos promedio de 2 500 L anuales con 10 a 12 L/vaca/d y un período de lactancia que fluctúa entre 210 y 305 días al año (FAO, 2013). En cuanto a Veracruz y Chiapas con coeficientes de agostadero de 1.81 y 1.80 ha/unidad animal/año respectivamente, predomina la ganadería de doble propósito con rendimientos promedio de 750 L anuales con 5 a 7 L/vaca/d (CNOG, 2012; FAO, 2013).

Respecto a las condiciones climáticas y la disponibilidad de agua para la producción de leche de vaca por estado, la SFA-SAGARPA (2013) tiene establecida una tipología que considera su distribución por regiones agroecológicas-ganaderas (cuadro 4).

**Cuadro 4.** Regiones agroecológicas-ganaderas de la producción de leche de vaca en México

<b>Región</b>	<b>Estados</b>
Árida y Semiárida	Baja California Norte y Sur, Coahuila, Chihuahua, Durango, Nuevo León, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas y Zacatecas.
Templada	Aguascalientes, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Puebla, Querétaro, Tlaxcala y Ciudad de México.
Tropical	Campeche, Colima, Chiapas, Guerrero, Nayarit, Oaxaca, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz y Yucatán.

**Fuente:** (SFA-SAGARPA, 2013).

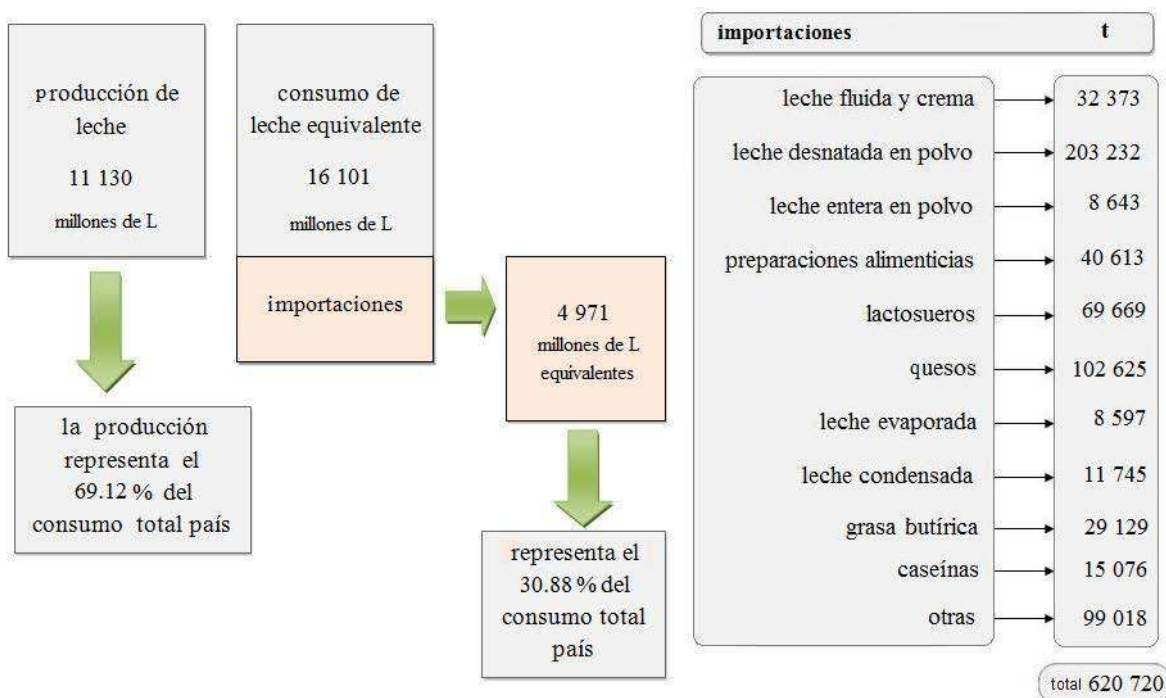
Por su importancia en la oferta de leche a nivel nacional, la CANILEC (2015) destacó en la región agroecológica-ganadera árida y semiárida a la Comarca Lagunera en los estados de Durango y Coahuila, a Delicias en el estado de Chihuahua por su elevado nivel de tecnificación, y al Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca Hidalgo, en la región agroecológica-ganadera templada de México.

A pesar de que la región agroecológica-ganadera con mayor disponibilidad de agua en el país es la tropical, cabe señalar, que las condiciones climáticas y la disponibilidad de agua al parecer no han sido los determinantes en los niveles de productividad y competitividad de los estados p. ej., Coahuila y Durango ubicados en la región árida y semiárida del país, se encuentran en segundo y tercer lugar de producción (SFA-SAGARPA, 2013).

### IV. 3. Comercio nacional de leche y productos lácteos

La producción nacional del año 2014 (figura 6), tan sólo cubrió el 69.12 % del consumo nacional siendo insuficiente para satisfacer la demanda total de la población, por lo que fue necesario importar 620 720 t de materias primas y productos lácteos (CANILEC, 2015).

**Figura 6.** Producción, importación y consumo de leche en México año 2014, millones de litros y toneladas



**Fuente:** modificado a partir de (CANILEC, 2015).

De las 620 720 t de materias primas y productos lácteos importados, la CANILEC (2015) señaló que el 5.21 % correspondió a leche fluida y crema, 32.74 % correspondió a LDP, 1.39 % a LEP, 6.54 % a preparaciones alimenticias, 11.22 % a lactosueros, 16.53 % a quesos, 1.38 % a leche evaporada, 1.89 % a leche condensada, 4.69 % a grasa butírica, 2.42 % a caseínas y el restante 15.95 % se cubrió con otras importaciones.

Por otra parte, el tratado de libre comercio de América del Norte que tuvo en el año 2008 la apertura total para maíz y frijol, en el año 2010 tuvo otra apertura mediante un acuerdo bilateral por el que se dio a conocer el contingente arancelario para importar, exenta de arancel, leche en polvo entre México y Estados Unidos (SIAP, 2011). Como consecuencia, al quedar libre de cualquier medida de

protección, las importaciones de LDP (cuadro 5), se incrementaron en un 21.66 % entre los años 2011 y 2012, disminuyendo posteriormente hasta alcanzar las 203 232 t en el año 2014 (CANILEC, 2015).

**Cuadro 5.** Principales importaciones lácteas período 2011-2014, toneladas

	Años			
	2011	2012	2013	2014
			t	
Leche fluida y crema	38 104	33 303	36 054	32 373
Leche desnatada en polvo	196 250	238 766	198 577	203 232
Leche entera en polvo	30 529	8 554	11 209	8 643
Preparaciones alimenticias	23 683	19 349	23 781	40 613
Lactosueros	71 303	70 537	68 355	69 669
Quesos	73 560	92 601	106 481	102 625
Leche evaporada	10 961	8 548	8 597	8 597
Leche condensada	15 260	18 818	11 745	11 745
Otras importaciones	158 789	143 650	161 229	143 223
Total	618 439	634 126	626 028	620 720

**Fuente:** (CANILEC, 2015).

Durante el año 2014 el 71 % del total de materias primas y productos lácteos importados (equivalente a 440 711 t) provenían de países con quien México ha firmado tratados comerciales y donde los productos lácteos han sido incluidos como son Estados Unidos, Uruguay y Chile (CANILEC, 2015). En cuanto a las exportaciones, debido a que México es un país con una producción nacional de leche y productos lácteos insuficiente, el comercio exterior es poco significativo (SE, 2012). Los productos lácteos que tienen mayor presencia en nuestras exportaciones son las fórmulas infantiles (51 592 t) y la leche condensada (14 671 t), que tienen como principales mercados de destino los países de Centroamérica (p. ej., Guatemala y Venezuela), así como algunos quesos (4 162 t) que tienen como principal destino el mercado de los mexicanos en Estados Unidos (CANILEC, 2015).

Los precios nacionales al productor de leche fluida en México están íntimamente relacionados con el precio de compra de Liconsa (CNOG, 2012). En octubre del año 2011, con el objetivo de mantener las finanzas de Liconsa e impulsar la rentabilidad de los productores mexicanos, se firmó un acuerdo

entre SAGARPA y SEDESOL, para que la primera transfiriera recursos fiscales a Liconsa, vía desarrollo social-SEDESOL (Liconsa, 2013).

Así, en el ejercicio fiscal para el cierre del año 2012, SAGARPA transfirió a Liconsa alrededor de 465 millones de pesos (FIRA, 2013). Gracias a este acuerdo, Liconsa paga 60 ¢/L adicionales en leche adquirida dentro de su programa nacional de compras, fijando el precio base para leche fría entre 4.60 y 4.70 \$/L a partir del 9 de octubre del 2011(CANILEC, 2015). También especifica bonificaciones para alcanzar un precio máximo entre 5.50 y 5.60 \$/L (cuadro 6), de acuerdo a la concentración lipídica y proteica de la leche y a la calidad bacteriológica (Liconsa, 2013).

**Cuadro 6.** Precios y estímulos económicos por litro de leche fluida en México, pesos/litro

Leche fría	Precio base		Precio máximo		
	4.70 <sup>a</sup>	4.60 <sup>b</sup>	5.60 <sup>a</sup>	5.50 <sup>b</sup>	
		Estímulos		\$/L	
Calidad	Fisicoquímica	Grasa	30.00 a 32.99 g	0.05	
			33.00 a 33.99 g	0.10	
			≥ 34.00 g	0.20	
	Proteína		30.00 a 30.99 g	0.05	
			≥ 31.00 g	0.10	
	Bacteriológica		Células	501 000 a 749 000/mL	0.05
			Somáticas	401 000 a 500 000/mL	0.10
				≤ 400 000/mL	0.15
			Reductasa	120 a 179 min	0.05
			180 min o más	0.10	
	Antibiótico		Negativo	0.05	

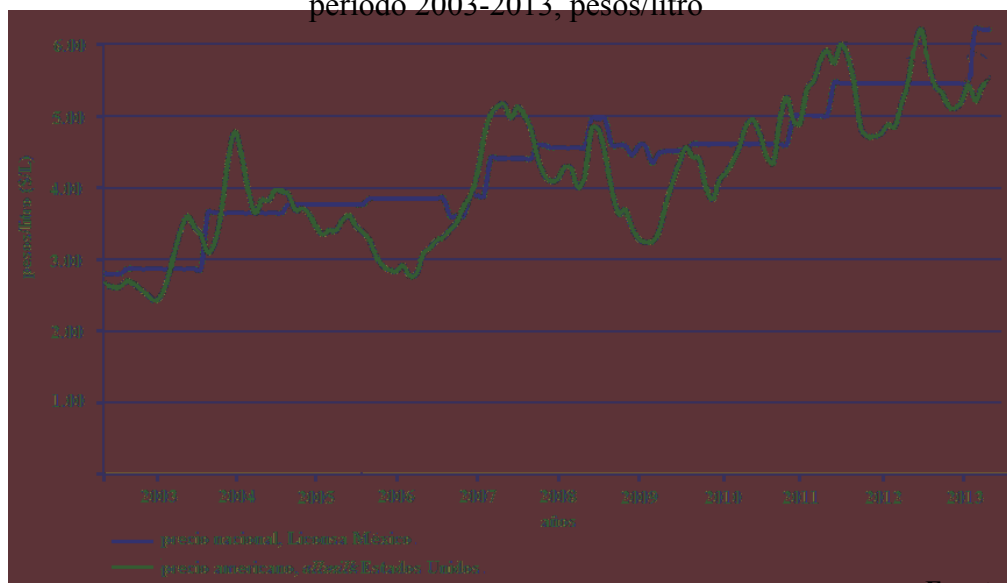
<sup>a</sup> Aguascalientes, Colima, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Querétaro, Tlaxcala, Zacatecas y la Joya-Veracruz.

<sup>b</sup> Campeche, Chiapas, Chihuahua, Oaxaca y Veracruz, excepto la Joya-Veracruz.

**Fuente:** (Liconsa, 2013).

En septiembre del año 2013 el precio máximo de Liconsa fue de 6.15 \$/L (figura 7). Se observa una diferencia de 60 ¢/L, en comparación con el precio otorgado al productor por *allmilk* en Estados Unidos (CANILEC, 2015). El precio al consumidor de leche fluida observado en el año 2010 en tiendas y supermercados del país, se ubicó en 11.8 \$/L y para el año 2011 alcanzó los 12.1 \$/L (FIRA, 2013). La CNOG (2012) señaló que esta cifra representó un crecimiento de 2.9 % con respecto al año 2010.

**Figura 7.** Precio al productor de leche fluida en México y en Estados Unidos período 2003-2013, pesos/litro



Fuente: (FIRA, 2013).

En el caso de las empresas captadoras de leche como: Santa Clara<sup>MR</sup>, grupo Lala<sup>MR</sup>, ganaderos productores de leche pura Alpura<sup>MR</sup> y Nestlé de México<sup>MR</sup> entre otras, es claro su interés sobre la concentración de proteínas y lípidos lácteos, al considerar que un 34.12 % de los 10 946 millones de L de leche fluida producidos en México durante el año 2012, se dirigieron a la producción de leche pasteurizada y ultrapasteurizada (CANILEC, 2015), y alrededor del 65.88 % equivalente a 7 211.22 millones de L se destinaron a la industria (FIRA, 2013) donde la concentración y calidad de las fracciones lipídica y proteica, definió la aptitud tecnológica de la leche produciendo: 123.2 mil t de LEP, 174.9 mil t de diferentes quesos, 92.1 mil t de mantequilla y 27.7 mil t de LDP (SFA-SAGARPA, 2013).

La información vertida en los párrafos anteriores pone de manifiesto la importancia económica que en nuestro país se concede a las fracciones lipídica y proteica de la leche tanto por parte del productor pecuario como de la industria láctea. El establecimiento de modelos de simplificación biológica que describan el comportamiento de la grasa y la proteína de la leche mexicana, en función de los perfiles metabólicos de sus vacas, es imprescindible tanto para optimizar el rendimiento de la leche durante el proceso de industrialización, como para incrementar el flujo de capital que el productor recibe por la venta de la leche.

## V. MARCO TEÓRICO

### V. 1. Componentes lipídicos en la leche

La concentración lipídica y la composición de los ácidos grasos en la leche de vaca, presentan diferencias entre e intra especie (Bauman *et al.*, 2006). Esta heterogeneidad fue demostrada por Evers *et al.* (2008) quienes propusieron el uso de sondas fluorescentes específicas, detectables por microscopía de fluorescencia, para proporcionar en tiempo real, información química y estructural de los glóbulos grasos de la leche, de acuerdo a sus diferentes patrones de distribución luminiscente.

La grasa láctea está presente como glóbulos microscópicos en una emulsión de aceite y agua (Heid y Keenan, 2005; Singh, 2006), su contenido en la leche de vacas Holstein, oscila entre 3.5 y 4.7 %, con una relación grasa: proteína de 1.05 a 1.18 g de grasa/g de proteína (Čejna y Chládek, 2005). Variaciones en la producción de grasa láctea, dentro de un grupo de vacas alimentadas en condiciones similares, sugieren que la producción de grasa depende de la capacidad metabólica individual de cada vaca (Soyeurt *et al.*, 2006). Hradecká *et al.* (2008) plantearon que estas diferencias pueden explicarse en cierta medida, por el polimorfismo localizado en el cromosoma 14 (exón-8) de la acil-CoA: diacilglicerol transferasa, enzima clave en la síntesis de triacilgliceroles (**TAG**). Afirmación que concuerda con lo reportado por Schennink *et al.* (2008), que señalaron la participación de esta enzima en la transformación de ácidos grasos saturados en insaturados, y por lo tanto su efecto sobre la composición química de la grasa láctea.

Por otro lado, a nivel hato las adaptaciones bioquímicas del metabolismo lipídico, dependen directamente de la etapa de lactancia (Craninx *et al.*, 2008). Valores elevados en la grasa láctea durante la lactancia temprana, p. ej., 5.49 %, sugieren una movilización lipídica a partir de los depósitos de grasa corporal (Bjerre-Harpoth *et al.*, 2012). Suposición comprobada por Marín *et al.* (2011) quienes observaron una correlación positiva ( $r = 0.26$ ;  $P < 0.05$ ) entre las reservas corporales de la vaca y los contenidos de ácidos grasos no esterificados (**AGNE**). Esta información fue retomada en los modelos metabólicos propuestos por Tedeschi *et al.* (2013), que evaluaron las interacciones dinámicas entre la oferta alimenticia y los requerimientos nutricionales, cuantificando la reposición y movilización de grasa y proteína corporal durante la lactancia.

La composición lipídica de la leche de vaca, se encuentra constituida aproximadamente por 98 % de TAG (Dewettinck *et al.*, 2008). Estos lípidos están formados por una molécula de glicerol que tiene esterificados sus tres grupos hidroxilo por tres ácidos grasos ya sean saturados, monoinsaturados o poliinsaturados (Fahy *et al.*, 2005). El 2 % restante está compuesto por AGNE, COL, carotenoides, vitaminas liposolubles y lípidos estructurales (Zhang *et al.*, 2010). Éstos comprenden principalmente a los fosfolípidos como la fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol y fosfatidilserina; y a los esfingolípidos donde la esfingomielina es la especie dominante (Argov-Argaman *et al.*, 2013; Contarini y Povolo, 2013).

Existen evidencias de que los fosfolípidos de la grasa láctea, tienen efectos beneficiosos para la salud (García *et al.*, 2012; Kullenberg *et al.*, 2012). P. ej., Sahebkar (2013) demostró que el fosfatidilinositol podría ser utilizado como terapia complementaria en el tratamiento de dislipidemia, disminuyendo la alteración metabólica de los lípidos, al reducir por un lado, el contenido hepático de COL y TAG, y aumentando por el otro, la concentración de moléculas benéficas como lipoproteínas de alta densidad (**HDLc**) y apolipoproteína A-I.

La grasa de la leche de vaca es considerada una de las grasas más complejas de origen natural, debido a la gran cantidad de ácidos grasos con diferentes estructuras químicas, peso molecular y grado de insaturación (Harvatine *et al.*, 2009). En el año 1963, Garton citó por primera vez un estudio que informó acerca de la presencia de 64 ácidos grasos individuales en la grasa láctea (Palmquist, 2006). Fue hasta el año 2002 cuando gracias a una combinación de técnicas cromatográficas y espectroscópicas, se logró identificar la presencia de aproximadamente 416 ácidos grasos diferentes en la fracción lipídica de la leche bovina (Jensen, 2002). La gran mayoría de estos ácidos grasos se encuentran en cantidades menores a 0.01 %, pero existen alrededor de 10 ácidos grasos (cuadro 7) que están presentes por encima del 1.0 % de concentración (Bauman *et al.*, 2006).

Los ácidos grasos de la leche de vaca, se originan casi por igual de sus dos fuentes, la alimentación y la actividad bacteriana en el rumen (Månsson, 2008). En términos generales, la grasa láctea está compuesta aproximadamente por 70 % de ácidos grasos saturados, 26 % de ácidos grasos monoinsaturados y 4 % de ácidos grasos poliinsaturados (Jensen, 2002). Cerca del 11 % de los ácidos grasos saturados son de cadena carbonada corta (MacGibbon y Taylor, 2006). Al respecto Bylund (2003) señaló que los tres ácidos grasos más abundantes en la fracción lipídica de la leche (cuadro 7), son el palmítico C16:0, mirístico C14:0 y esteárico C18:0.

**Cuadro 7.** Principales ácidos grasos en la leche de vaca, porcentaje aproximado

Nombre común	Nomenclatura química	%	Número de átomos			Enlaces dobles	Estado <sup>d</sup>
			C <sup>a</sup>	H <sup>b</sup>	O <sup>c</sup>		
<b>Ácidos grasos saturados</b>							
Butírico	Butanoico	4.5	4	8	2	0	Líquido
Caproico	Hexanoico	2.2	6	12	2	0	Líquido
Caprílico	Octanoico	2.5	8	16	2	0	Líquido
Cáprico	Decanoico	3.8	10	20	2	0	Líquido
Láurico	Dodecanoico	5.0	12	24	2	0	Líquido
Mirístico	Tetradecanoico	11.0	14	28	2	0	Sólido
Palmítico	Hexadecanoico	25.0	16	32	2	0	Sólido
Esteárico	Octadecanoico	7.0	18	36	2	0	Sólido
<b>Ácidos grasos monoinsaturados</b>							
Oleico	Octadecenoico <i>cis</i> -9 <sup>&amp;</sup>	3.0	18	34	2	1	Sólido
<b>Ácidos grasos poliinsaturados</b>							
Linoleico	Octadecadienoico <i>cis</i> -9,12	2.0	18	32	2	2	Sólido
Linolénico	Octadecatrienoico <i>cis</i> -6,9,12	0.7	18	30	2	3	Líquido
Araquidónico	Eicosatetraenoico <i>cis</i> -5,8,11,14	0.7	20	32	2	4	Líquido

<sup>a</sup> carbono; <sup>b</sup> hidrógeno; <sup>c</sup> oxígeno; <sup>d</sup> a temperatura ambiente; <sup>&</sup> isomería espacial.

**Fuente:** modificado a partir de (Bylund, 2003), con información de (MacGibbon y Taylor, 2006; Månsson, 2008).

En la forma natural de un ácido graso insaturado, los enlaces dobles siempre estarán separados por un carbono metilénico intermedio, que no participa en la estructura de insaturación (Fahy *et al.*, 2005), p. ej., si los enlaces dobles están entre los carbonos C9=C10 y C12=C13, el carbono C11 no participará en la estructura de insaturación (MacGibbon y Taylor, 2006). A pesar de lo anterior, como consecuencia del ambiente ruminal (Kumar *et al.*, 2009), de la manipulación del alimento (Martínez, 2007), p. ej., suministrar una mezcla de aceite de pescado o suplemento de aceite de girasol (AbuGhazaleh *et al.*, 2007), o por el efecto del metabolismo a nivel celular de ciertos ácidos grasos (Kadegowda *et al.*, 2013), es posible que un doble enlace cambie de posición. Esto es, siguiendo el ej., anterior desde la posición C9=C10 a la C10=C11, o de la posición C12=C13 a la C11=C12 desapareciendo el carbono metilénico intermedio y formando un ácido graso conjugado (MacGibbon y Taylor, 2006).



En cuanto al efecto del ambiente ruminal en la composición grasa de la leche, Kumar *et al.* (2009) indicaron que el rumen es un ecosistema complejo, compuesto por poblaciones de microorganismos anaeróbicos p. ej., dominio *Bacteria*  $10^{10}$  a  $10^{11}$  bacterias/mL, dominio *Archaea*  $10^8$  a  $10^9$  metanógenos/mL, dominio *Eukarya*  $10^6$  hongos/mL y  $10^6$  protozoos ciliados/mL de contenido ruminal. Es precisamente en este ambiente anaeróbico, donde los lípidos y los carbohidratos suministrados en la dieta, son fermentados por la acción de bacterias, hongos y protozoos ciliados produciendo AGNE y ácidos grasos volátiles (**AGV**) respectivamente (Nam y Garnsworthy, 2007; Or-Rashid *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2009).

De esta flora microbiológica, la bacteria *Butyrivibrio fibrisolvens*, realiza un proceso de biohidrogenación en el linoleico C18:2 *cis*-9,12 transformándolo en su estructura conjugada C18:2 *cis*-9 *trans*-11 (Dhiman *et al.*, 2005). El ácido linoleico conjugado (**ALC**) se conoce desde los primeros estudios de Pariza y Ha (1990) realizados en la Universidad de Wisconsin-Madison, quienes al investigar ciertos componentes carcinogénicos en carne de ternera a la parrilla, descubrieron que algunos ácidos grasos derivados del linoleico, presentaban propiedades anticancerígenas.

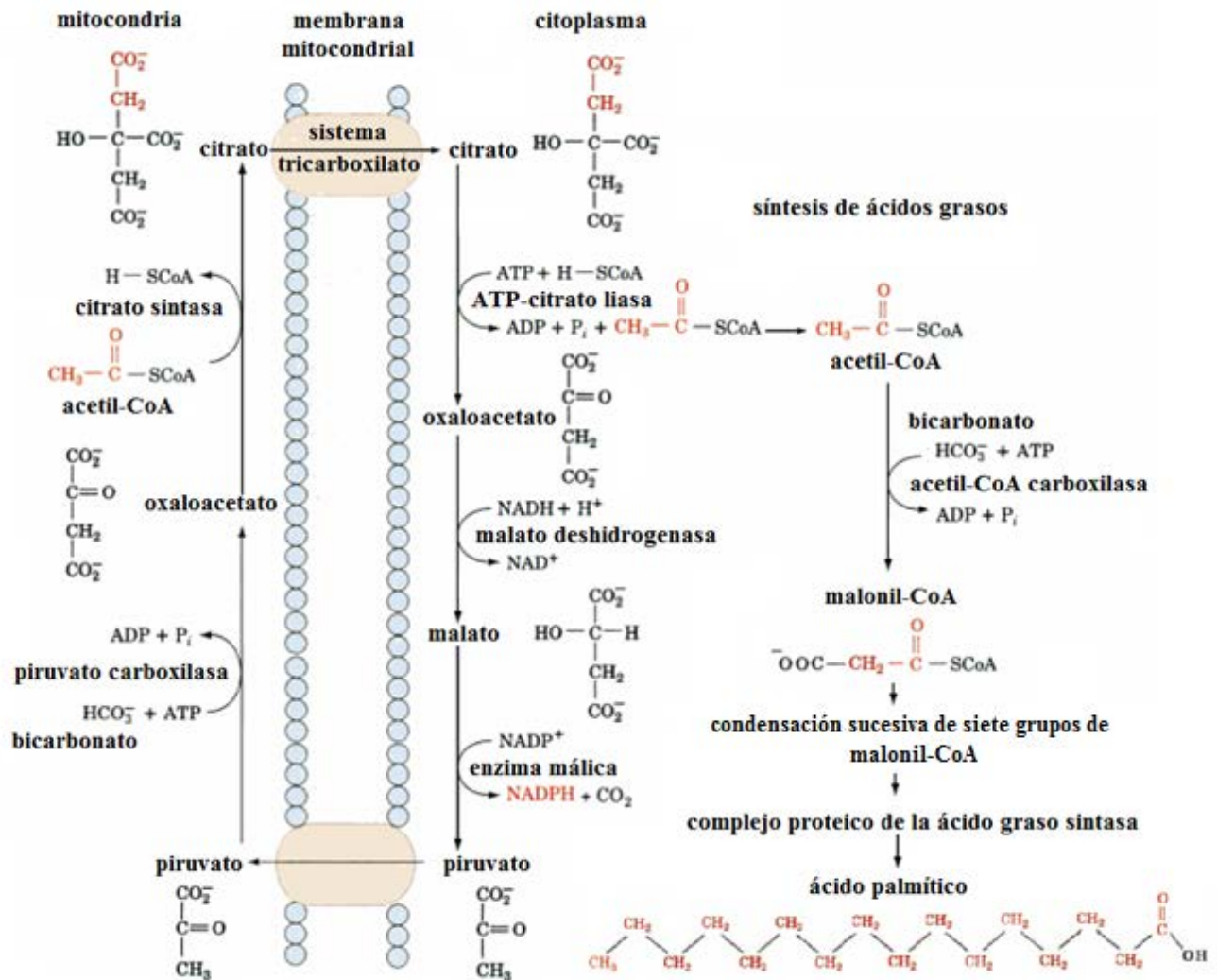
En la actualidad estudios realizados en modelos animales y con cultivos celulares, han reportado otros efectos del ALC como: propiedades antiaterogénicas (Chinnadurai *et al.*, 2013), beneficios sobre la respuesta del sistema inmunitario sobre patologías como la aterosclerosis (McCarthy *et al.*, 2013), disminución de la resistencia a la insulina (Shen *et al.*, 2013), y estimulación de la actividad enzimática de la carnitina palmitoiltransferasa, induciendo el transporte de AGNE hacia el interior de la mitocondria hepática, lo que indica que el ALC puede favorecer la pérdida de peso ya que beneficia la lipólisis del tejido adiposo (Kim *et al.*, 2012).

## **V. 2. Síntesis de la grasa láctea**

A nivel celular, la lipogénesis requiere de una fuente de carbono para obtener adenosín trifosfato (**ATP**), del ion bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) como fuente de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), y de la fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido reducido ( $\text{NADPH}+\text{H}^+$ ) como donadora de electrones (Jump, 2011). La síntesis de ácidos grasos inicia dentro de la mitocondria, con la producción de acetyl-CoA (Wakil y Abu-Elheiga, 2009). En las vacas lecheras este intermediario de dos carbonos, se obtiene a partir de la oxidación de los ácidos acético y butírico (Palmquist, 2006). Debido a que la membrana mitocondrial es impermeable al paso de la acetyl-CoA (Brownsey *et al.*, 2006), se requiere del sistema de transporte del tricarboxilato

(figura 8) y de la acción enzimática de la citrato sintasa para convertirla en citrato (Nunes-Nesi *et al.*, 2013) y permitir su paso al citoplasma celular.

**Figura 8.** Sistema tricarboxilato mitocondrial y síntesis de ácidos grasos



**Fuente:** elaboración propia a partir de (Brownsey *et al.*, 2006; Tong y Harwood Jr, 2006; Nunes-Nesi *et al.*, 2013).

Una vez dentro del citoplasma, el citrato es transformado nuevamente en acetil-CoA por la ATP-citrato liasa, obteniéndose además oxaloacetato y adenosín difosfato (Brownsey *et al.*, 2006). Como el proceso para la síntesis de ácidos grasos es muy endérgico, la acetil-CoA debe ser activada mediante carboxilación a través de su unión con el  $\text{HCO}_3^-$  sanguíneo (figura 8) en una reacción que consume ATP, y que está catalizada por la acetil-CoA carboxilasa y la biotina (Tong y Harwood Jr, 2006). Como resultado de este proceso, la acetil-CoA se convierte en malonil-CoA (Saggerson, 2008). Por su parte, el oxaloacetato es reducido por la malato deshidrogenasa a malato, y éste a su vez es convertido en piruvato

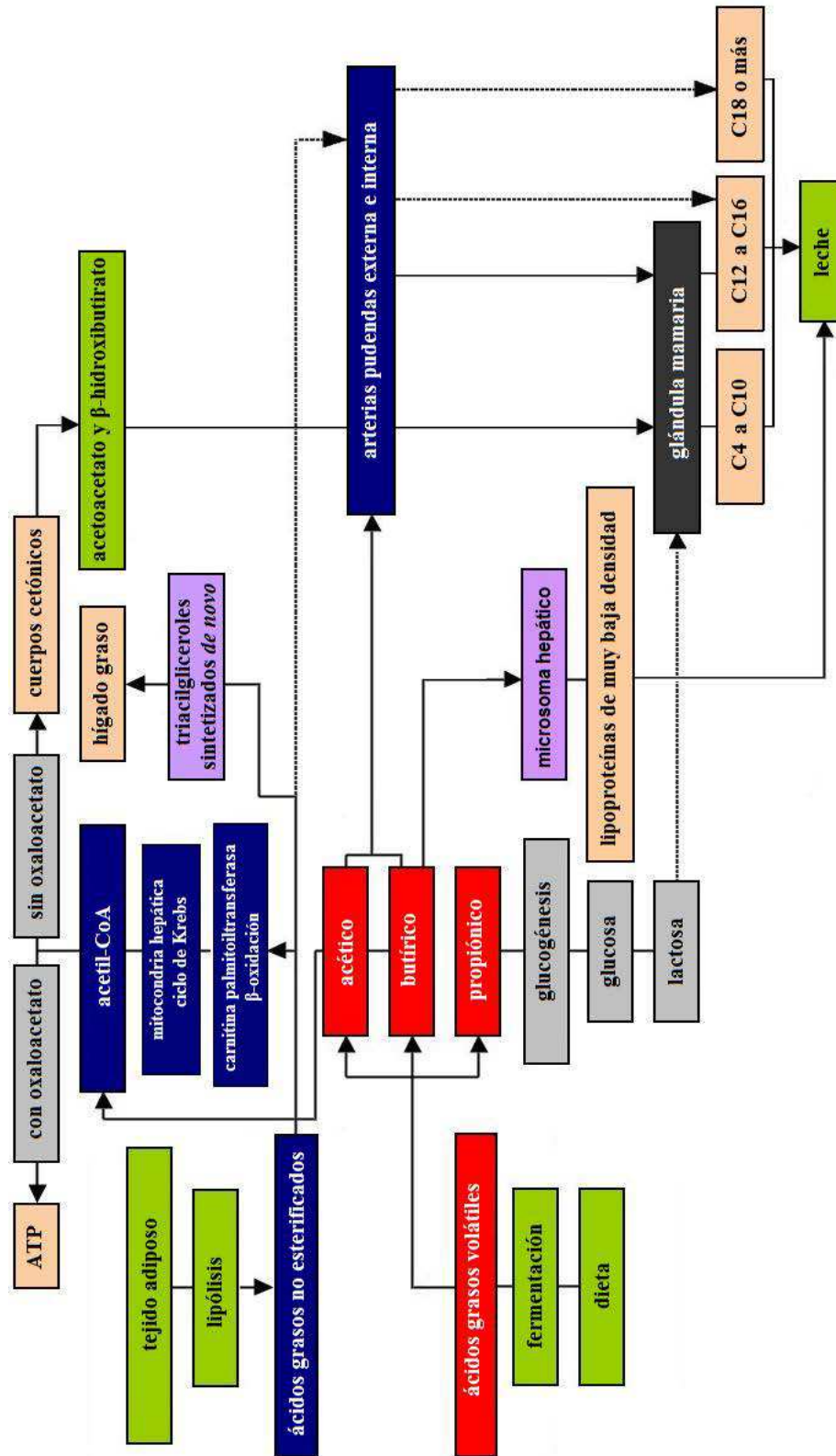
por medio de la enzima málica, produciendo a la donadora de electrones  $\text{NADPH}+\text{H}^+$  requerida para la síntesis de ácidos grasos (Dashty, 2013).

A partir de la malonil-CoA, la síntesis de ácidos grasos se realiza por elongación, mediante el complejo proteico de la ácido graso sintasa (Saggerson, 2008). Este complejo proteico efectúa condensación, reducción, deshidratación y nuevamente reducción condensando grupos de malonil-CoA con acetil-CoA (Hiltunen *et al.*, 2010). Las dos reducciones mencionadas en este proceso, requieren de  $\text{NADPH}+\text{H}^+$  (Dashty, 2013). Durante la elongación se van añadiendo grupos de dos carbonos al ácido graso, obteniendo siempre como producto final palmítico C16:0 (figura 8) (Heid y Keenan, 2005). Posteriormente, este ácido graso saturado es liberado del complejo proteico de la ácido graso sintasa y puede ser desaturado y/o elongado para producir otras moléculas de ácidos grasos (MacGibbon y Taylor, 2006). La desaturación se lleva a cabo por enzimas como la  $\Delta^9$ -estearoil-CoA desaturasa, mediante la introducción de enlaces dobles *cis* entre los carbonos (Jacobs *et al.*, 2013).

En la fracción lipídica de la leche de vaca (figura 9), los ácidos grasos de C4 a C10 son sintetizados *de novo* en la glándula mamaria (Harvatine *et al.*, 2009). Los AGV acético y butírico producidos por la fermentación ruminal de los carbohidratos suministrados en la dieta, sirven como precursores, y los grupos de dos carbonos adicionados durante la elongación, provienen de los cuerpos cetónicos acetoacetato (**AcAc**) y  $\beta$ -HBA producidos en el hígado por  $\beta$ -oxidación mitocondrial (Houten y Wanders, 2010).

Los ácidos grasos de C12 a C16 son sintetizados tanto *de novo* en la glándula mamaria, como transportados en la sangre mediante una unión no covalente con la albúmina (**ALB**) (Bauman *et al.*, 2006). En la glándula mamaria bovina, no es posible la elongación o condensación sucesiva de malonil-CoA con acil-CoA para alargar la forma del ácido graso a cadenas de más de C16, debido a que no existen las enzimas elongasas necesarias (Harvatine *et al.*, 2009). Por lo que, los ácidos grasos C16 y C18 preformados, utilizados para la síntesis de la grasa láctea tienen dos orígenes principales: 1) TAG de origen alimentario, transportados en quilomicrones producidos a nivel intestinal y 2) COL esterificado y libre, transportado en lipoproteínas de muy baja densidad (**VLDLc**) (Nafikov y Beitz, 2007).

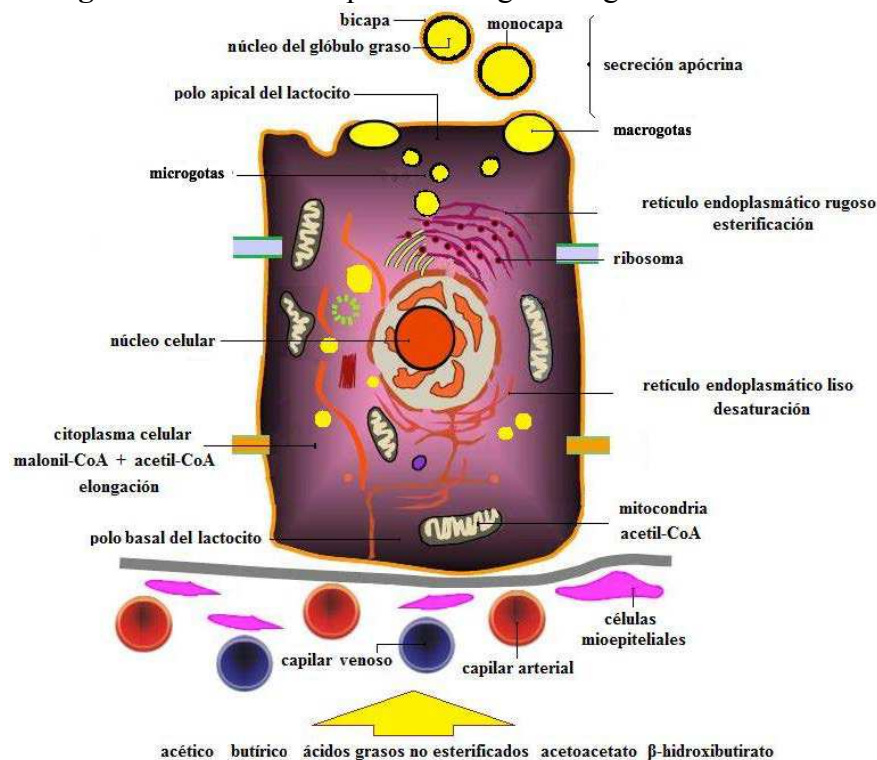
Figura 9. Metabolismo de los ácidos grasos en la vaca lechera



Fuente: (García *et al.*, 2014).

Del total de ácidos grasos absorbidos en el intestino delgado, del 50 al 60 % son transferidos a la leche, donde los ácidos grasos de C16 y C18 tienden a reducir la síntesis *de novo* de los ácidos grasos de C4 a C10 (Lock y Bauman, 2004). Mientras que una cantidad elevada de ácidos grasos C18 *trans* inhibe la síntesis *de novo* y la actividad de la  $\Delta^9$ -estearoil-CoA desaturasa, limitando la conversión de ácidos grasos saturados a monoinsaturados (Moioli *et al.*, 2007). Información que concuerda con lo reportado por Bastin *et al.* (2011), quienes señalaron que las vacas sometidas a una intensa selección genética con el fin de incrementar la producción de leche, presentan menos ácidos grasos de C4 a C10, y una mayor concentración de C18 o más carbonos durante la lactancia temprana. Lo que sugeriría que durante el balance energético negativo (**BEN**), propio de la etapa inicial de la lactancia, las vacas movilizan mayor cantidad de lípidos corporales inhibiendo la síntesis *de novo* en la glándula mamaria. Dentro de la leche, los ácidos grasos están presentes en forma de gotas citosólicas llamadas glóbulos grasos, con diámetros que oscilan entre 1 y 200  $\mu\text{m}$  (Heid y Keenan, 2005), a una concentración de alrededor de 15 000 millones/mL (El-Loly, 2011). La síntesis de la grasa láctea (figura 10), inicia con la esterificación de ácidos grasos a una molécula de glicerol para formar TAG dentro del retículo endoplasmático, seguido por una incorporación de monoacilgliceroles, diacilgliceroles, COL esterificado a un ácido graso, carotenoides y vitaminas liposolubles, lo que conforma el núcleo del glóbulo graso (Walther y Farese Jr, 2009).

**Figura 10.** Secreción apócrina del glóbulo graso en el lactocito



**Fuente:** elaboración propia a partir de (Heid y Keenan, 2005; MacGibbon y Taylor, 2006; El-Loly, 2011).

A continuación este núcleo es revestido por una monocapa de fosfolípidos con propiedades anfipáticas (Contarini y Povolo, 2013), que proyectan las colas apolares hacia los glicéridos y las cabezas polares hacia el agua (Sánchez-Juanes *et al.*, 2009). Estas últimas interactúan con proteínas que refuerzan la estructura de la gota lipídica como la perilipina, la adipofilina, la proteína de interacción de 47 kDa (TIP47) y la S3-12 (Kimmel *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2011). Las gotas lipídicas de tamaño grande, requieren de la perilipina y la adipofilina para estabilizarse, mientras que las pequeñas requieren de la TIP47 y la S3-12 (Wolins *et al.*, 2005).

Las gotas lipídicas pequeñas son liberadas en el citosol del lactocito y se fusionan entre sí, originando gotas lipídicas de mayor tamaño llamadas *macrodroplets* o *droplets* lipídicos citoplasmáticos (El-Loly, 2011). Los *macrodroplets* (figura 10) avanzan de manera unidireccional hacia el polo apical del lactocito, por mecanismos que parecen involucrar elementos del citoesqueleto (Heid y Keenan, 2005). Una vez ahí, los *macrodroplets* pasan al lumen alveolar por secreción apócrina, arrastrando con ellos una porción de la membrana celular y una parte del citoplasma apical con ácidos nucleicos (MacGibbon y Taylor, 2006). Esta información fue confirmada por Zhao *et al.* (2010) mediante microscopía electrónica de transmisión, y el cultivo de células epiteliales mamarias bovinas en un medio enriquecido con insulina, prolactina, hidrocortisona, transferrina, factor de crecimiento epidérmico y suero de ternera fetal. Los autores concluyeron que su modelo fisiológico *in vitro*, puede ser una herramienta eficaz para estudiar la síntesis de leche en la glándula mamaria bovina.

### **V. 3. Componentes proteicos en la leche**

La composición de la proteína es un factor de gran importancia dentro de la industrialización láctea, ya que influye de manera directa sobre el rendimiento y la aptitud tecnológica de la leche. Así p. ej., el contenido de caseína juega un rol importante en la producción de quesos (Čejna y Chládek, 2005). En este proceso, el tratamiento de la leche con la enzima quimosina del cuajo de terneros lactantes, produce la desestabilización de la micela proteica, ya que la  $\kappa$ -Caseína ( $\kappa$ -CN) pierde por proteólisis su región hidrofílica en el segmento caseino-macropéptido, facilitando la agregación del fragmento para- $\kappa$ -CN (Kumar *et al.*, 2010; Jacob *et al.*, 2011). Al ser este componente proteico fundamentalmente hidrofóbico, el contenido de caseína influye directamente en el tiempo de coagulación de todos los quesos y por ende en su calidad y rendimiento (Sorensen *et al.*, 2013).

La leche de vaca presenta un contenido proteico que oscila entre el 3 y el 4 %, distinguiendo tres categorías para el nitrógeno proteico: 1) las caseínas, 2) las proteínas del lactosuero y 3) las proteínas de la membrana del glóbulo graso (cuadro 8) (Swaisgood, 2003). Las caseínas constituyen alrededor del 78 % de las proteínas lácteas, se precipitan cuando se acidifica la leche a un pH de 4.6 y se encuentran unidas principalmente con fosfato de calcio [ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ] en una estructura sólida y esponjosa llamada micela (Farrell Jr *et al.*, 2006; Ferrandini *et al.*, 2006). Esta información concuerda con la reportada por McMahon y Oommen (2008), quienes mediante microscopía electrónica de transmisión, obtuvieron imágenes de la micela de caseína en alta resolución. Dichos autores reportan la presencia de cadenas lineales y ramificadas de dos a cinco proteínas de largo, entrelazadas por *nanoclusters* de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  estabilizados por fosfoserina.

**Cuadro 8.** Principales proteínas presentes en la leche de vaca, gramos/litro y porcentaje

	Abreviatura	g/L	%
<b>Caseínas<sup>a</sup></b>		28.0	78
$\alpha_{S1}$ -Caseína	$\alpha_{S1}$ -CN	12.4	34.7
$\alpha_{S2}$ -Caseína	$\alpha_{S2}$ -CN	3.0	8.3
$\beta$ -Caseína	$\beta$ -CN	7.0	19
$\kappa$ -Caseína	$\kappa$ -CN	4.2	12
$\gamma$ -Caseína	$\gamma$ -CN	1.4	4
<b>Proteínas del lactosuero</b>		7.2	20
$\beta$ -Lactoglobulina	$\beta$ -LG	4.2	11.7
$\alpha$ -Lactoalbúmina	$\alpha$ -LA	1.1	3
<b>Fracción proteosa-peptona</b>	PP	0.8	2.2
Inmunoglobulina G	IgG	0.6	1.7
Inmunoglobulina M	IgM	0.09	0.25
Inmunoglobulina A	IgA	0.01	0.027
Albúmina	ALB	0.3	0.83
Lactoferrina	LF	0.1	0.27
<b>Proteínas de la membrana del glóbulo graso</b>		0.7	2

<sup>a</sup> asumiendo 36 g/L de proteína y 78 % de caseína.

**Fuente:** información sintetizada de (Swaisgood, 2003; Farrell Jr *et al.*, 2006; Barbosa *et al.*, 2012).

Por su parte, las proteínas del lactosuero constituyen el 20 % del nitrógeno proteico total y permanecen en la solución láctea a un pH de 4.6 (Swaisgood, 2003). Por último, las proteínas de la membrana del glóbulo graso, que fueron adheridas durante la secreción apócrina a través de la membrana

celular del lactocito, sólo representan alrededor del 2 % de las proteínas lácteas (Reinhardt y Lippolis, 2006).

Las caseínas de la leche se clasifican en función de su movilidad electroforética como:  $\alpha_{S1}$ -Caseína ( $\alpha_{S1}$ -CN),  $\alpha_{S2}$ -Caseína ( $\alpha_{S2}$ -CN),  $\beta$ -Caseína ( $\beta$ -CN),  $\kappa$ -CN y  $\gamma$ -Caseína ( $\gamma$ -CN) (Farrell Jr *et al.*, 2004; Barbosa *et al.*, 2012). Estas caseínas tienen una notable capacidad para estabilizar la fracción proteica de la leche, es decir, para inhibir la agregación y precipitación de las proteínas por cualquier tipo de estrés. Esta actividad es comparable a la observada en las chaperonas moleculares de la familia de proteínas de choque térmico (Thorn *et al.*, 2005).

La  $\alpha_{S1}$ -CN es el nitrógeno proteico de mayor concentración en la leche de vaca (Farrell Jr *et al.*, 2004), tiene 17 restos de prolina distribuidos a lo largo de toda su cadena, 199 aminoácidos (AA) con ocho o nueve grupos fosfato para interactuar con ion calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), tres regiones no polares o hidrofóbicas y una zona polar o hidrofílica de carga neta negativa, en la que se encuentran la mayoría de los grupos fosfato proporcionando a la leche un pH de 6.6 (Horne, 2006; Dalgleish y Corredig, 2012). La  $\alpha_{S2}$ -CN está formada por 207 AA con 13 grupos fosfato para interactuar con  $\text{Ca}^{2+}$ , muy pocos restos de prolina y un enlace disulfuro entre las cisteínas (Farrell Jr *et al.*, 2006). La  $\alpha_{S2}$ -CN es más hidrofílica que la  $\alpha_{S1}$ -CN ya que tiene tres zonas polares y sólo una región no polar con AA hidrofóbicos y carga neta positiva (Swaisgood, 2003).

La  $\beta$ -CN consta de 209 AA, con cinco grupos fosfato para interactuar con  $\text{Ca}^{2+}$ , no presenta cisteína, pero es la caseína con el mayor número de residuos de prolina (Farrell Jr *et al.*, 2004). Esta caseína tiene una división clara entre su región polar y su zona no polar, constituida por una gran cantidad de AA hidrofóbicos (Swaisgood, 2003). La  $\beta$ -CN presenta actividad de tipo chaperón cuando forma la micela de caseína (Zhang *et al.*, 2005). Esta actividad es causada por el elevado número de residuos de prolina presentes en su estructura y por sus superficies hidrófobas expuestas. Thorn *et al.* (2005) confirmaron lo anterior al reportar la actividad de las  $\alpha_{S1}$ -CN,  $\alpha_{S2}$ -CN y  $\beta$ -CN como potentes inhibidores de la formación de  $\kappa$ -CN fibrilar. Estos autores propusieron que la actividad de tipo chaperón observada en estas caseínas, puede jugar un papel profiláctico en el desarrollo de depósitos de amiloide en el tejido mamario. La  $\beta$ -CN sufre una hidrólisis enzimática en la leche, producida por una proteinasa de origen sanguíneo, lo que origina fragmentos proteicos llamados  $\gamma$ -CN, y fragmentos todavía más pequeños que reciben el nombre de fracción proteosa-peptona (PP) (Swaisgood, 2003).



La  $\kappa$ -CN está formada por 169 AA, y presenta una glucosilación con los residuos de serina en varios segmentos de su molécula (Swaisgood, 2003). Presenta únicamente un grupo fosfato, generando una interacción con el  $\text{Ca}^{2+}$  mucho menor en comparación con las otras caseínas (Farrell Jr *et al.*, 2006; McMahon y Oommen, 2008). Esta información fue respaldada por Muller-Buschbaum *et al.* (2007), al estudiar el efecto de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  sobre la estructura de las micelas mediante espectroscopía de dispersión de Rayos X y microscopía de fuerza atómica. Estos autores observaron que al aumentar el  $\text{Ca}^{2+}$ , el tamaño de los agregados se incrementaba, mientras que el tamaño de las micelas disminuía, concluyendo que la  $\kappa$ -CN estabiliza la circunferencia de las micelas, evitando la precipitación de la  $\alpha_{\text{S1}}$ -CN,  $\alpha_{\text{S2}}$ -CN y  $\beta$ -CN por acción del  $\text{Ca}^{2+}$ .

Dentro de la industrialización láctea, las proteínas del lactosuero se utilizan principalmente en la fabricación de preparaciones alimenticias (Luhovyy *et al.*, 2007), fórmulas lácteas infantiles (Peso *et al.*, 2012), y como hidrogeles para la encapsulación y liberación controlada de compuestos bioactivos (Gunasekaran *et al.*, 2007; Livney, 2010). El nitrógeno proteico del lactosuero incluye a la  $\beta$ -Lactoglobulina ( **$\beta$ -LG**),  $\alpha$ -Lactoalbúmina ( **$\alpha$ -LA**), la PP, inmunoglobulinas, ALB y otros compuestos nitrogenados minoritarios como la lactoferrina (**LF**) (Swaisgood, 2003; Farrell Jr *et al.*, 2004). La  $\beta$ -LG, es una importante fuente de péptidos biológicamente activos, su estructura está formada por 162 AA con dos enlaces disulfuro, y posee un grupo tiol libre en *cis*-121, formado por un átomo de S y uno de ion hidrógeno ( **$\text{H}^+$** ) (Hernández-Ledesma *et al.*, 2008). Es precisamente este tiol libre, el que le otorga a la  $\beta$ -LG su capacidad antioxidante (Liu *et al.*, 2007). Estos autores provocaron la reticulación de este tiol libre calentando la leche a 100 °C durante 2 min, lo que promueve la formación de una red tridimensional de cadenas poliméricas homogéneas en el *cis*-121, y una pérdida sustancial de la actividad antioxidante. Se concluye que para mantener el carácter protector de la  $\beta$ -LG hacia los radicales libres, los productos lácteos que se consumen regularmente, no deberían calentarse en exceso.

La estructura de la  $\alpha$ -LA, consta de 123 AA, organizados en una estructura terciaria globular, mantenida por cuatro enlaces disulfuro (Swaisgood, 2003). La  $\alpha$ -LA, también posee un sitio de fuerte fijación con el  $\text{Ca}^{2+}$ , y desde el punto de vista nutricional, esta proteína del lactosuero es muy importante en la preparación de fórmulas lácteas, debido a su elevado contenido en AA esenciales, particularmente triptófano (Peso *et al.*, 2012). La ALB está formada por 528 AA, y es la misma proteína que se encuentra en la sangre (Livney, 2010). Por su parte, la LF es una glucoproteína fijadora de hierro, que puede encontrarse en sus dos estados estables de oxidación: ion ferroso ( **$\text{Fe}^{2+}$** ) y ion férrico ( **$\text{Fe}^{3+}$** ) en la leche. La LF participa en una amplia gama de funciones fisiológicas, tales como actividades antibacterianas,

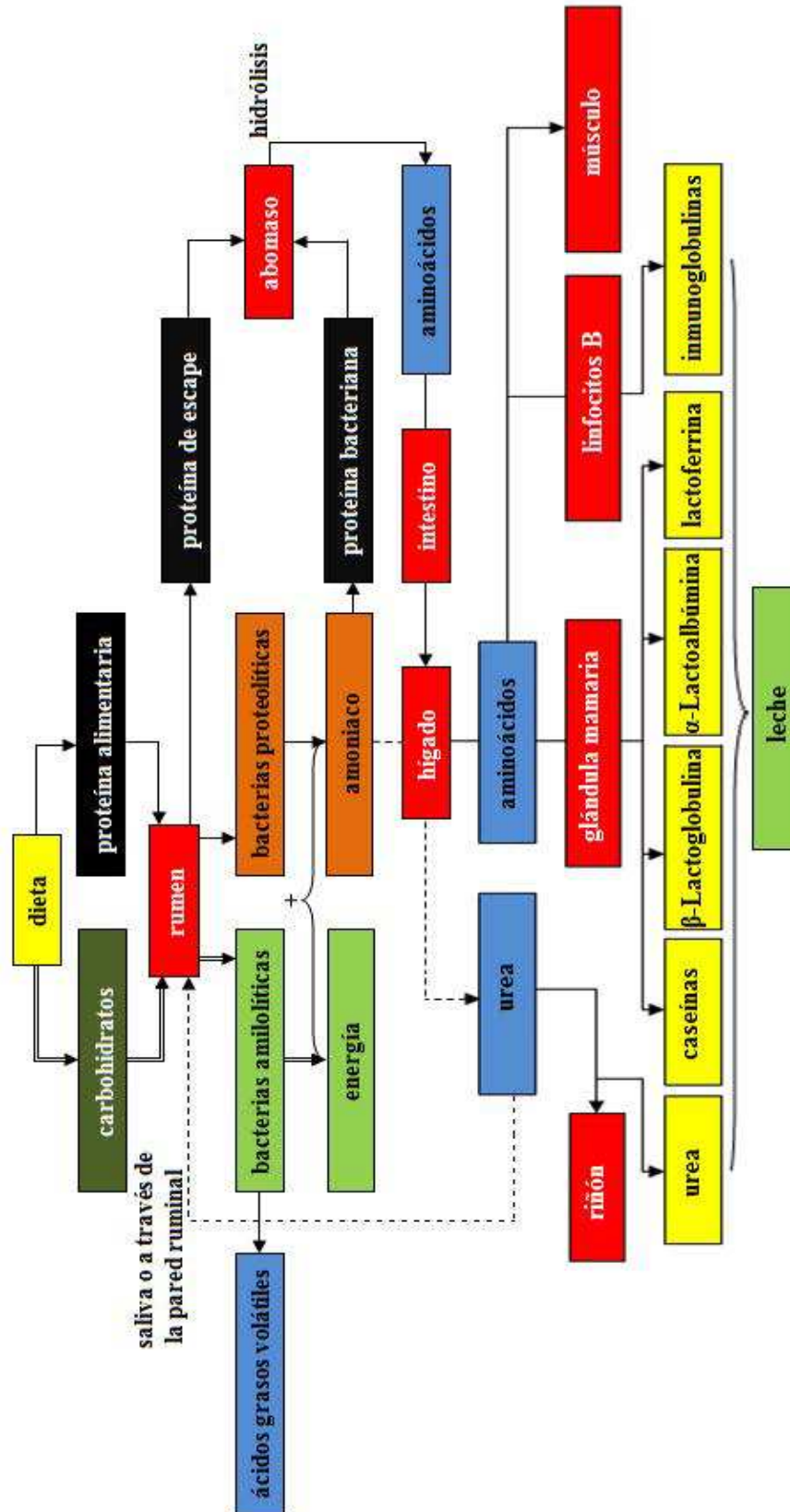
antivirales, inmunomoduladoras y antioxidantes (Wakabayashi *et al.*, 2006). La LF bovina se obtiene de productos lácteos, y debido a la utilidad industrial de esta glucoproteína la *Food and Drug Administration* (FDA), en Estados Unidos, aprobó la aplicación de LF recombinante humana de *BioPharming* y de LF bovina en spray de *Ventures LLC*, como nutracéutico y antibacteriano en carne de res cruda, respectivamente (Drago, 2007).

#### V. 4. Síntesis de la proteína láctea

Las proteínas suministradas a través de la dieta, son degradadas hasta amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) por bacterias proteolíticas nativas del rumen p. ej., *Bacteroides amylophilus*, *Bacteroides rumenicola*, y algunas cepas de *Butyrivibrio fibrisolvens* (Deng *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2009). Este gas sirve como sustrato de nitrógeno para el crecimiento bacteriano, y su metabolismo depende directamente de la energía producida a través de la fermentación de los carbohidratos suministrados en la dieta (Bach *et al.*, 2005). La transferencia de  $\text{NH}_3$  se relaciona linealmente con el pH del fluido ruminal, utilizando dos formas de transporte: 1) con un  $\text{pH} > 7$  se propaga como  $\text{NH}_3$  asociado a lípidos y 2) con un  $\text{pH} < 6.5$  se moviliza como ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) a través de los canales de ion potasio ( $\text{K}^+$ ) localizados en la membrana del rumen (Abdoun *et al.*, 2007). Generalmente una porción de la proteína alimentaria resiste a la proteólisis ruminal y pasa al abomaso sin ser degradada (Bach *et al.*, 2005), lo que concuerda con lo reportado por Broderick *et al.* (2010) quienes utilizando un muestreo con triple marcador a nivel omaso, cuantificaron el flujo del nitrógeno. Estos autores reportan que el 68 % de la proteína alimentaria fue degradada a nivel ruminal, mientras que el 32 % restante escapó de la proteólisis. Por su parte, la proteína bacteriana del rumen se adhiere a las partículas de alimento fermentado y así entra también en el abomaso (figura 11), donde pierde sus enlaces peptídicos por hidrólisis (Bach *et al.*, 2005). Este proceso enzimático, libera los AA de su estructura molecular, para ser absorbidos a nivel intestinal y transportados vía porta al hígado (Goff, 2006).

Además de la ruta metabólica antes descrita, los rumiantes poseen una vía de reciclaje para el  $\text{NH}_4^+$  (Reynolds y Kristensen, 2008). En el hígado, forma urea y pasa nuevamente al torrente sanguíneo (figura 11), donde puede seguir tres rutas metabólicas: 1) regresar al rumen vía saliva, o a través de las capas epiteliales del rumen con la ayuda de proteínas transportadoras de urea UT-B (Simmons *et al.*, 2009), 2) viajar al riñón y con la ayuda de proteínas transportadoras de urea UT-A ser excretada en la orina (Marini y van Amburgh, 2003) y 3) formar parte de la fracción no proteica de la leche (Burgos *et al.*, 2007).

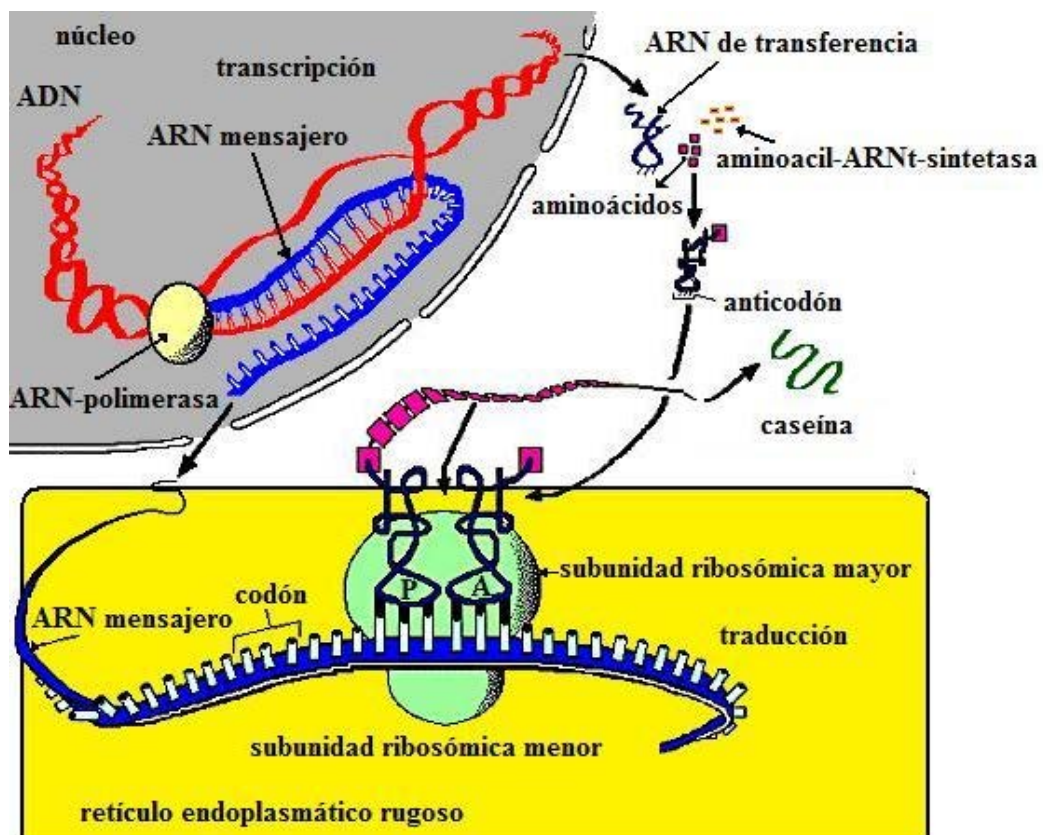
Figura 11. Metabolismo del nitrógeno en la vaca lechera



Fuente: (García *et al.*, 2014).

La síntesis de la proteína láctea comienza en el núcleo del lactocito, donde se transcribe el ácido ribonucleico de transferencia (ARNt). La enzima ARN-polimerasa realiza la transcripción del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) a partir de una secuencia de ácido desoxirribonucleico (ADN), que sirve como patrón o molde de la información genética (Gebauer y Hentze, 2004). El ARNm y el ARNt se exportan entonces al citoplasma (figura 12). El ARNm se transporta hasta el retículo endoplasmático rugoso, y forma un puente entre la subunidad ribosómica menor y la mayor (Ben-Shem *et al.*, 2011). Por su parte, los ARNt tienen que unirse con sus 20 diferentes aminoacil-ARNt-sintetasas (aaRS). Cada una de éstas es específica para fijar a cada tipo de AA (Ling *et al.*, 2009).

**Figura 12.** Transcripción y traducción proteica en el lactocito



sitio peptidil : P.  
sitio aminoacil : A.

Fuente: elaboración propia a partir de (Gebauer y Hentze, 2004; Ling *et al.*, 2009; Ben-Shem *et al.*, 2011).

La aminoacilación se produce en dos pasos: 1) el AA se activa por primera vez en el sitio de la aaRS con ATP para formar aminoacil-adenilatos y 2) el AA se transfiere al extremo 3' del ARNt (Jakubowski, 2012). Una vez que se lleva a cabo este proceso, los AA adheridos al ARNt (figura 12) son transportados hasta el retículo endoplasmático rugoso (Ben-Shem *et al.*, 2011). El complejo ribosomal

posee dos sitios de unión: 1) el sitio peptidil o sitio P y 2) el sitio aminoacil o sitio A (Berk *et al.*, 2006). La traducción se lleva a cabo en los ribosomas, mediante la lectura de tripletes (de tres en tres nucleótidos) llamados: codón para el ARNm y anticodón para el ARNt (Hellen y Sarnow, 2001).

La primera etapa de traducción, comienza cuando el extremo 5' del ARNm se inserta en la subunidad ribosómica menor, exponiendo el codón iniciador adenina-uracilo-guanina o AUG para su unión con el primer anticodón uracilo-adenina-citosina o UAC, en el sitio P, originando metionina como primer AA (Steitz, 2008). Posteriormente, un segundo codón se coloca frente al sitio A y un anticodón para ese segundo codón se fija a la molécula (Berk *et al.*, 2006).

Cuando el sitio P y el sitio A de la subunidad ribosómica mayor están ocupados simultáneamente, la enzima peptidil transferasa establece un enlace peptídico entre los dos AA, insertando el primero en el segundo (Polacek y Mankin, 2005). A continuación, codón y anticodón se van asociando de manera precisa según la complementariedad de sus bases, y esta secuencia de pasos es repetida según el número de AA que contenga el polipéptido (Steitz, 2008).

Los codones uracilo-adenina-adenina o UAA, uracilo-adenina-guanina o UAG y uracilo-guanina-adenina o UGA no tienen ningún anticodón, por lo tanto, la biosíntesis del polipéptido se interrumpe cuando éstos aparecen para su lectura en el complejo ribosomal, indicando que la formación de la cadena polipeptídica ha terminado (Berk *et al.*, 2006). Como resultado de este proceso de traducción, se sintetizan las diferentes caseínas.

Sin embargo, la  $\alpha_{S1}$ -CN, la  $\alpha_{S2}$ -CN, la  $\beta$ -CN y la  $\kappa$ -CN no se traducen con la misma eficiencia, ya que al cuantificar mediante fraccionamiento por HPLC de fase reversa y PCR en tiempo real, las proporciones de cada mensajero (% de proteína en leche/% de transcripción en tejido mamario), se encontró que las transcripciones de  $\alpha_{S1}$ -CN y  $\beta$ -CN, son entre tres y cuatro veces más eficientes que las de  $\alpha_{S2}$ -CN y  $\kappa$ -CN (Bevilacqua *et al.*, 2006). Esto explicaría las diferencias en las concentraciones caseínicas en la leche de vaca. Por último, en el aparato de Golgi, las caseínas agregan  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  al núcleo hidrofóbico de la micela durante su empaquetamiento en vesículas secretoras, y durante su migración a través del citoplasma, fijan citrato y otros iones que interactúan con su forma soluble (Farrell Jr *et al.*, 2006; Ferrandini *et al.*, 2006).

## V. 5. Perfiles metabólicos en el ganado lechero

La relación entre el equilibrio nutricional, el estado metabólico, y el análisis de los diferentes analitos bioquímicos en los animales, ha sido bien documentada en el contexto de la investigación experimental (Bouda *et al.*, 2005), al establecer que la aplicación adecuada de dicha relación, puede proveer información para evaluar el estado productivo y patológico del hato (Bojkovski *et al.*, 2011). Por esta razón médicos veterinarios zootecnistas, productores y consultores en nutrición animal, están interesados en el uso de los perfiles metabólicos sanguíneos.

El perfil metabólico, es definido como una serie de pruebas analíticas específicas, realizadas en combinación y utilizadas como un apoyo en el diagnóstico de patologías productivas a nivel hato, más que de manera individual (Prodanović *et al.*, 2012). El uso de los perfiles metabólicos es posible gracias al desarrollo tecnológico, particularmente en la instrumentación analítica, que permite realizar análisis múltiples de manera automatizada reduciendo los tiempos (Whitaker, 2000).

La utilización del estudio de perfiles metabólicos en ganado lechero, fue introducida al inicio de los años setenta (Payne, 1972; Payne *et al.*, 1973; Payne *et al.*, 1974). Los objetivos originales de esta metodología fueron: a) monitorear la salud metabólica del hato, es decir ayudar en el diagnóstico de problemas metabólicos y patologías de producción y b) localizar vacas superiores en términos de su capacidad metabólica. La compleja interpretación de los resultados, debido a la falta de especificidad para diferenciar los hatos normales de aquellos que podían considerarse como hatos problema, sumado al elevado costo y al escaso beneficio obtenido en términos de diagnóstico, ocasionaron una limitación importante en la aplicación de esta metodología de forma masiva y generaron críticas que cuestionaban el hecho de realizar tantos análisis, cuando sólo algunos de los resultados lograban diagnósticos útiles y de aplicación práctica.

El enfoque de esta metodología ha sido adaptado y modificado desde entonces (Whitaker, 2000; Bojkovski *et al.*, 2011; Bjerre-Harpoth *et al.*, 2012), logrando que el avance científico en la utilización de los perfiles metabólicos en hatos lecheros, desde la década de los setenta hasta nuestros días, haya permitido clarificar muchos tópicos en relación al período de transición de la vaca lechera (van Saun, 2006).

Actualmente, la tendencia al incremento en el tamaño de los hatos, así como el reconocimiento de las consecuencias que, en términos de salud, producción y economía, tienen las patologías clínicas y subclínicas del período de transición (van Saun, 2010), han generado un renovado interés en la utilización de los perfiles metabólicos, aplicándolos al monitoreo de la salud de la vaca lechera, sobre todo para evaluar los riesgos de presentar patologías metabólicas y su detección en etapa temprana.

### **Perfil energético**

La complejidad en el metabolismo de la energía, dificulta la selección de indicadores confiables para el estado energético. Así p. ej., la digestión de los rumiantes, permite que muy poca GLU entre al torrente sanguíneo directamente del tracto digestivo (Nafikov y Beitz, 2007). Razón por la cual, una anomalía en su concentración sanguínea, como la hipoglucemia, puede originarse debido a una falla en el hígado y no necesariamente por una deficiencia en su ingesta (Duffield *et al.*, 2009). Por su parte, en los no rumiantes los procesos digestivos permiten la absorción directa de GLU proveniente del tracto digestivo, como principal ruta de entrada al torrente sanguíneo, por lo que reducciones temporales en la ingesta alimentaria pueden conducir a una hipoglucemia transitoria, seguida de una elevación después de las comidas (Nafikov y Beitz, 2007).

Considerando las situaciones metabólicas antes descritas, las pruebas analíticas que involucren GLU, deben interpretarse cuidadosamente para eludir errores relacionados con la ingestión alimentaria. El escenario se agrava aún más, si se utiliza sangre total, ya que no es un indicador exacto del balance energético como lo es la GLU plasmática (Bouda *et al.*, 2005). Si a esta situación le agregamos la acción de las enzimas glicolíticas que descomponen la GLU después de la colecta sanguínea (van Saun, 2006), se hace necesario realizar los análisis químicos rápidamente, o utilizar un anticoagulante apropiado en caso de no ser posible procesar las muestras en la semana siguiente a su colecta. Conforme a las referencias internacionales, en vacas lactantes el nivel óptimo de GLU es de  $3.19 \pm 0.38$  mM (Kaneko *et al.*, 2008; Quiroz-Rocha *et al.*, 2009), y conocer la concentración de otros analitos como los TAG, con una concentración recomendable internacionalmente de  $0.10 \pm 0.10$  mM en vacas lactantes (Kaneko *et al.*, 2008), permite revisar si existen anomalías que no estén asociadas con la nutrición.

El  $\beta$ -HBA es estable en la sangre por varios días después de su colecta (Duffield *et al.*, 2009). De acuerdo a las referencias internacionales, en vacas lactantes su nivel recomendable es de  $0.41 \pm 0.03$  mM (Kaneko *et al.*, 2008). Este cuerpo cetónico refleja el grado de movilización lipídica como fuente de energía (van Saun, 2010), asociando valores de COL por encima de la referencia de  $2.59 \pm 0.51$  mM (Kaneko *et al.*, 2008) y un alto grado de BEN (Duffield *et al.*, 2009). Por lo que, concentraciones de  $\beta$ -HBA entre 1.0 y 1.40 mM corresponden a vacas con cetosis subclínica (Goldhawk *et al.*, 2009).

Los AGNE son un indicador menos directo de la movilización lipídica que el  $\beta$ -HBA y acorde a las referencias internacionales, en vacas lactantes su nivel óptimo es de  $0.40 \pm 0.20$  mM (Kaneko *et al.*, 2008). Información que concuerda con lo reportado por Cozzi *et al.* (2011) al indicar que concentraciones por encima de 0.70 mM en un BEN, ocasionan la acumulación de TAG en el citosol hepático produciendo hígado graso, condición que ha sido asociada con varias patologías metabólicas durante el período de transición de la vaca lechera p. ej., cetosis y desplazamiento de abomaso (Duffield *et al.*, 2009).

El metabolismo de las lipoproteínas difiere en cada especie, p. ej., conejos, camélidos, cerdos y la mayor parte de los monos, muestran predominancia de lipoproteínas de baja densidad (**LDLc**) en su circulación sanguínea, al igual que en el humano (Harvatine *et al.*, 2009). En estas especies, un incremento de TAG y COL producto de la alimentación se refleja rápidamente en un aumento de LDLc. Por otro lado, rumiantes, equinos, ratas, felinos y caninos son de patrón metabólico HDLc, por lo que presentan incrementos de HDLc como respuesta al aumento de TAG y COL producto de la alimentación. En vacas lactantes el nivel óptimo de HDLc y LDLc es de  $2.80 \pm 0.70$  mM y  $0.90 \pm 0.50$  mM respectivamente (Salazar *et al.*, 2009).

## **Perfil proteico**

La urea es un buen indicador de la cantidad de proteína degradable en rumen (**PDR**) y el balance de ésta, con la energía metabolizable (**EM**). Conforme a las referencias internacionales, en vacas lactantes el nivel óptimo de urea es de  $8.90 \pm 1.80$  mM (Kaneko *et al.*, 2008; Quiroz-Rocha *et al.*, 2009). Valores bajos de urea, son de mayor importancia desde el punto de vista práctico y nutricional (Bouda *et al.*, 2005), pero debe distinguirse entre valores bajos ocasionados por una reducción en la ingesta alimentaria total, y los originados por la escasez de PDR directamente en la dieta (Whitaker, 2000).



La ALB es una proteína sintetizada en el hígado, cuya función principal es transportar AGNE dentro del torrente sanguíneo, su concentración recomendable es de  $3.29 \pm 0.13$  g/dL (Kaneko *et al.*, 2008) y su reducción refleja insuficiencia hepática, o un aporte pobre de AA alimentarios (Whitaker, 2000). Conforme a las referencias internacionales, el valor recomendable de proteína-total (**PROT-T**) es de  $7.10 \pm 0.18$  g/dL y su diferencia con la ALB indica la concentración de globulinas (**GLOB**), con un nivel óptimo de acuerdo a las referencias internacionales, de  $3.24 \pm 0.24$  g/dL (Kaneko *et al.*, 2008).

La concentración de GLOB se incrementa como respuesta a un proceso inflamatorio agudo o crónico p. ej., mastitis, metritis, o laminitis. Por lo tanto, es necesario establecer si el origen del incremento de este analito, es por una patología individual o si se trata de un problema a nivel hato (van Saun, 2010).

### **Perfil mineral**

La concentración óptima de  $\text{Ca}^{2+}$  es de  $2.78 \pm 0.15$  mM, la de fosfato inorgánico ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) es de  $1.95 \pm 0.15$  mM y para el ion magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) es de  $0.84 \pm 0.10$  mM acorde a las referencias internacionales (Bouda *et al.*, 2005; Kaneko *et al.*, 2008; Quiroz-Rocha *et al.*, 2009). Sin embargo, es importante destacar el hecho de que la mayoría de estos minerales son regulados por mecanismos homeostáticos sumamente estables, ocasionando que su concentración sanguínea no refleje su aporte nutricional cuando dichos mecanismos funcionan de manera adecuada (Herdt y Hoff, 2011). A pesar de lo anterior, es interesante señalar que estudios retrospectivos relativamente recientes, encontraron una asociación entre las concentraciones sanguíneas de estos minerales y la incidencia de patologías metabólicas p. ej., hipocalcemia y síndrome de la vaca caída, durante las cuatro semanas anteriores y posteriores al parto (van Saun *et al.*, 2006).

La asociación significativa entre los electrolitos sanguíneos sodio ( $\text{Na}^+$ ),  $\text{K}^+$ , cloruro ( $\text{Cl}^-$ ),  $\text{HCO}_3^-$  y  $\text{CO}_2$  con diferentes patologías metabólicas durante el período de transición de la vaca lechera, sugiere que el equilibrio hídrico y ácido-básico desempeña un papel importante en la patogénesis de estas patologías (van Saun, 2010). La concentración recomendable de  $\text{Na}^+$  conforme a las referencias internacionales, es de  $142 \pm 10$  mM, la de  $\text{K}^+$  es de  $4.8 \pm 1.0$  mM, para el  $\text{Cl}^-$  es de  $104 \pm 7$  mM, el  $\text{HCO}_3^-$  se encuentra en  $23 \pm 6$  mM y el  $\text{CO}_2$  en  $26.5 \pm 5.7$  mM (Bouda *et al.*, 2005; Kaneko *et al.*, 2008).

## Perfil enzimático

De manera complementaria a los analitos antes descritos, la principal enzima que suele cuantificarse es la  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa ( $\gamma$ -GT) con una concentración óptima de  $15.70 \pm 4.0$  U/L, y en ocasiones se determina también la aspartato aminotransferasa (AST) cuya concentración es de  $105 \pm 27$  U/L y la alanina-aminotransferasa (ALT) con  $27 \pm 14$  U/L (Kaneko *et al.*, 2008). La razón para su determinación es establecer mediante ellas, marcadores bioquímicos del funcionamiento hepático. Desafortunadamente, una elevación en cualquiera de estas enzimas no permite realizar un diagnóstico directo sobre el origen del daño hepático, ya que al estar presentes en más tejidos p. ej., músculo esquelético, si este recibe algún daño también elevará su concentración sérica (Whitaker, 2000). Por lo que conocer otros analitos como el  $\beta$ -HBA y los AGNE, permite complementar la información.

## VI. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

A pesar de que los médicos veterinarios zootecnistas nacionales, utilizan los cambios en los diferentes perfiles metabólicos como una herramienta de diagnóstico nutricional y de la salud del ganado mexicano, los valores de referencia que cotejan son los reportados por la literatura internacional. Sin embargo, dichos valores reflejan condiciones generales de producción muy distintas a las existentes en el sector lechero nacional. También es oportuno considerar que en la actualidad no se ha realizado ningún estudio en México dirigido al establecimiento de valores de referencia para diferentes analitos bioquímicos, en establos tecnificados de la cuenca lechera más importante de la región agroecológica-ganadera templada: el Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca Hidalgo (SFA-SAGARPA, 2013), por lo que esta información se consideraría inédita a nivel país.

De igual manera se carece de un estudio que cuantifique la relación entre diferentes perfiles metabólicos, con respecto a la producción de grasa y proteína de leche en bovinos mexicanos, así como la posibilidad de utilizar esta asociación, para generar modelos de simplificación biológica que describan el comportamiento de los principales sólidos con implicaciones económicas en la leche mexicana y analizar las respuestas metabólicas causadas por dicha producción.

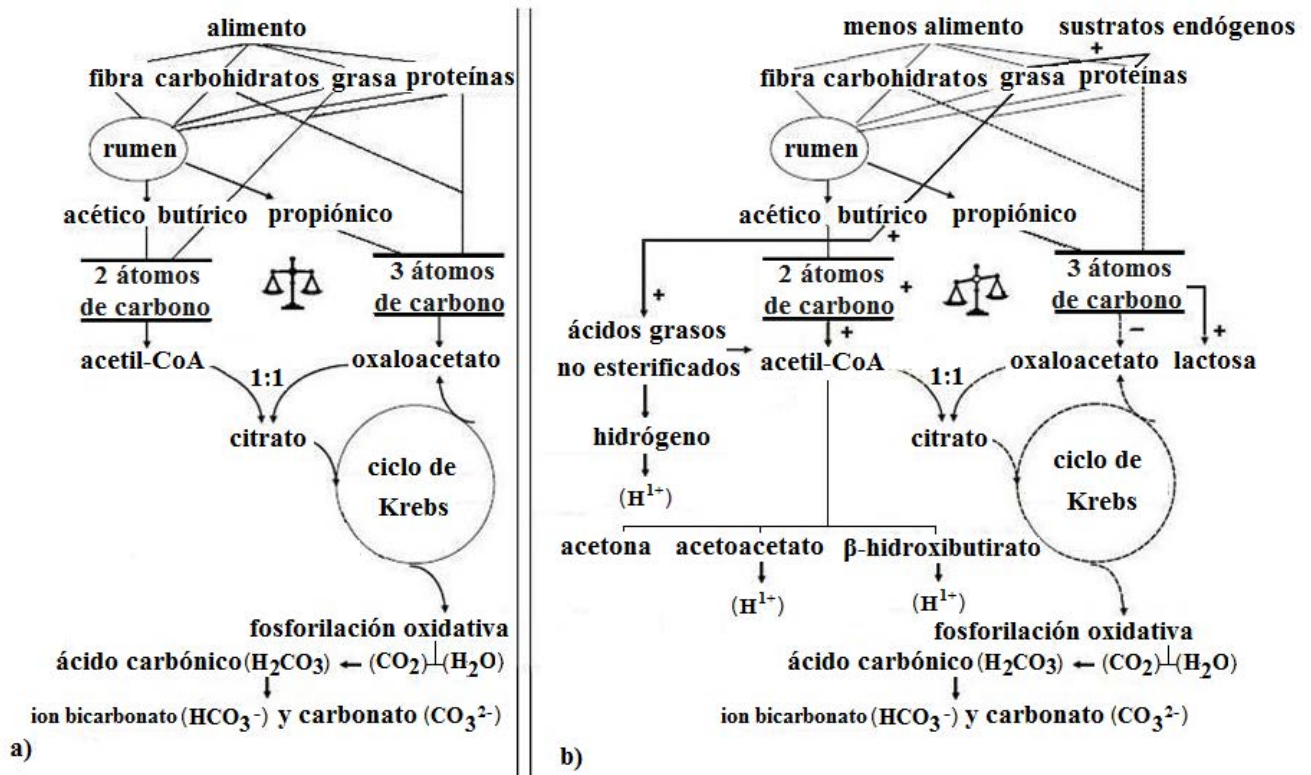
## VII. JUSTIFICACIÓN METODOLÓGICA

Los trastornos metabólicos en su etapa inicial, generan alteraciones bioquímicas en los líquidos corporales p. ej., orina, líquido ruminal y sangre (Bauman *et al.*, 2006) y más tarde ocasionan una disminución en la producción láctea, modifican la relación grasa: proteína de la leche, generan problemas reproductivos, así como un aumento en la morbilidad y mortalidad de las crías (Duffield *et al.*, 2009). En el caso de la modificación lipídica y proteica, al considerar que la glándula mamaria sintetiza alrededor del 80 % de los nutrientes lácteos a partir de la sangre (Palmquist, 2006; El-Loly, 2011) reflejando la existencia de un equilibrio isotónico entre la sangre y la leche (Frandsen *et al.*, 2009), es claro que las concentraciones de los analitos bioquímicos representan un índice integrado del adecuado suministro de nutrientes a la glándula mamaria, indicando de manera inmediata el estado nutricional exacto en un tiempo determinado en la vaca, permitiendo discriminar factores de riesgo como patologías metabólicas (Ceballos *et al.*, 2002).

Los perfiles energético y proteico se seleccionaron debido a que la interacción entre sus analitos, refleja el grado de movilización lipídica y proteica que realiza el organismo para asegurar el suministro de nutrientes hacia la glándula mamaria (Goldhawk *et al.*, 2009; Quiroz-Rocha *et al.*, 2009). La enzima  $\gamma$ -GT se eligió al considerar que el funcionamiento del hígado, afecta directamente la producción de grasa y proteína láctea, ya que es el órgano responsable de realizar los ajustes metabólicos necesarios, para ajustar el estado de equilibrio energético en la vaca, y asegurar la producción de la leche (Bouda *et al.*, 2005; Čejna y Chládek, 2005).

Por último, el perfil mineral se escogió considerando que la tendencia fisiológica de la vaca para responder a las deficiencias energéticas por medio del catabolismo y la utilización de sus tejidos corporales, origina cetosis subclínica con la biosíntesis de AcAc y  $\beta$ -HBA (figura 13). Estos cuerpos cetónicos, por su carácter ácido, son capaces de reducir la capacidad de amortiguación natural del  $\text{HCO}_3^-$ , y por lo tanto, incrementan el déficit aniónico en la sangre, y originan cambios en el pH por movimientos de electrolitos, agua y  $\text{CO}_2$  (Kraut y Madias, 2010).

**Figura 13.** Ajustes en el metabolismo energético-proteico, hepático y mineral-electrolítico



**Fuente:** modificado a partir de (García y Montiel, 2011).

Este proyecto de investigación pretende generar modelos de simplificación biológica, que cuantifiquen la relación entre los analitos y la producción de grasa y proteína de la leche. El empleo de este método tiene el fin de proporcionar mejores criterios de decisión para los médicos veterinarios zootecnistas, productores y consultores en nutrición animal, para coadyuvar no sólo en el manejo de la relación grasa: proteína de la leche, sino también en la identificación de cuáles analitos realizan ajustes en su concentración sanguínea, como respuesta a la producción de grasa y proteína láctea. Además, los indicadores que aquí se obtengan, pueden ser el punto de partida para elaborar propuestas técnicas que ayuden a refinar la competitividad de la lechería mexicana y efectuar comparaciones entre diferentes zonas agroecológicas, niveles de tecnificación y con otros países.

## VIII. OBJETIVOS

### VIII. 1. General

Cuantificar la relación entre diferentes perfiles metabólicos y la producción de grasa y proteína de leche, en vacas Holstein sanas de establos tecnificados del Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca Hidalgo.

### VIII. 2. Particulares

1. Establecer valores de referencia para diferentes analitos bioquímicos, en establos tecnificados del Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca Hidalgo que consideren:
  - el perfil energético: GLU, COL, TAG,  $\beta$ -HBA y AGNE.
  - el perfil proteico: urea, ALB, GLOB y PROT-T.
  - el perfil mineral:  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$  y déficit aniónico.
  - la enzima:  $\gamma$ -GT.
  
2. Identificar correlaciones entre la concentración de diferentes analitos bioquímicos, y la producción de grasa y proteína de leche, en cuanto a:
  - Perfil energético – grasa.
  - Perfil energético – proteína.
  - Perfil energético – relación grasa: proteína.
  
  - Perfil proteico – grasa.
  - Perfil proteico – proteína.
  - Perfil proteico – relación grasa: proteína.
  
  - Perfil mineral – grasa.
  - Perfil mineral – proteína.
  - Perfil mineral – relación grasa: proteína.

- $\gamma$ -GT – grasa.
  - $\gamma$ -GT – proteína.
  - $\gamma$ -GT – relación grasa: proteína.
3. Comparar la concentración de analitos bioquímicos correlacionados con la producción de grasa y proteína de leche a través del tiempo.

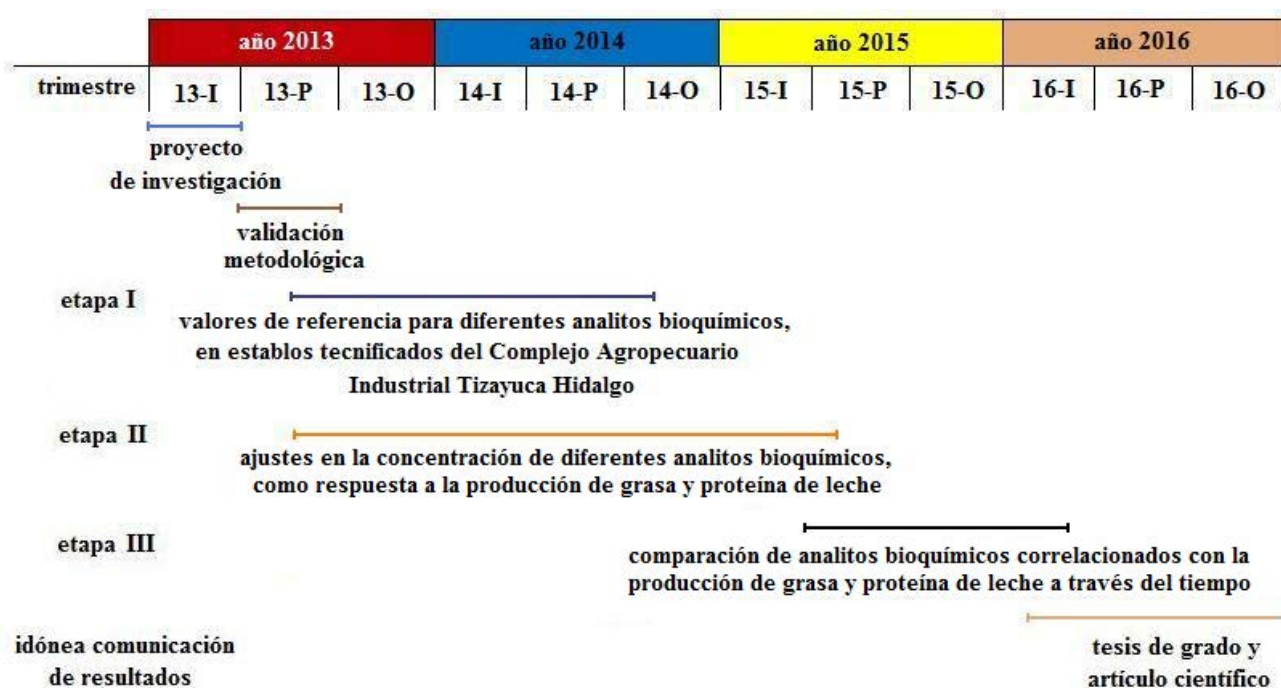
## **IX. HIPÓTESIS O PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN**

1. ¿Cuáles son los valores representativos para diferentes analitos bioquímicos, en vacas Holstein sanas del Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca Hidalgo?
2. ¿Qué analitos bioquímicos se correlacionan con la producción de grasa y proteína de leche?
3. Si se encuentran diferencias en las concentraciones de analitos energéticos, proteicos, minerales y enzimáticos a través del tiempo, ¿Cómo influyen sobre la producción de grasa y proteína de leche?

## X. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Durante el trimestre 13-I (figura, 14), se realizó una búsqueda bibliográfica para la elaboración del proyecto de investigación; apoyándose en el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), en la Secretaría de Economía de México (SE), en la Subsecretaría de Fomento a los Agronegocios-Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SFA-SAGARPA), en la *Food and Agricultural Policy Research Institute-Iowa State University's* (FAPRI-ISU), en los Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA), en la Confederación Nacional de Organizaciones Ganaderas (CNOG) y en la Cámara Nacional de Industriales de la Leche (CANILEC), así como en artículos científicos de divulgación nacional e internacional. De manera paralela se publicó el artículo “**Integración bioquímica para modelar las respuestas metabólicas dentro de la producción láctea de bovinos lecheros**”, ISSN: 1665-1189, en la revista *Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente*, Vol. 12, Pág. 189-206, Revistas Indizadas, *Latindex*.

Figura 14. Cronograma de actividades



La etapa I (figura 14) tuvo una duración de cuatro trimestres, abarcando de junio del año 2013 a septiembre del año 2014. En el trimestre 13-P, se adquirieron los conocimientos metodológicos necesarios para profundizar en la validación metodológica del proyecto de investigación. Se armonizó el marco de referencia, el marco teórico, los objetivos y las hipótesis del proyecto de investigación. Y se

participó en el XXXVII Congreso Nacional de Buiatría de la Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, en la ciudad de Acapulco Guerrero, con el trabajo “**Modelo discriminante para predecir cetosis subclínica a nivel hato a través de la relación grasa: proteína de la leche**”.

Durante el trimestre 13-O, se publicó el artículo “**Grasa y proteína de la leche de vaca: componentes, síntesis y modificación**”, ISSN: 0004-0592, en la revista *Archivos de Zootecnia*, Vol. 63, Pág. 85-105, Revistas Indizadas, *Thomson Reuters. Web of Science*. Durante el trimestre 14-P, se publicó el artículo “***Relationship between  $\beta$ -hydroxybutyrate and fat: protein ratio of milk during early lactation in dairy cows***”, ISSN: 0301-732X, en la revista *Archivos de Medicina Veterinaria*, Vol. 47, Pág. 18-26, Revistas Indizadas, *Journal Citation Reports*. Y se participó en el XXXVIII Congreso Nacional de Buiatría de la Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, en la ciudad de Villahermosa Tabasco, con el trabajo “**La cetosis y su influencia negativa sobre la producción de leche**”. Durante el trimestre 14-O, se publicó el capítulo “**Buenas prácticas de producción en la crianza de becerras lecheras**”, en el libro *Buenas Prácticas en la Producción Agropecuaria y Alimentos de Calidad*, ISBN: 978-607-28-0321-3, Capítulo 6. Pág. 87. Vol. 1.

La etapa II (figura 14) tuvo una duración de cinco trimestres, abarcando de junio del año 2013 a junio del año 2015. Durante el trimestre 14-O, se participó en el 8° Seminario Internacional en Reproducción Animal y Producción de Leche y Carne de la Universidad Autónoma Metropolitana, en la Ciudad de México, con el trabajo “**Relación grasa: proteína de leche y  $\beta$ -hidroxibutirato sanguíneo. Un vínculo útil durante la lactancia temprana**”. Durante el trimestre 15-I, se participó en el XXXIX Congreso Nacional e Internacional de Buiatría de la Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, en la ciudad de Puebla, con el trabajo “**Valores de referencia para analitos bioquímicos en establos lecheros mexicanos: interacciones entre grupos de producción**”. Y se dirigió el servicio social equivalente a tesis profesional del Médico Veterinario Zootecnista, Loan Pazcual García Casiano. Matrícula: 210230489. Título: “**Concentración de triacilgliceroles,  $\beta$ -hidroxibutirato, y colesterol en establos lecheros tecnificados y su relación con la grasa de leche**”, Universidad Autónoma Metropolitana. Departamento de Producción Agrícola y Animal.

La etapa III (figura 14) tuvo una duración de tres trimestres, abarcando de abril del año 2015 a abril del año 2016. Durante el trimestre 15-P, se dirigió el servicio social equivalente a tesis profesional de la Médico Veterinario Zootecnista, Erika Arias Islas. Matrícula: 207234660. Título: “**Concentración**



**de glucosa, urea, y proteína total-sérica en establos lecheros tecnificados y su relación con la proteína de leche**”, Universidad Autónoma Metropolitana. Departamento de Producción Agrícola y Animal. Y se vincularon actividades con el **“Cuerpo Académico Producción, Calidad e Inocuidad de la Leche y sus Derivados”** Clave: UAM-X-CA-34, ante el Programa para el Desarrollo Profesional Docente, para el Tipo Superior (PRODEP).

Durante el trimestre 15-O, se creó la Red Temática de Colaboración Académica: Producción, Calidad, e Inocuidad de la Leche de Vaca. Respondiendo a la convocatoria de PRODEP, con el proyecto: **“Modelos de simplificación biológica y económica para evaluar el impacto de plaguicidas organofosforados sobre la síntesis de grasa y proteína de leche”**. Participantes: 1) Cuerpo Académico: Producción, Calidad e Inocuidad de la Leche y sus Derivados Clave: UAM-X-CA-34; 2) Cuerpo Académico: Biotecnología Clave: UAM-X-CA-26; y 3) Grupo de Investigación: Administración Agropecuaria y Desarrollo Rural, Universidad Nacional Autónoma de México. Presupuesto asignado por PRODEP: \$ 699 000. 00/año.

Durante los trimestres 16-I y 16-P se dirigieron dos servicios sociales equivalentes a tesis profesional de Médico Veterinario Zootecnista: 1) Ana Grisel Lara García. Matrícula: 210234483. Título: **“Concentración de colesterol y lipoproteínas de alta y baja densidad en establos lecheros tecnificados y su relación con la grasa de leche”**, 2) Lorena Samantha Valdivia Magaña. Matrícula: 210233851. Título: **“Concentración de sodio, potasio, cloruro, y bicarbonato en vacas Holstein de lactancia temprana y su relación con el déficit aniónico sanguíneo”**, Universidad Autónoma Metropolitana. Departamento de Producción Agrícola y Animal.

Al final del trimestre 16-I, se participó en el XL Congreso Nacional e Internacional de Buiatría de la Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, en la ciudad de Zacatecas, con el trabajo **“Relación entre el perfil metabólico y el contenido de grasa y proteína de leche en vacas Holstein”**. Y fue aceptado para su publicación el artículo **“Reference values for biochemical analytes in Mexican dairy farms: interactions and adjustments between production groups”**, ISSN: 0.102-0.935, en la revista **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Revistas Indizadas, *Journal Citation Reports*.

Durante el trimestre 16-P, se participó en el Congreso Veterinario de León 2016, en la ciudad de Guanajuato, con el trabajo “**Concentraciones sanguíneas de colesterol,  $\beta$ -hidroxibutirato, urea y su relación con la grasa y proteína de leche de vaca**”. Y en el 5 Congreso y 1 Feria Técnico Científica del Departamento de Producción Agrícola y Animal UAM, en la ciudad de México, con los trabajos “**Concentración de sodio, potasio, cloruro, bicarbonato y su relación con el déficit aniónico en vacas Holstein**”, “**Concentración de colesterol y lipoproteínas de alta y baja densidad y su relación con la grasa de leche**” galardonados durante el evento con el segundo lugar para la modalidad cartel. De manera paralela se sometió a dictamen el artículo “*Relationship between metabolic profile and fat and protein content of milk in Holstein cows*”, ISSN: 0301-732X, en la revista **Archivos de Medicina Veterinaria**, *In Review*, Revistas Indizadas, *Journal Citation Reports*.

Durante el trimestre 16-O, se sometió a dictamen el artículo “**Relaciones entre triacilglicéridos, colesterol, lipoproteínas de alta, baja, y muy baja densidad y la grasa de leche en vacas Holstein**”, ISSN: 0004-0592, en la revista **Archivos de Zootecnia**, Revistas Indizadas, *Thomson Reuters. Web of Science*.

## XI. VALORES DE REFERENCIA PARA DIFERENTES ANALITOS BIOQUÍMICOS, EN ESTABLOS TECNIFICADOS DEL COMPLEJO AGROPECUARIO INDUSTRIAL DE TIZAYUCA HIDALGO

### XI. 1. Muestreo sanguíneo I y determinación de los perfiles metabólicos

Todos los animales utilizados se mantuvieron siguiendo las directrices del (Canadian Council on Animal Care, 1993). El estudio se llevó a cabo con sueros sanguíneos de 189 vacas Holstein, pertenecientes a nueve establos lecheros tecnificados. Todos localizados en el Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca Hidalgo, a una altitud de 2 260 m sobre el nivel del mar, con clima subhúmedo (Köppen Cfb) (Peel *et al.*, 2007), una temperatura promedio de 15 °C y una precipitación pluvial de 620 mm/año. De acuerdo con la metodología propuesta y descrita por Payne (1972) en el perfil metabólico Compton y al considerar que en las vacas multíparas, el pico de producción de leche comúnmente es entre 30 y 60 d p.p. (Oetzel, 2004; Quiroz-Rocha *et al.*, 2009); y el pico de producción de leche por lo general comienza a descender de 12 a 14 semanas p.p. (NRC, 2001). De cada establo se seleccionaron 21 vacas Holstein clínicamente sanas, con dos o tres partos, distribuidas en tres grupos de producción: 1) siete vacas de alta producción [42 ± 15 d p.p.; producción de leche (media ± DE): 34.96 ± 1.69 kg/d], 2) siete vacas de baja producción [91 ± 17 d p.p.; producción de leche (media ± DE): 16.14 ± 1.12 kg/d] y 3) siete vacas en período seco [21 ± 5 d antes del parto (**a.p.**); final de la gestación y sin producción de leche].

La alimentación por vaca en el grupo de alta producción comprendió: 7.14 kg/d de heno de alfalfa, 1.32 kg/d de ensilaje de alfalfa, 1 kg/d de paja de avena, 14.06 kg/d de ensilaje de maíz y 3.38 kg/d de ensilaje de triticale. El grupo de baja producción se alimentó con 4 kg/d de heno de alfalfa, 14.3 kg/d de alfalfa picada, 1.5 kg/d de paja de avena, 2.5 kg/d de maíz en hojuelas. Al grupo en período seco se le alimentó con: 8 kg/d de paca de alfalfa, 4.9 kg/d de paja de avena, 9.5 kg/d de ensilaje de triticale, 2 kg/d de pasta de canola y 1 kg/d de maíz en hojuelas. Todos los grupos recibieron adicionalmente 0.3 kg de bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ), suplemento mineral con carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ),  $\text{PO}_4^{-3}$  y sulfato de magnesio ( $\text{MgSO}_4$ ) y agua fresca a libre acceso. Concentrado con 17.80 % de PC (anexo 1), se suministró a razón de 13.25 kg/d para las vacas de alta producción y concentrado con 14.60 % de PC (anexo 1), se suministró a razón de 7 kg/d para las vacas de baja producción. En uno de los nueve establos, se proporcionaba grasa de sobrepeso a razón de 400 g/d para las vacas de alta producción y 200 g/d para las vacas de baja producción.

Las muestras de sangre se obtuvieron mediante punción en la vena coccígea (figura 15), utilizando tubos al vacío de 8.5 mL con activador de coagulación y gel separador (BD Vacutainer 367988; Becton-Dickinson Co., Franklin Lakes, Estados Unidos), después del primer ordeño de la mañana y antes de la alimentación.

**Figura 15.** Punción en la vena coccígea utilizando tubos al vacío de 8.5 mL con activador de coagulación y gel separador



Para la obtención del suero, las muestras se centrifugaron directamente en los establos (figura 16), a 1 500 x g durante 10 min como lo describe (van Saun, 2010), mediante una centrífuga portátil (Porta-Spin C828; ÚNICO., Dayton, Estados Unidos).

**Figura 16.** Centrifugación a 1 500 x g durante 10 min



**Figura 17.** Transporte de los sueros a 4 °C



Los sueros se conservaron a 4 °C en un refrigerador portátil (Thermoelectric Cooler Car/Home M5644-710; The Coleman Company., Kansas, Estados Unidos), para ser transportados al Laboratorio de Análisis Clínicos, de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, donde se congeló el suero a -20 °C hasta su análisis.

La concentración de cada uno de los analitos se determinó espectrofotométricamente (Biochemistry Analyzer ES-218 UV-Vis; KONTRoLab., Guidonia, Italia). Los analitos bioquímicos, el método analítico de cada parámetro, las unidades en que se expresan los resultados y los reactivos comerciales correspondientes, se describen en el cuadro 9 y anexo 2.

**Cuadro 9.** Analitos bioquímicos, unidades, métodos y reactivos comerciales correspondientes

<b>Analito</b>	<b>Unidad</b>	<b>Método</b>	<b>Reactivo</b>
<b>Perfil energético</b>			
Glucosa (GLU)	mM	Colorimétrico. Trinder <sup>a</sup>	1001190 <sup>1</sup>
Colesterol (COL)	mM	Colorimétrico <sup>b</sup>	41020 <sup>1</sup>
Triacilgliceroles (TAG)	mM	Colorimétrico. Líquido <sup>c</sup>	41032 <sup>1</sup>
β-hidroxibutirato (β-HBA)	mM	Enzimático <sup>d</sup>	RB 1007 <sup>2</sup>
Ácidos grasos no esterificados (AGNE)	mM	Enzimático <sup>e</sup>	FA 115 <sup>2</sup>
<b>Perfil proteico</b>			
Urea	mM	Enzimático <sup>f</sup>	1001333 <sup>1</sup>
Albumina (ALB)	g/dL	Colorimétrico. Verde bromocresol	1001020 <sup>1</sup>
Globulina (GLOB)	g/dL	(PROT-T) – (ALB)	Diferencia
Proteína-total (PROT-T)	g/dL	Colorimétrico. Biuret	1001291 <sup>1</sup>
<b>Perfil mineral</b>			
Ion calcio (Ca <sup>2+</sup> )	mM	Colorimétrico. Arsenazo III	CA 2391 <sup>2</sup>
Fosfato inorgánico (PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> )	mM	Colorimétrico. Fosfomolibdato	1001155 <sup>1</sup>
Ion sodio (Na <sup>+</sup> )	mM	Enzimático. Galactosidasa	1001385 <sup>1</sup>
Ion potasio (K <sup>+</sup> )	mM	Enzimático <sup>g</sup>	1001395 <sup>1</sup>
Ion magnesio (Mg <sup>2+</sup> )	mM	Colorimétrico. Azul de Xilidil	1001286 <sup>1</sup>
Ion cloruro (Cl <sup>-</sup> )	mM	Colorimétrico. Tiocianato de Mercurio	1001360 <sup>1</sup>
Dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> )	mM	Enzimático <sup>h</sup>	CD 127 <sup>2</sup>
Bicarbonato (HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	mM	Enzimático. Aproximación por CO <sub>2</sub> total y gas disuelto	99852 <sup>3</sup>
Déficit aniónico	mM	[(Na <sup>+</sup> + K <sup>+</sup> ) – (Cl <sup>-</sup> + HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )]	Diferencia
<b>Enzima</b>			
γ-glutamyl transpeptidasa (γ-GT)	U/L	Enzimático. Sustrato carboxilado	41292 <sup>1</sup>

<sup>a</sup> Glucosa Oxidasa-Peroxidasa; <sup>b</sup> Colesterol Oxidasa-Peroxidasa; <sup>c</sup> Glicerolfosfato Deshidrogenasa-Peroxidasa; <sup>d</sup> β-hidroxibutirato Deshidrogenasa; <sup>e</sup> Sintetasa-Oxidasa-Peroxidasa; <sup>f</sup> Ureasa-Glutamato Deshidrogenasa; <sup>g</sup> Fosfoenolpiruvato-Lactato Deshidrogenasa; <sup>h</sup> Fosfoenolpiruvato Carboxilasa-Malato Deshidrogenasa; <sup>1</sup> Spinreact., Gerona, España; <sup>2</sup> Randox Laboratories., Irlanda del Norte, Reino Unido; <sup>3</sup> Biolabo Laboratory., Grandcamp-Maisy, Francia.

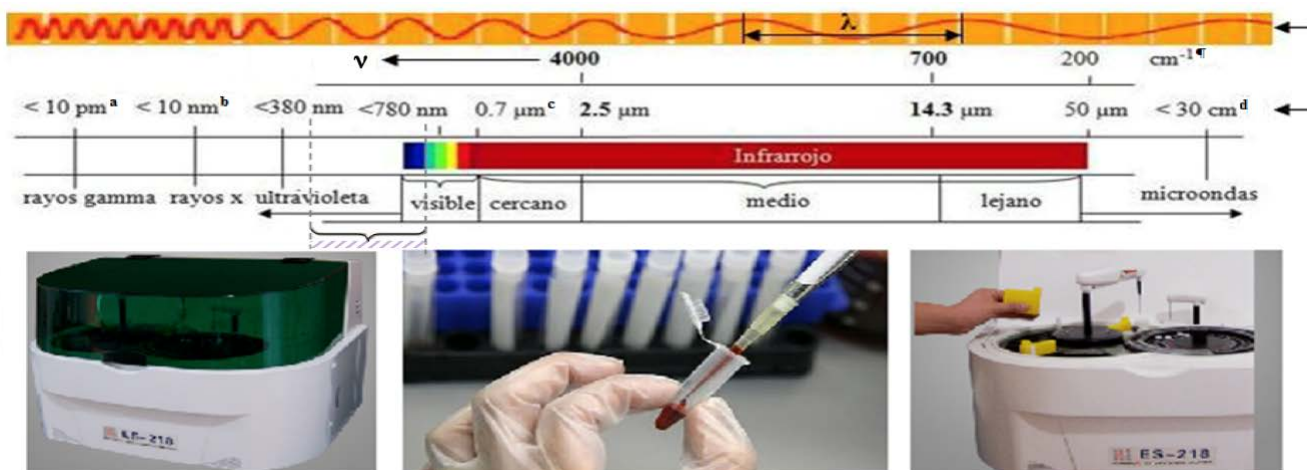
El espectrofotómetro de doble haz UV-Vis, trabaja con radiaciones en la región ultravioleta con una longitud de onda ( $\lambda$ ) entre 200 a 400 nm (figura 18) y de 400 a 700 nm para el visible (KONTROLab, 2011). El espectro electromagnético fue escaneado de acuerdo a la ley de Beer-Lambert, cuya ecuación es:

$$\frac{I_t}{I_0} = e^{-klc}$$

donde:

- $I_t$  = rango de luz captado por el tubo de fotocolorimetría;
- $I_0$  = rango de luz que sale del tubo de fotocolorimetría;
- $k$  = coeficiente de extinción molar;
- $l$  = longitud (cm) del tubo de fotocolorimetría; y
- $c$  = concentración de la muestra ya ubicada en el tubo de fotocolorimetría.

**Figura 18.** Región ultravioleta cercana y luz visible del espectro electromagnético cubierta por el espectrofotómetro de doble haz UV-Vis ES-218



<sup>a</sup> Picómetro:  $1 \times 10^{-12}$  m; <sup>b</sup> Nanómetro:  $1 \times 10^{-9}$  m; <sup>c</sup> Micrómetro:  $1 \times 10^{-6}$  m; <sup>d</sup> Centímetro: centésima parte de un metro;  $\nu$  (frecuencia de onda);  $\lambda$  (longitud de onda); <sup>¶</sup> ciclos por centímetro: unidad de magnitud que indica la frecuencia con que vibra una onda en un centímetro.

**Fuente:** elaboración propia a partir de (KONTROLab, 2011).

La concentración de los diferentes analitos se determinó a partir de dos técnicas: 1) método de punto final: se hizo reaccionar la muestra con una serie de reactivos (p. ej., cromógenos, enzimas, ácidos, etc.), transformando el suero inicial en un producto que absorbió luz y transmitió color. La intensidad del color se relacionó directamente con la concentración del analito sanguíneo (KONTROLab, 2011) y

2) método cinético: se midió la velocidad de reacción entre las formas oxidada y reducida, y/o la velocidad de formación de un nuevo producto. El cambio de absorbancia con mediciones repetidas a través del tiempo, cuantificó las modificaciones en la absorción de luz y transmisión de color, relacionándose directamente con la concentración del analito sanguíneo (KONTROLab, 2011).

La precisión y la veracidad para la reproducibilidad de las técnicas, se controló mediante la utilización de suero de control liofilizado bovino (SPINTROL NORMAL 1002100; Spinreact., Girona, España) y (Assayed Bovine Multi-Sera AL 1027; Laboratorios Randox, Irlanda del Norte, Estados Unidos). La hemólisis del suero se registró en una escala cualitativa de 0 (nada) a 3 (oscuro) (Quiroz-Rocha *et al.*, 2009). La interferencia por hemólisis con puntuación 2 o superior, estaba presente en 5 muestras, equivalente a menos del 3 %; por lo tanto, se ignoró su influencia.

## **IX. 2. Análisis estadístico**

El procedimiento estadístico utilizado para calcular los intervalos de confianza del 95 % para los diferentes analitos bioquímicos, siguió la recomendación de la Federación Internacional de Química Clínica (Solberg, 1987). El primer paso fue la detección de datos atípicos para cada analito y los valores con más de 3 desviaciones estándar de distancia de la media fueron descartados. Para medir la distribución y el comportamiento de los diferentes valores dentro de la muestra, el conjunto de datos resultante se analizó mediante distribución Gaussiana y se determinaron los percentiles: P<sub>10</sub>-P<sub>90</sub> y P<sub>25</sub>-P<sub>75</sub> por (PROC UNIVARIATE, SAS, System, v. 8.2, Cary, NC) (anexo 3). Las relaciones lineales entre los analitos bioquímicos fueron identificadas a partir del coeficiente de correlación de Pearson (PROC CORR; SAS, 2001) y la comparación entre vacas: de alta producción, baja producción y en período seco, se llevó a cabo por (PROC ANOVA; SAS, 2001). Cuando se encontraron diferencias debido a grupo ( $P < 0.05$ ), se procedió a realizar una prueba de comparación múltiple de Tukey.

## **IX. 3. Resultados**

Los estadísticos descriptivos para GLU, COL, TAG,  $\beta$ -HBA, AGNE, urea, ALB, GLOB, PROT-T,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , déficit aniónico y  $\gamma$ -GT determinados a partir de 189 perfiles metabólicos en vacas Holstein, así como un valor de referencia de literatura internacional, se presentan en el cuadro 10.

**Cuadro 10.** Media ( $x$ ), desviación estándar (DE), valor de referencia, intervalo de confianza (IC) y percentiles ( $P_{10}$ - $P_{90}$ ) y ( $P_{25}$ - $P_{75}$ ) para diferentes analitos bioquímicos,  $n = 189$  vacas Holstein

Analito	$x \pm DE$	Referencia <sup>a</sup>	IC <sup>b</sup>	$P_{10}$ - $P_{90}$	$P_{25}$ - $P_{75}$
<b>Perfil energético</b>					
Glucosa (mM)	3.15 ± 0.67	3.19 ± 0.38	3.05 - 3.24	2.30 - 4.09	2.67 - 3.49
Colesterol (mM)*	4.57 ± 1.94	2.59 ± 0.51	4.29 - 4.84	2.10 - 7.28	3.07 - 5.70
Triacilgliceroles (mM)	0.12 ± 0.05	0.10 ± 0.10	0.11 - 0.13	0.04 - 0.18	0.09 - 0.15
β-hidroxiacetato (mM)	0.48 ± 0.21	0.41 ± 0.03	0.45 - 0.51	0.21 - 0.76	0.33 - 0.57
Ácidos grasos no esterificados (mM)	0.10 ± 0.04	0.40 ± 0.20	0.10 - 0.11	0.05 - 0.16	0.10 - 0.11
<b>Perfil proteico</b>					
Urea (mM)*	5.65 ± 2.03	8.90 ± 1.80	5.36 - 5.94	3.06 - 8.61	4.18 - 6.84
Albúmina (g/dL)	3.42 ± 0.72	3.29 ± 0.13	3.32 - 3.52	2.49 - 4.34	2.91 - 3.86
Globulina (g/dL)	3.62 ± 1.17	3.24 ± 0.24	3.45 - 3.79	2.25 - 5.18	2.77 - 4.49
Proteína-total (g/dL)	7.04 ± 1.48	7.10 ± 0.18	6.83 - 7.25	5.12 - 8.86	5.84 - 8.10
<b>Perfil mineral</b>					
Ion calcio (mM)*	2.12 ± 0.50	2.78 ± 0.15	2.05 - 2.19	1.41 - 2.76	1.74 - 2.51
Fosfato inorgánico (mM)	1.81 ± 0.48	1.95 ± 0.15	1.74 - 1.88	1.20 - 2.60	1.57 - 2.02
Ion sodio (mM)*	124.2 ± 13.5	142 ± 10.0	122.2 - 126.1	107.9 - 140.8	118.4 - 128.8
Ion potasio (mM)	5.03 ± 1.68	4.8 ± 1.0	4.78 - 5.27	2.18 - 7.39	4.90 - 5.54
Ion magnesio (mM)	0.97 ± 0.52	0.84 ± 0.10	0.90 - 1.05	0.30 - 1.67	0.52 - 1.36
Ion cloruro (mM)	96.3 ± 10.7	104 ± 7.0	94.8 - 97.8	85.9 - 113.2	88.5 - 100.3
Dióxido de carbono (mM)	26.59 ± 3.16	26.5 ± 5.70	26.13 - 27.04	22.01 - 30.41	24.90 - 28.52
Bicarbonato (mM)	23.93 ± 2.84	23 ± 6.0	23.52 - 24.34	19.80 - 27.36	22.41 - 25.66
Déficit aniónico (mM)	8.98 ± 13.98	19.8 ± 3.0	6.98 - 10.99	-7.21 - 25.41	2.37 - 17.85
<b>Enzima</b>					
γ-glutamil transpeptidasa (U/L)*	29.0 ± 10.1	15.7 ± 4.0	27.58 - 30.50	19.11 - 45.23	22.02 - 31.88

<sup>a</sup> (Kaneko *et al.*, 2008); <sup>b</sup> intervalo de confianza al 95 %; \* diferencias con la referencia.

Las concentraciones cuantificadas en los diferentes analitos bioquímicos, son consistentes con los valores reportados internacionalmente. Sin embargo, la concentración de urea fue ligeramente menor que el valor de referencia. El COL y la γ-GT mostraron concentraciones superiores al valor de referencia y las concentraciones de  $Ca^{2+}$  y  $Na^+$  fueron menores.

Como se puede observar en el cuadro 11, correlaciones negativas ( $P < 0.05$ ) entre β-HBA con GLU y urea, entre γ-GT con urea y entre  $HCO_3^-$  con urea,  $PO_4^{-3}$  y déficit aniónico fueron identificadas. Correlaciones positivas ( $P < 0.05$ ) entre GLU con PROT-T, urea, GLOB,  $Ca^{2+}$ ,  $PO_4^{-3}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$  y  $Cl^-$ , entre PROT-T con ALB, GLOB,  $PO_4^{-3}$ ,  $Na^+$  y  $Cl^-$ , entre urea con  $PO_4^{-3}$ ,  $Na^+$ ,  $Mg^{2+}$  y  $Cl^-$ , entre ALB con  $PO_4^{-3}$  y  $Cl^-$ , entre GLOB con COL,  $PO_4^{-3}$ ,  $Na^+$  y  $Cl^-$ , entre β-HBA con COL y déficit aniónico, entre AGNE con déficit aniónico, entre  $PO_4^{-3}$  con  $Na^+$ ,  $Mg^{2+}$  y  $Cl^-$ , entre  $Na^+$  con  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$  y déficit aniónico, entre  $K^+$  con  $Mg^{2+}$  y entre déficit aniónico con  $K^+$  y  $Mg^{2+}$  fueron cuantificadas.



**Cuadro 11.** Coeficientes de correlación de Pearson para diferentes analitos bioquímicos, n = 189 vacas Holstein-Friesian

TAG	PROT-T	urea	ALB	GLOB	$\beta$ -HBA	AGNE	COL	$\gamma$ -GT	Ca <sup>2+</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	déficit aniónico
GLU	0.24	0.55*	0.34*	0.25	0.54*	-0.41*	-0.16	-0.27	0.36*	0.57*	0.62*	0.41*	0.32*	0.50*	-0.28	0.22
TAG	0.11	0.13	-0.20	0.27	0.09	0.20	0.12	0.02	0.11	0.22	0.26	0.28	0.27	-0.07	-0.29	0.28
PROT-T	-0.29	0.62*	0.87*	0.87*	-0.15	-0.17	-0.26	0.09	0.22	0.48*	0.40*	-0.04	-0.07	0.47*	-0.23	0.06
urea	0.22	0.23	-0.39*	0.23	-0.39*	0.11	-0.19	-0.36*	0.20	0.64*	0.38*	0.28	0.40*	0.49*	-0.41*	0.10
ALB	0.16	0.16	-0.19	0.16	-0.19	-0.16	0.23	-0.12	0.03	0.30*	0.20	-0.27	-0.26	0.40*	-0.05	-0.13
GLOB	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.01	0.31*	0.13	0.26	0.42*	0.38*	0.10	0.06	0.35*	-0.26	0.16
$\beta$ -HBA	-0.01	-0.01	-0.01	-0.01	-0.01	-0.01	0.33*	0.16	0.21	0.24	0.15	0.10	0.07	0.15	-0.12	0.36*
AGNE	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.13	0.06	0.01	0.15	0.26	0.16	-0.11	-0.01	0.38*
COL	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.23	0.24	0.08	0.15	0.07	0.13	-0.21	0.04
$\gamma$ -GT	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.06	0.01	0.06	0.11	0.12	-0.18	-0.04
Ca <sup>2+</sup>	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.38*	0.21	0.15	0.06	-0.01	0.24
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0.23*	0.23*	0.23*	0.23*	0.23*	0.23*	0.23*	0.23*	0.23*	0.23*	0.23*	0.16	0.34*	0.59*	-0.45*	0.07
Na <sup>+</sup>	0.46*	0.46*	0.46*	0.46*	0.46*	0.46*	0.46*	0.46*	0.46*	0.46*	Na <sup>+</sup>	0.46*	0.36*	0.18	-0.27	0.71*
K <sup>+</sup>	0.57*	0.57*	0.57*	0.57*	0.57*	0.57*	0.57*	0.57*	0.57*	0.57*	K <sup>+</sup>	0.57*	0.57*	0.03	-0.23	0.61*
Mg <sup>2+</sup>	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	Mg <sup>2+</sup>	0.10	0.10	-0.26	0.43*	
Cl <sup>-</sup>	-0.20	-0.20	-0.20	-0.20	-0.20	-0.20	-0.20	-0.20	-0.20	-0.20	Cl <sup>-</sup>	-0.20	-0.20	-0.20	-0.20	-0.23
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-0.38*	-0.38*	-0.38*	-0.38*	-0.38*	-0.38*	-0.38*	-0.38*	-0.38*	-0.38*	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-0.38*	-0.38*	-0.38*	-0.38*	-0.38*
déficit aniónico																

\* P < 0.05. GLU: Glucosa, TAG: Triacilgliceroles, PROT-T: Proteína-total, ALB: Albúmina, GLOB: Globulina,  $\beta$ -HBA:  $\beta$ -hidroxibutirato, AGNE: Ácidos grasos no esterificados, COL: Colesterol,  $\gamma$ -GT:  $\gamma$ -glutamyl transferasa, Ca<sup>2+</sup>: Ion calcio, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>: Fosfato inorgánico, Na<sup>+</sup>: Ion sodio, K<sup>+</sup>: Ion potasio, Mg<sup>2+</sup>: Ion magnesio, Cl<sup>-</sup>: Ion cloruro, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>: Bicarbonato.

Las comparaciones entre los tres grupos, mostraron diferencias ( $P < 0.05$ ) en la concentración de  $\beta$ -HBA y COL entre vacas de alta producción, baja producción y en período seco. Con los valores más altos en  $\beta$ -HBA y COL en las vacas de alta producción, con  $34.96 \pm 1.69$  kg/d de leche (cuadro 12 y figura 19). La concentración de  $\gamma$ -GT fue similar en los grupos de vacas con alta y baja producción, aunque presentó diferencias ( $P < 0.05$ ) con las vacas secas (figura 20).

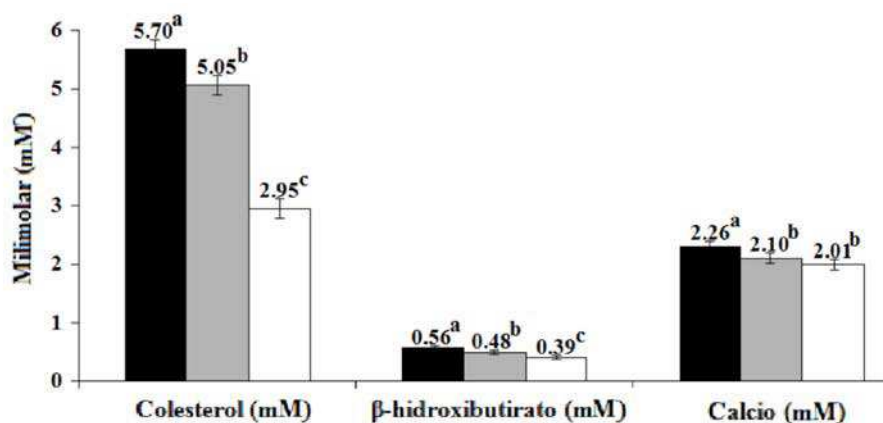
**Cuadro 12.** Comparación de diferentes analitos bioquímicos por grupo de producción,  $n = 63$  vacas Holstein/grupo

Analito	Vacas de alta producción <sup>1</sup>	Vacas de baja producción <sup>2</sup>	Vacas secas <sup>3</sup>
<b>Perfil energético</b>			
Glucosa (mM)	$3.01 \pm 0.65$	$3.18 \pm 0.69$	$3.25 \pm 0.64$
Colesterol (mM)*	$5.70 \pm 1.73^a$	$5.05 \pm 1.73^b$	$2.95 \pm 1.11^c$
Triacilgliceroles (mM)	$0.12 \pm 0.04$	$0.12 \pm 0.05$	$0.12 \pm 0.05$
$\beta$ -hidroxibutirato (mM)*	$0.56 \pm 0.20^a$	$0.48 \pm 0.21^b$	$0.39 \pm 0.18^c$
<b>Perfil proteico</b>			
Urea (mM)	$5.75 \pm 2.13$	$5.75 \pm 2.01$	$5.46 \pm 1.97$
Albúmina (g/dL)	$3.52 \pm 0.66$	$3.32 \pm 0.67$	$3.41 \pm 0.81$
Globulina (g/dL)	$3.62 \pm 1.06$	$3.65 \pm 1.32$	$3.58 \pm 1.15$
Proteína-total (g/dL)	$7.14 \pm 1.43$	$6.98 \pm 1.46$	$7.00 \pm 1.56$
<b>Perfil mineral</b>			
Ion calcio (mM)*	$2.26 \pm 0.50^a$	$2.10 \pm 0.47^b$	$2.01 \pm 0.50^b$
Fosfato inorgánico (mM)	$1.83 \pm 0.52$	$1.78 \pm 0.43$	$1.83 \pm 0.48$
Ion sodio (mM)*	$122.98 \pm 12.61^a$	$120.90 \pm 12.70^a$	$128.81 \pm 14.20^b$
Ion potasio (mM)	$4.90 \pm 1.58$	$4.93 \pm 1.81$	$5.25 \pm 1.66$
Ion magnesio (mM)	$0.99 \pm 0.46$	$0.97 \pm 0.51$	$0.97 \pm 0.57$
Ion cloruro (mM)	$94.90 \pm 10.84$	$95.37 \pm 11.15$	$98.77 \pm 9.87$
Dióxido de carbono (mM)	$26.44 \pm 3.07$	$26.56 \pm 3.60$	$26.76 \pm 2.80$
Bicarbonato (mM)	$23.80 \pm 2.76$	$23.90 \pm 3.24$	$24.09 \pm 2.52$
Déficit aniónico (mM)	$9.19 \pm 13.14$	$6.56 \pm 14.96$	$11.21 \pm 13.60$
<b>Enzimas</b>			
$\gamma$ -glutamil transpeptidasa (U/L)*	$31.87 \pm 10.58^a$	$30.54 \pm 9.38^a$	$24.71 \pm 9.17^b$
<b>Producción de leche (kg/d)*</b>	$34.96 \pm 1.69^a$	$16.14 \pm 1.12^b$	

<sup>1</sup> días en leche:  $42 \pm 15$  d posparto; <sup>2</sup> días en leche:  $91 \pm 17$  d posparto; <sup>3</sup>; \* se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos indicados con letras diferentes ( $P < 0.05$ ). Todos los datos son presentados por media  $\pm$  DE.

En el caso de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  (cuadro 12 y figura 19) mostró diferencias ( $P < 0.05$ ) entre las vacas de alta producción y los otros dos grupos (vacas de baja producción y en período seco) y el  $\text{Na}^+$  mostró la mayor concentración en el grupo de vacas secas (cuadro 12).

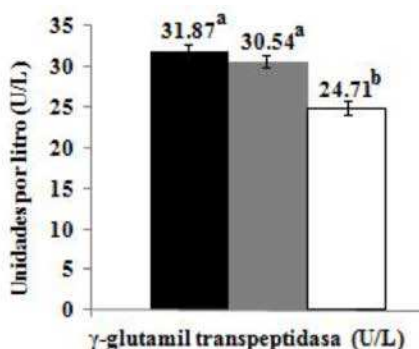
**Figura 19.** Comparación de colesterol,  $\beta$ -hidroxibutirato y calcio entre diferentes grupos de producción,  $n = 63$  vacas Holstein/grupo



■ Vacas de alta producción: Días en leche:  $42 \pm 15$  d posparto; Producción de leche (Media  $\pm$  DE):  $34.96 \pm 1.69$   
 ■ Vacas de baja producción: Días en leche:  $91 \pm 17$  d posparto; Producción de leche (Media  $\pm$  DE):  $16.14 \pm 1.12$   
 □ Vacas secas:  $21 \pm 5$  d antes del parto; final de la gestación y sin producir leche

a, b se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos indicados con letras diferentes ( $P < 0.05$ ).

**Figura 20.** Concentración de  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa entre diferentes grupos de producción,  $n = 63$  vacas Holstein/grupo



■ Vacas de alta producción: Días en leche:  $42 \pm 15$  d posparto; Producción de leche (Media  $\pm$  DE):  $34.96 \pm 1.69$   
 ■ Vacas de baja producción: Días en leche:  $91 \pm 17$  d posparto; Producción de leche (Media  $\pm$  DE):  $16.14 \pm 1.12$   
 □ Vacas secas:  $21 \pm 5$  d antes del parto; final de la gestación y sin producir leche

a, b se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos indicados con letras diferentes ( $P < 0.05$ ).

#### IX. 4. Discusión

Durante el balance energético positivo, las vacas lecheras de alto valor genético, tienen una baja movilización lipídica y su concentración de AGNE es aproximadamente de 0.25 mM (da Fonseca *et al.*, 2004). Las concentraciones superiores a 0.40 mM indican BEN y una alta movilización lipídica (Oetzel, 2004).

De acuerdo con esta referencia, ninguna de las vacas muestreadas tenía evidencia de una elevada movilización de lípidos del tejido adiposo, porque sólo cuatro vacas superaron los 0.25 mM, identificando la mayor concentración de AGNE en 0.32 mM. En los últimos años para discriminar entre vacas sanas y vacas afectadas por cetosis subclínica, se han utilizado diferentes puntos de corte entre 1 y 1.4 mM con respecto a las concentraciones séricas de  $\beta$ -HBA (Duffield *et al.*, 2009; Goldhawk *et al.*, 2009). En el presente estudio, tres vacas de alta producción y dos vacas de baja producción presentaron concentraciones de  $\beta$ -HBA por encima de 1.2 mM, cuantificando la mayor concentración de  $\beta$ -HBA en 1.31 mM.

Estos datos sugieren que la concentración de AGNE podría ser un indicador de cetosis subclínica menos eficiente en comparación con el  $\beta$ -HBA. Suposición consistente con lo reportado por Duffield *et al.* (2009) quienes indicaron que durante el período seco, el uso de AGNE es un mejor indicador de BEN en comparación con el  $\beta$ -HBA, pero que en vacas posparto (**p.p.**) el  $\beta$ -HBA es más útil. Este hecho puede explicar el bajo coeficiente de correlación ( $r = -0.01$ ), encontrado entre el  $\beta$ -HBA y los AGNE (cuadro 11). Además, la relación entre el  $\beta$ -HBA y el BEN puede inferirse por la correlación negativa ( $P < 0.05$ ) entre  $\beta$ -HBA con GLU ( $r = -0.41$ ). También cabe señalar que las mismas vacas identificadas con la mayor concentración de  $\beta$ -HBA, al mismo tiempo tenían las concentraciones más bajas de TAG (entre 0.04 y 0.07 mM). Estos datos sugieren que, en vacas afectadas por cetosis la concentración de TAG disminuye, porque este analito bioquímico se deposita en las células del hígado y otros órganos.

La concentración de urea se relaciona con la cantidad de PDR y con el contenido de nitrógeno no proteico (**NNP**) (Cozzi *et al.*, 2011). Su concentración (cuadro 10), fue ligeramente inferior al rango de referencia de  $8.90 \pm 1.80$  mM (Kaneko *et al.*, 2008). Sin embargo, esta información no sugiere que el aporte de proteína en la dieta sea bajo, ya que los animales recibieron una buena cantidad de alfalfa y concentrado. Por el contrario, indicaría que gran parte de la proteína está siendo utilizada de manera eficiente en el rumen, de forma tal que no hay mucha urea (nitrógeno excedente) circulando en la sangre. Además es necesario considerar: 1) que el hígado produce urea, ya que descompone las proteínas en sus aminoácidos constituyentes para obtener energía (Rojen *et al.*, 2012) y 2) las correlaciones negativas ( $P < 0.05$ ) entre urea con  $\beta$ -HBA ( $r = -0.39$ ) y urea con  $\gamma$ -GT ( $r = -0.36$ ) (cuadro 11). Por lo tanto, la concentración de urea se explica en parte por la presencia de “ligeras hepatopatías”.

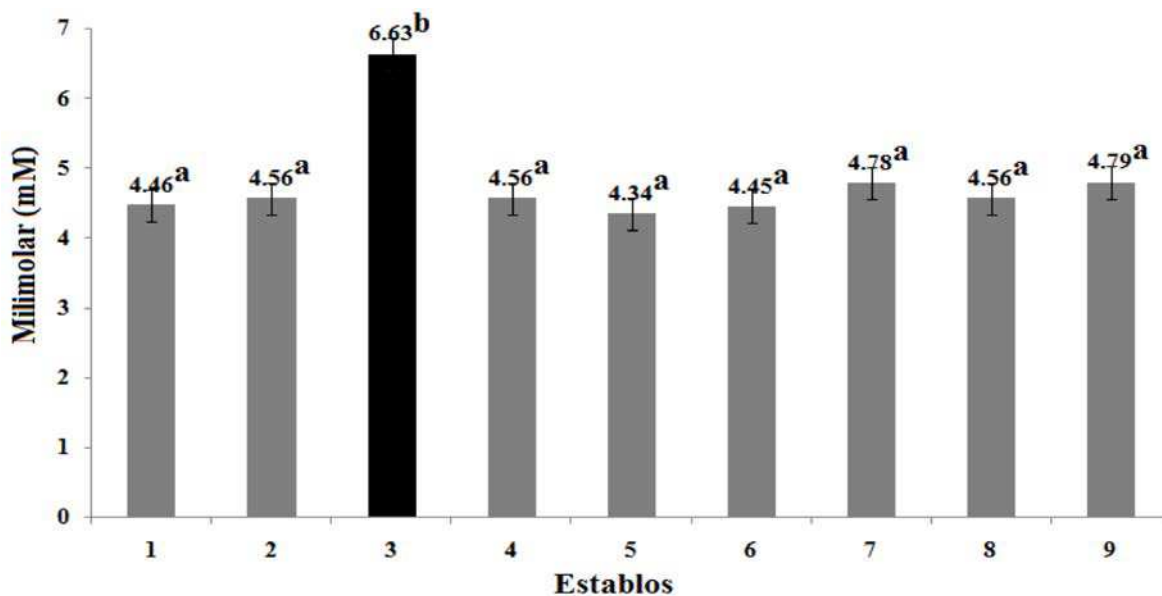
Suposición compatible con lo reportado por González *et al.* (2011), quienes señalaron que la acumulación de TAG en citosol hepático de vacas lecheras produce hígado graso, lo que compromete la síntesis de urea. Además, los niveles séricos de  $\gamma$ -GT ( $29.04 \pm 10.17$  U/L) cuantificados en el estudio (cuadro 10), confirman cierto grado de daño hepático, probablemente causadas por la infiltración de TAG. La salud del hígado y la patología hepática también se pueden inferir a través de la concentración de ALB, debido a que el hígado es el principal órgano involucrado en su síntesis (Bossaert *et al.*, 2012). Esta posibilidad es consistente con las correlaciones negativas encontradas entre ALB con  $\beta$ -HBA ( $r = -0.19$ ), ALB con AGNE ( $r = -0.16$ ) y ALB con  $\gamma$ -GT ( $r = -0.12$ ) (cuadro 11), que describen cómo la concentración de ALB depende del funcionamiento hepático. Por lo tanto, al considerar que menos del 4 % (5 de las 189 vacas) presentan cetosis subclínica, se propone que las vacas muestreadas tienen un grado moderado con respecto a lesiones hepáticas, ya que si la infiltración de TAG fuera mayor, la concentración de ALB se reduciría considerablemente y su concentración en nuestro estudio es comparable con la de referencia (cuadro 10).

La concentración de COL fue alta, debido quizás a una disminución en su excreción por un problema de inflamación que obstruye los conductos biliares dentro y fuera del hígado (Temel y Brown, 2012). Esta afirmación explicaría la correlación positiva ( $P < 0.05$ ) entre COL con GLOB ( $r = 0.31$ ) encontrada en el estudio (cuadro 11). También vale la pena considerar el balance energético en los requerimientos nutricionales, ya que los alimentos altos en grasa pueden elevar la concentración de COL. Es más, Duske *et al.* (2009) y Zárate-Martínez *et al.* (2011) indicaron que las vacas lecheras suplementadas con grasa de sobrepaso, presentaron un aumento significativo en la concentración COL. Esta información es consistente con nuestros resultados, ya que como se muestra en la (figura 21) las vacas lecheras suplementadas con grasa de sobrepaso en el establo No. 3, mostraron diferencias ( $P < 0.05$ ) en la concentración de COL con respecto a los otros ocho establos.

La tendencia fisiológica de las vacas lecheras para responder al BEN, con el catabolismo y la utilización de sus tejidos corporales, genera cetosis subclínica con la biosíntesis de AcAc y  $\beta$ -HBA (Duffield *et al.*, 2009). Estos cuerpos cetónicos liberan  $H^+$  en el líquido extracelular, lo que disminuye la capacidad de amortiguación natural de  $HCO_3^-$  y originan cambios en el pH por movimientos de electrólitos, agua y  $CO_2$  (Herdt y Hoff, 2011). Por lo tanto, un aumento en la concentración de los cuerpos cetónicos, aumenta la diferencia entre aniones y cationes (Kraut y Madias, 2010). Esta afirmación explicaría las correlaciones positivas ( $P < 0.05$ ) cuantificadas entre  $\beta$ -HBA con déficit aniónico ( $r = 0.36$ )

y entre AGNE con déficit aniónico ( $r = 0.38$ ), y la correlación negativa ( $P < 0.05$ ) cuantificada entre  $\text{HCO}_3^-$  con déficit aniónico ( $r = -0.38$ ).

**Figura 21.** Comparación de colesterol entre establos,  $n = 21$  vacas Holstein/establo



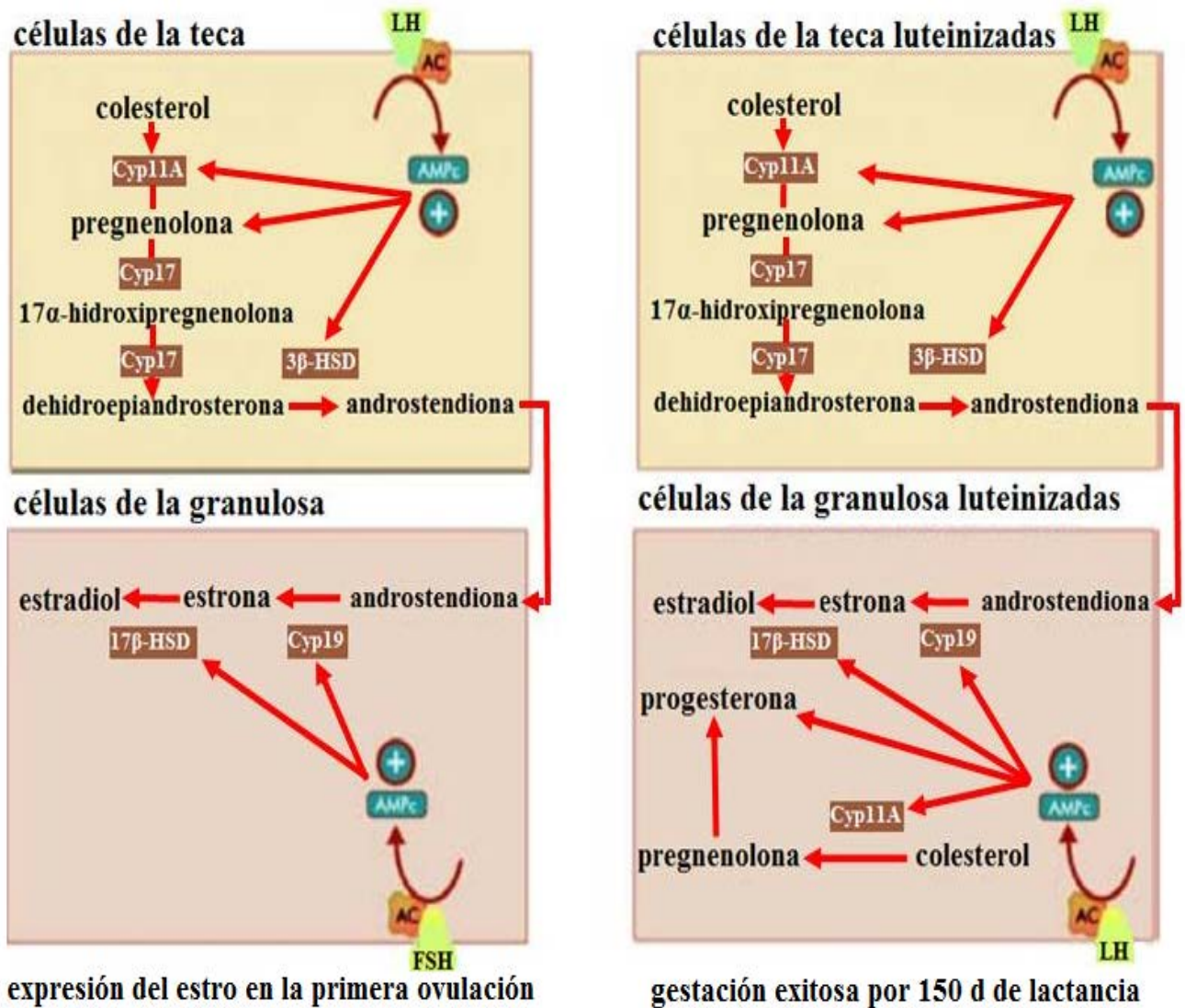
■ Alimentación suplementada con grasa de sobrepeso.

a, b se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos indicados con letras diferentes ( $P < 0.05$ ).

En la comparación entre los tres grupos de producción, la concentración de COL se incrementó después del parto, comenzando a disminuir cerca de los 200 d p.p. Guillén *et al.* (2008) reportaron que, en las vacas lecheras la concentración de COL aumenta en el p.p. de manera proporcional a la producción de leche. Esta información es consistente con el comportamiento del COL encontrado en nuestro estudio, donde el grupo de vacas de alta producción mostró los valores más altos para este analito (figura 19).

Durante la primera etapa de la lactancia, la concentración de COL se asocia positivamente con la expresión del estro en la primera ovulación después del parto, con un intervalo parto concepción más corto y con mayor probabilidad de concepción y gestación por 150 d de lactación (Westwood *et al.*, 2002). Estos datos sugieren que la diferencia ( $P < 0.05$ ) en la concentración de COL, observada en el grupo de vacas de alta producción, se explica en parte por la esteroidogénesis ovárica; dado que este analito sirve como sustrato para la formación de estradiol durante la fase folicular (beneficiando la expresión del estro) y para la formación de progesterona durante la fase lútea (favoreciendo la concepción y la gestación) (figura 22).

**Figura 22.** Participación del colesterol en la esteroidogénesis ovárica: fases folicular y lútea



Fuente: elaboración propia a partir de (Westwood *et al.*, 2002; Wiltbank *et al.*, 2006).

El grupo de vacas secas mostró los valores más bajos en la concentración de COL (figura 19). Al respecto, Leroy *et al.* (2008) indicaron que la vaca seca presenta una serie de adaptaciones metabólicas que incluyen: la movilización de tejidos corporales para compensar la disminución en la ingesta de materia seca (MS), el desarrollo fetal y el crecimiento de la glándula mamaria para producir leche, causando una hipocolesterolemia durante este período.

El  $\beta$ -HBA es un analito que se puede utilizar como una fuente adicional de energía, para cubrir la escasez de GLU durante el BEN (Ospina *et al.*, 2010). Por lo tanto, durante la primera etapa de lactancia, su concentración se eleva ligeramente en respuesta a la movilización lipídica (Duffield *et al.*, 2009). Esta información es congruente con nuestros resultados (figura 19), ya que se observó una diferencia ( $P < 0.05$ ) en la concentración de  $\beta$ -HBA, entre el grupo de vacas de alta producción y los otros dos grupos.

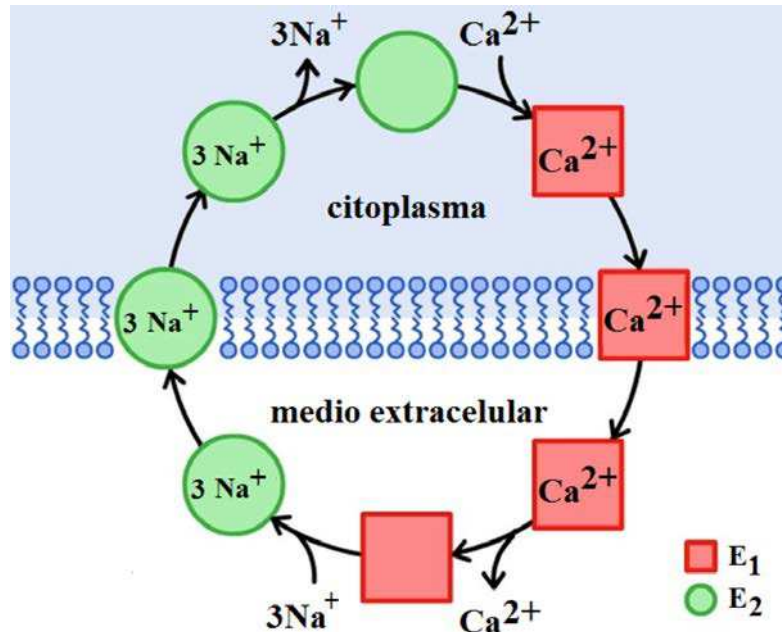
La acumulación temporal de lípidos en el hígado de vacas lecheras es un proceso fisiológico normal (Duffield *et al.*, 2009). Todas las vacas de alto valor genético tienen un grado moderado de lipidosis hepática después del período seco, y acumulan grasa en el hígado durante los primeros días después del parto (Ospina *et al.*, 2010). Estas adaptaciones metabólicas aumentan la concentración de  $\gamma$ -GT (figura 20), ya que el hígado está expuesto a grandes cantidades de AGNE movilizados del tejido adiposo (Jump, 2011). Después la concentración de  $\gamma$ -GT comienza a descender, hasta alcanzar el valor más bajo en vacas secas; información que sugiere que la actividad enzimática de la  $\gamma$ -GT disminuye durante el balance energético positivo.

El metabolismo de la vaca lechera mantiene al  $\text{Ca}^{2+}$  bajo estricto control homeostático; por lo tanto, su inclusión en el perfil mineral sólo es útil para conocer si la capacidad homeostática está funcionando correctamente, y no como un reflejo de su disponibilidad en la dieta (Herdt y Hoff, 2011). Sin embargo, el valor cuantificado en este analito  $2.12 \pm 0.50$  mM (cuadro 10) es inferior a la referencia  $2.78 \pm 0.15$  mM (Kaneko *et al.*, 2008), lo que aumenta el riesgo de desarrollar patologías p.p. como hipocalcemia, especialmente si también ocurre un desequilibrio electrolítico (van Saun *et al.*, 2006).

Finalmente, Liao *et al.* (2012) y Michel *et al.* (2014) indicaron que el intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  (figura 23) situado en la membrana plasmática de los osteocitos, es esencial para mantener la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$ , al utilizar la energía almacenada en el gradiente electroquímico del ion  $\text{Na}^+$  para movilizar  $\text{Ca}^{2+}$  del citoplasma de los osteocitos hacia el medio extracelular sin consumo directo de ATP. Por lo que, una disminución en la concentración de  $\text{Na}^+$  podría conducir a la presencia de bajos niveles séricos de  $\text{Ca}^{2+}$ . Esta afirmación explicaría la correlación positiva ( $P < 0.05$ ) entre  $\text{Na}^+$  con  $\text{Ca}^{2+}$  ( $r = 0.38$ ) encontrada en nuestro estudio. En el que se registró un balance negativo entre aniones y cationes en el 19.5 % de las vacas muestreadas: 11 vacas de alta producción, 16 vacas de baja producción y 10 vacas secas.



Figura 23. Mecanismo de intercambio entre  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$



Fuente: (Díaz, 2013).

## XI. 5. Conclusiones y recomendaciones

En general las concentraciones cuantificadas en los diferentes analitos bioquímicos son consistentes con la literatura internacional. Sin embargo, en respuesta a la movilización de reservas corporales (lípidos y proteínas) durante la lactancia, se desencadenó una serie de respuestas metabólicas en las vacas con la consecuente acumulación de TAG en las células hepáticas, y el aumento de cuerpos cetónicos, y  $\text{H}^+$  en el líquido extracelular, causando diferencias en la concentración de: urea, COL,  $\gamma$ -GT,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Na}^+$  con respecto a las referencias. Las comparaciones entre los tres grupos (vacas de alta producción, baja producción y secas), mostró cómo las concentraciones de los analitos bioquímicos mencionados anteriormente se correlacionan con la etapa de producción de las vacas. Los intervalos de confianza calculados se podrían utilizar a nivel hato para detectar situaciones de alerta cuando al menos 5 % de las vacas en la muestra se sitúen fuera del intervalo de referencia. El presente trabajo se llevó a cabo en establos lecheros comerciales, lo que beneficia el acercamiento con la realidad productiva. Por lo tanto, se sugiere la futura cuantificación de butirilcolinesterasa (**BChE**) en el suero sanguíneo de las vacas lecheras. Ya que su cuantificación está catalogada a nivel mundial como una prueba sensitiva de la exposición a plaguicidas organofosforados (**POF**) totales, debido a que estos compuestos inhiben la acción de la enzima (Casida y Durkin, 2013). Esta unión reprime la acción hidrolítica de la colinesterasa sobre el neurotransmisor ocasionando una activación excesiva (Colovic *et al.*, 2013), que impide la transmisión del impulso nervioso (Dhull *et al.*, 2013).

## XII. AJUSTES EN LA CONCENTRACIÓN DE DIFERENTES ANALITOS BIOQUÍMICOS, COMO RESPUESTA A LA PRODUCCIÓN DE GRASA Y PROTEÍNA DE LECHE

### XII. 1. Colecta de leche I y análisis de grasa y proteína láctea

Todos los animales utilizados se mantuvieron siguiendo las directrices del (Canadian Council on Animal Care, 1993). El estudio se llevó a cabo con 126 muestras de leche de vacas Holstein, pertenecientes a nueve establos lecheros tecnificados. Todos localizados en el Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca Hidalgo. Al considerar que en las vacas multíparas, el pico de producción de leche comúnmente es entre 30 y 60 d p.p. (Oetzel, 2004; Quiroz-Rocha *et al.*, 2009), y que la producción por lo general comienza a descender de 12 a 14 semanas p.p. (NRC, 2001). Catorce vacas de segundo o tercer parto fueron seleccionadas de cada establo. Siete vacas de alta producción [ $42 \pm 15$  d p.p.; producción de leche (media  $\pm$  DE):  $34.96 \pm 1.69$  kg/d] y siete vacas de baja producción [ $91 \pm 17$  d p.p.; producción de leche (media  $\pm$  DE):  $16.14 \pm 1.12$  kg/d], para un total de 63 vacas/grupo.

La leche se obtuvo durante el primer ordeño de la mañana y antes de la alimentación, utilizando frascos de 100 mL con tapa (figura 24), previamente identificados con el número de registro, establo y grupo de estudio (vacas de alta y baja producción). Las muestras se mezclaron con 0.04 g/100 mL de Bronopol (Broad Spectrum Microtabs II 953; D&F Control Systems., Massachusetts, Estados Unidos) como método de conservación (Sánchez *et al.*, 2005).

**Figura 24.** Colecta y transporte de leche utilizando frascos de 100 mL con tapa



Posteriormente, los frascos se conservaron a 4 °C en un refrigerador portátil (Thermoelectric Cooler Car/Home M5644-710; The Coleman Company., Kansas, Estados Unidos), para ser transportados al Laboratorio de Análisis Lácteos, de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, donde se atemperó la leche hasta alcanzar 37 °C a baño María (figura 25) utilizando (Digital Bain-Marie OE3707; FUNKE GERBER., Berlín, Alemania).

**Figura 25.** Muestras de leche a 37 °C en baño María



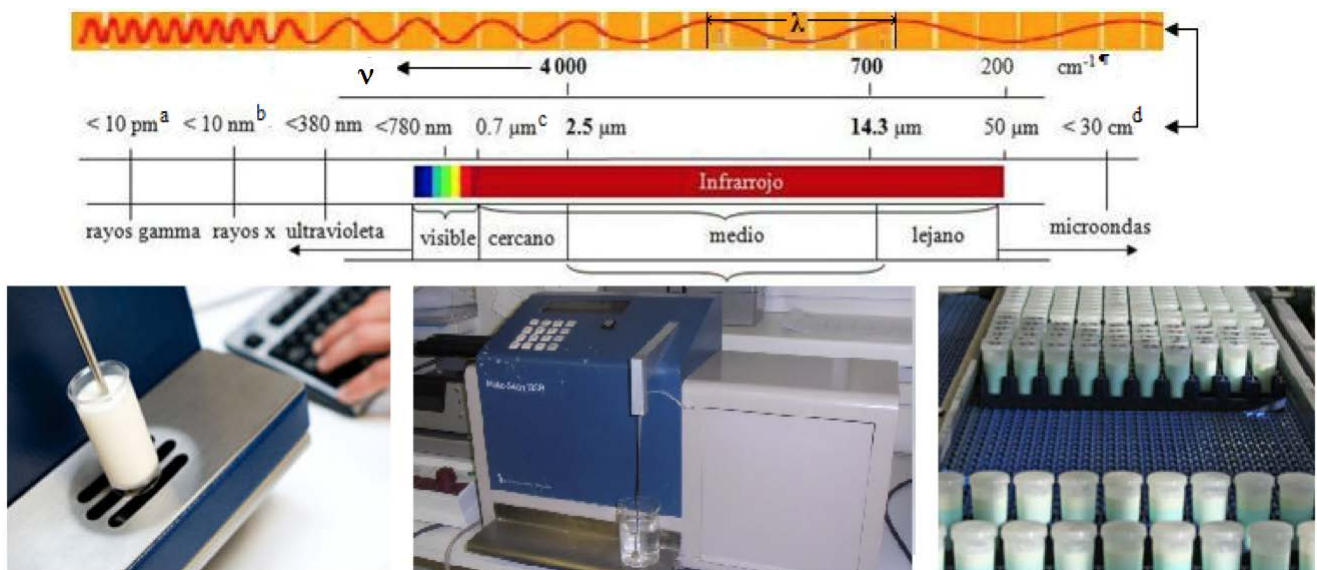
La concentración de grasa y proteína láctea se determinó espectrofotométricamente (MilkoScan 133B infrarrojo; Foss Electric., Hillerod, Dinamarca) (figura 26), que trabaja con los métodos Röse Gottlieb para grasa y Kjeldahl para proteína como referencia (FOSS, 2011).

**Figura 26.** Determinación de grasa y proteína láctea mediante MilkoScan 133B



La región infrarroja media del espectro electromagnético cubierta por el MilkoScan 133B (figura 27), cubre fotones con una  $\lambda$  de 2.5 a 14.3  $\mu\text{m}$  y con una  $\nu$  de 4 000 y 700  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente (FOSS, 2011).

**Figura 27.** Región infrarroja del espectro electromagnético cubierta por MilkoScan 133B



<sup>a</sup> Picómetro:  $1 \times 10^{-12}$  m; <sup>b</sup> Nanómetro:  $1 \times 10^{-9}$  m; <sup>c</sup> Micrómetro:  $1 \times 10^{-6}$  m; <sup>d</sup> Centímetro: centésima parte de un metro;  $\nu$  (frecuencia de onda);  $\lambda$  (longitud de onda); <sup>f</sup> ciclos por centímetro: unidad de magnitud que indica la frecuencia con que vibra una onda en un centímetro.

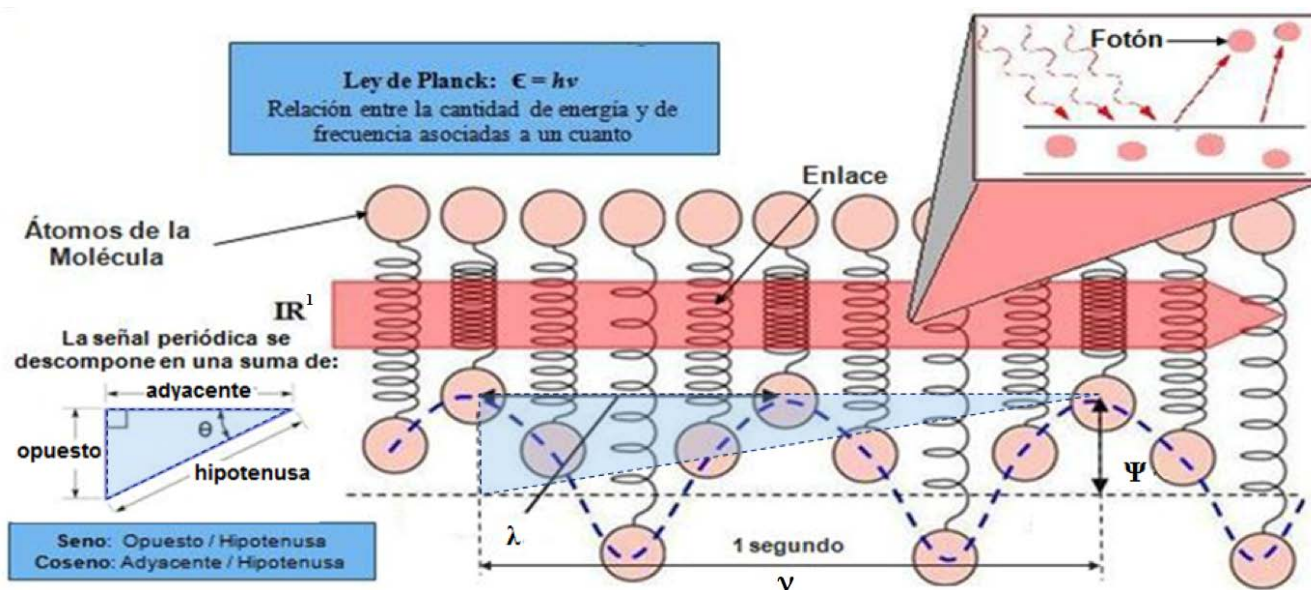
**Fuente:** elaboración propia a partir de (FOSS, 2011).

El espectro electromagnético es escaneado mediante la transformada de Fourier, que descompone la señal periódica en una suma de senos y cosenos formando una base de datos, a partir de la cual, la transformada de Fourier cambia la amplitud de onda ( $\Psi$ ) a frecuencia de onda ( $\nu$ ) permitiendo hacer múltiples lecturas de una sola muestra y conocer las  $\nu$  contenidas en todos los tiempos en que existió la señal de manera simultánea (FOSS, 2011). De esta manera el MilkoScan traza el espectro de absorción, e identifica la cantidad de radiación absorbida, la  $\lambda$ , la forma del espectro y el tipo de enlaces químicos presentes (Rutten *et al.*, 2009).

El principio óptico del sistema de medición del espectrofotómetro infrarrojo contenido en el MilkoScan, se basa en el hecho de que la luz se comporta como partículas de energía independientes (fotones) cuando interacciona con la materia para transferir una cantidad fija de energía (figura 28), por tal motivo toma valores discretos más que continuos.

Los intervalos más pequeños entre los valores discretos son llamados cuanto (*Quantum* en latín) y su energía está dada por la constante de Planck multiplicada por la frecuencia ( $E = h\nu$ )  $6.626 \times 10^{-34}$  J/s.

**Figura 28.** Principio óptico del espectrofotómetro infrarrojo contenido en el MilkoScan 133B



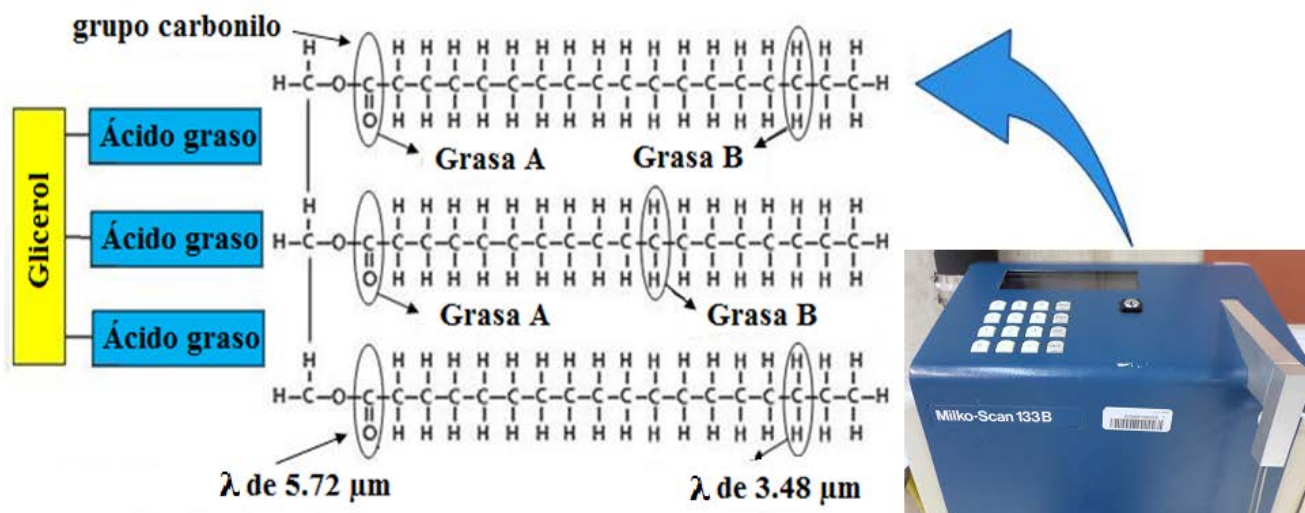
<sup>1</sup> rayo de luz infrarrojo;  $\lambda$  (longitud de onda) es la distancia de un máximo de la onda al siguiente;  $\nu$  (frecuencia de onda) es la cantidad de máximos de onda que pasan por un punto fijo en una unidad de tiempo, se expresa en segundos recíprocos ( $s^{-1}$ ) o hertz (Hz);  $\Psi$  (amplitud de onda) es la altura de una onda, medida desde el punto medio hasta el máximo.

**Fuente:** elaboración propia a partir de (FOSS, 2011).

El equipo MilkoScan se basa en dos longitudes de onda o filtros para grasa:

1. Filtro graso A: la absorción se debe a las vibraciones de estirado en los enlaces ( $>C=O$ ) del grupo carbonilo presentes en los ésteres, con lectura a una  $\lambda$  de  $5.72 \mu m$  (figura 29). Por lo tanto, este filtro cuantifica el número de moléculas de grasa con independencia de la longitud y el peso de los ácidos grasos individuales (FOSS, 2011).
2. Filtro graso B: la absorción se debe a las vibraciones de estirado en los enlaces (C-H) de las cadenas de ácidos grasos, con lectura a una  $\lambda$  de  $3.48 \mu m$  (figura 29). Por lo tanto, este filtro cuantifica la longitud de la cadena por el número de enlaces donde se absorbió la luz y la cantidad de moléculas de ácidos grasos (FOSS, 2011).

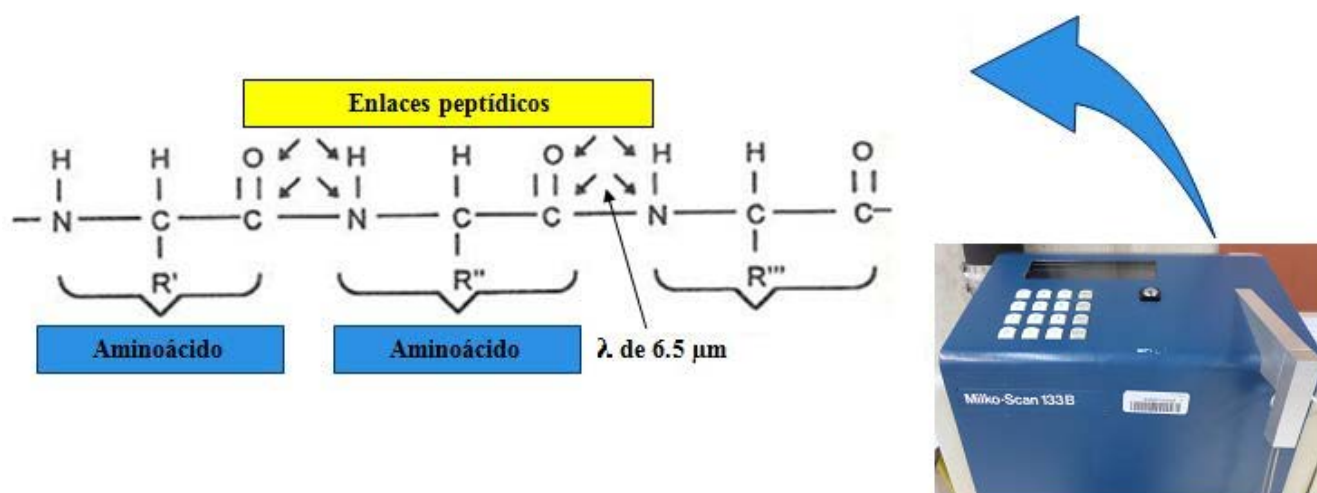
**Figura 29.** Filtros del MilkoScan 133B para determinar grasa de leche



Fuente: elaboración propia a partir de (FOSS, 2011).

Debido a que la molécula de proteína está formada por AA unidos mediante enlaces peptídicos, la absorción se debe a las vibraciones de estirado en los enlaces (-CO-NH-), con una  $\lambda$  de 6.5  $\mu\text{m}$  (figura 30). Por lo tanto, este filtro cuantifica el número de moléculas de proteína junto con la concentración de los AA individuales por el número de enlaces presentes en la muestra (FOSS, 2011).

**Figura 30.** Filtro del MilkoScan 133B para determinar proteína de leche



Fuente: elaboración propia a partir de (FOSS, 2011).

Posteriormente, el MilkoScan identifica la concentración de grasa y proteína por interpolación del espectro de absorbancia de las muestras de leche, con una curva de calibración previamente estandarizada para grasa y proteína almacenada en la memoria del equipo.

## **XII. 2. Muestreo sanguíneo II y determinación de los perfiles metabólicos**

Las muestras de sangre se obtuvieron de las 126 vacas Holstein muestreadas para leche, mediante punción en la vena coccígea, utilizando tubos al vacío de 8.5 mL con activador de coagulación y gel separador (BD Vacutainer 367988; Becton- Dickinson Co., Franklin Lakes, Estados Unidos), después del primer ordeño de la mañana y antes de la alimentación. Para la obtención del suero, las muestras se centrifugaron directamente en los establos, a 1 500 x g durante 10 min como lo describe (van Saun, 2010), mediante una centrífuga portátil (Porta-Spin C828; ÚNICO., Dayton, Estados Unidos). Posteriormente, los sueros se separaron utilizando tubos de 5 mL con tapa (Tubes 933008; Eppendorf., Madrid, España) y se conservaron a 4 °C en un refrigerador portátil (Thermoelectric Cooler Car/Home M5644-710; The Coleman Company., Kansas, Estados Unidos), para ser transportados al Laboratorio de Análisis Clínicos, de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, donde se congeló el suero a -20 °C hasta su análisis. La concentración de cada uno de los analitos se determinó espectrofotométricamente (Biochemistry Analyzer ES-218 UV-Vis; KONTROLab., Guidonia, Italia). Los analitos bioquímicos, el método analítico de cada parámetro, las unidades en que se expresan los resultados y los reactivos comerciales correspondientes, se describen en el (cuadro 9), de la etapa “VALORES DE REFERENCIA PARA DIFERENTES ANALITOS BIOQUÍMICOS, EN ESTABLOS TECNIFICADOS DEL COMPLEJO AGROPECUARIO INDUSTRIAL DE TIZAYUCA HIDALGO”.

## **XII. 3. Análisis estadístico**

Para el tratamiento de los datos obtenidos se utilizó el programa estadístico (SAS, System, v. 8.2, Cary, NC). La comparación entre grupos (vacas de alta producción y vacas de baja producción) se evaluó mediante Análisis de Varianza. Cuando se encontraron diferencias debido a grupo ( $P < 0.05$ ), se procedió a realizar una prueba de comparación múltiple de Tukey. Los Análisis de Regresión (PROC REG; SAS, 2001) y (PROC GLM/Stepwise; SAS, 2001) (anexo 3), cuya significación estadística se manifestó por el coeficiente de correlación de Pearson y un valor ( $P < 0.05$ ), fueron utilizados para evaluar las relaciones entre los analitos bioquímicos y el contenido de grasa y proteína de leche. Los siguientes modelos de regresión se pusieron a prueba:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 \cdot X_1 + e_1$$
$$Y = \beta_0 + \beta_1 \cdot X_1 + \dots + \beta_k \cdot X_k + e_1$$

donde:

$Y$	=	grasa de leche, proteína de leche, relación grasa: proteína;
$X_1, \dots, X_k$	=	GLU, COL, TAG, $\beta$ -HBA, AGNE, urea, ALB, GLOB, PROT-T, $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{PO}_4^{-3}$ , $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ , $\text{Mg}^{2+}$ , $\text{Cl}^-$ , $\text{CO}_2$ , $\text{HCO}_3^-$ , déficit aniónico y $\gamma$ -GT;
$\beta_0$	=	intercepto al eje $Y$ ;
$\beta_1, \dots, \beta_k$	=	coeficiente de estimación; y
$e_1$	=	error de la estimación.

La bondad del ajuste de cada modelo se estimó por R cuadrado ajustado ( $\mathbf{R}^2$ ). Un diagnóstico de los valores atípicos (*Outlier*) se realizó mediante un macro que calcula la distancia robusta de Mahalanobis para cada observación, asignando un peso a las observaciones cuyo valor tiene probabilidad de ser  $(\chi^2) < P$  donde las observaciones con menor varianza tendrán más importancia que las de mayor varianza (Friendly, 2008) tomando en cuenta las correlaciones entre las variables y la variabilidad de clases.

$$d_m(x, \bar{x}) = \sqrt{(x - \bar{x}) \sum_x^{-1} (x - \bar{x})}$$

donde:

$d_m(x, \bar{x})$	=	distancia robusta de Mahalanobis;
$x$	=	vector de la observación que se quiere medir;
$\bar{x}$	=	vector de la media de las observaciones; y
$\sum_x^{-1}$	=	matriz de varianza-covarianza de las observaciones.

Se realizó un diagnóstico de los principales supuestos para cada modelo de regresión. La forma funcional lineal se comprobó visualmente con una gráfica, la normalidad de los residuales o errores se verificó mediante la prueba Shapiro-Wilk e histograma de frecuencia, la homocedasticidad se confirmó visualmente con una gráfica que comparó la varianza de los valores residuales frente a los valores previstos y se verificó la no autocorrelación de los residuales mediante la prueba de Durbin-Watson.



## XII. 4. Resultados

Los estadísticos descriptivos para la producción de leche/composición y sus correlaciones con los diferentes analitos bioquímicos, determinados a partir de 126 perfiles metabólicos en vacas Holstein de alta y baja producción, se presentan en el cuadro 13.

**Cuadro 13.** Producción de leche/composición y sus correlaciones con los analitos bioquímicos,  $n = 63$  vacas Holstein/grupo

	Vacas de alta producción <sup>1</sup>			Vacas de baja producción <sup>2</sup>		
	Grasa	Proteína	Grasa: proteína	Grasa	Proteína	Grasa: proteína
Producción de leche (kg/d)	34.96 ± 1.69 <sup>a</sup>			16.14 ± 1.12 <sup>b</sup>		
Grasa (g)	3.71 ± 0.51 <sup>a</sup>			3.37 ± 0.56 <sup>b</sup>		
Proteína (g)	2.91 ± 0.22			2.88 ± 0.21		
Relación grasa: proteína <sup>3</sup>	1.27 ± 0.15 <sup>a</sup>			1.16 ± 0.16 <sup>b</sup>		
<b>Perfil energético</b>						
Glucosa	0.07	0.30*	0.01	0.02	0.09	0.01
Colesterol	0.48**	0.17	0.16	0.31*	0.13	0.29*
Triacilgliceroles	0.52**	0.20	0.26	0.46**	0.23	0.41**
β-hidroxibutirato	0.42**	0.18	0.14	0.19	0.11	0.03
Ácidos grasos no esterificados	0.01	0.04	0.02	0.05	0.01	0.09
<b>Perfil proteico</b>						
Urea	0.12	0.71***	0.01	0.04	0.30*	0.01
Albumina	0.01	0.21	0.04	0.02	0.03	0.01
Globulina	0.04	0.29	0.01	0.01	0.16	0.03
Proteína-total	0.03	0.37*	0.02	0.01	0.21	0.01
<b>Perfil mineral</b>						
Ion calcio	0.14	0.02	0.12	0.07	0.14	0.01
Fosfato inorgánico	0.06	0.35*	0.01	0.01	0.16	0.02
Ion sodio	0.06	0.33*	0.01	0.06	0.18	0.01
Ion potasio	0.11	0.05	0.06	0.09	0.01	0.13
Ion magnesio	0.01	0.01	0.01	0.02	0.03	0.01
Ion cloruro	0.09	0.36*	0.01	0.01	0.14	0.07
Dióxido de carbono	0.05	0.19	0.01	0.01	0.03	0.01
Bicarbonato	0.05	0.10	0.01	0.05	0.03	0.01
Déficit aniónico	0.01	0.03	0.01	0.10	0.01	0.12
<b>Enzima</b>						
γ-glutamyl transpeptidasa	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

<sup>1</sup> días en leche: 42 ± 15 d posparto; <sup>2</sup> días en leche: 91 ± 17 d posparto; <sup>3</sup> g de grasa/g de proteína; se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos indicados con letras diferentes; \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ .

La grasa de leche se correlacionó positivamente con COL, TAG y β-HBA en las vacas de alta producción. La proteína de leche se correlacionó positivamente con GLU, urea, PROT-T, PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>, Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> en las vacas de alta producción. Una dependencia prácticamente lineal también se encontró entre la grasa de leche con COL y TAG, entre la proteína de leche con urea y entre la relación grasa: proteína con COL y TAG en las vacas de baja producción.

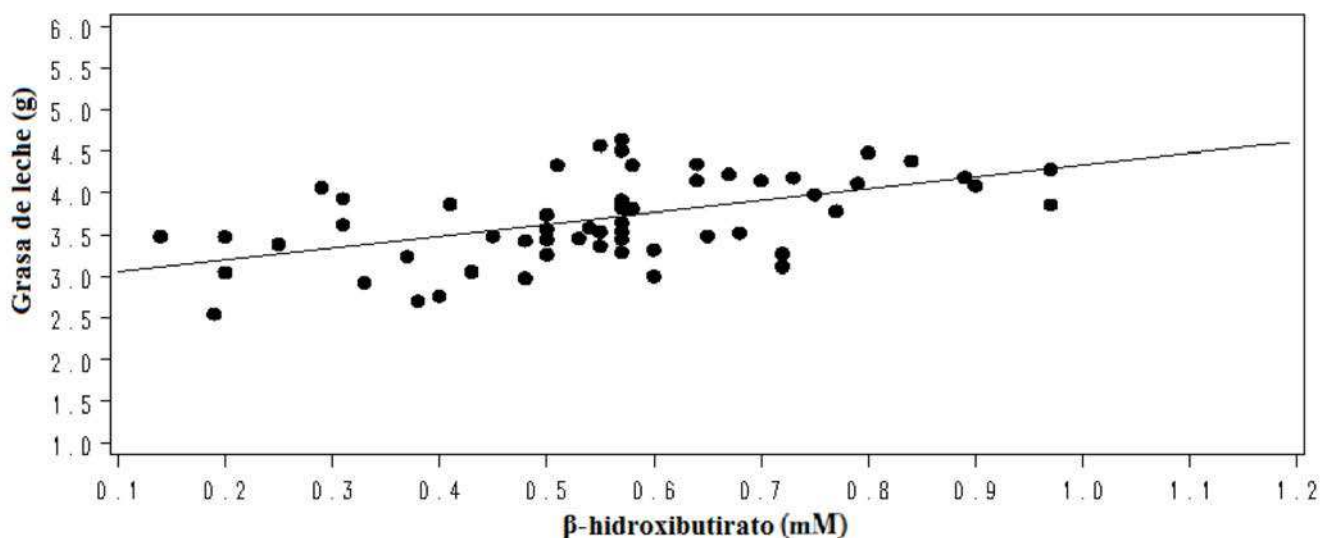
## XII. 5. Discusión

La fracción lipídica de los forrajes es reducida, y se encuentra principalmente como ácidos grasos poliinsaturados esterificados (Palmquist, 2006). En el caso de los cereales y las oleaginosas el contenido de ácidos grasos es elevado, y se encuentra como TAG (Martínez, 2007). Los ácidos grasos insaturados no esterificados (que contienen por lo menos un doble enlace de carbono), son muy tóxicos para las bacterias celulolíticas, metanogénicas y los protozoos (Kim *et al.*, 2009). Por tal motivo, cuando la matriz vegetal ha sido masticada y degradada, los isómeros de los ácidos grasos, son hidrogenados en el rumen para minimizar estos efectos tóxicos (Nam y Garnsworthy, 2007). La velocidad de este proceso depende del grado de insaturación del ácido graso, p. ej., mirístico C14:0 y palmítico C16:0 son hidrolizados más rápidamente que linolénico C18:3 (Or-Rashid *et al.*, 2008).

Los ácidos grasos saturados son almacenados por bacterias ruminales, que pasan al abomaso adheridas en las partículas de alimento fermentado (McManaman y Neville, 2003). En el duodeno, las sales biliares actúan como detergentes para emulsionar los ácidos grasos (Palmquist, 2006). La fosfolipasa de las secreciones pancreáticas separa el oleico C18:1 de los fosfolípidos secretados en la bilis (Kessler *et al.*, 2014). Y éste junto con las lisolecitinas, actúa como emulsionante, solubilizando los ácidos grasos para facilitar su absorción duodenal en forma de micelas (Jump, 2011). Por lo tanto, el metabolismo ruminal modifica en gran medida el perfil de ácidos grasos disponibles para la síntesis de grasa láctea.

De manera sinérgica al proceso de biohidrogenación lipídica en el rumen, los carbohidratos suministrados en la dieta, son fermentados por la acción bacteriana produciendo AGV (Kim *et al.*, 2009). Los ácidos grasos de C4 a C10 de la fracción lipídica de la leche son sintetizados *de novo* en la glándula mamaria (Harvatine *et al.*, 2009). Los AGV acético y butírico, sirven como precursores, y los grupos de dos carbonos adicionados durante la elongación, provienen de los cuerpos cetónicos AcAc y  $\beta$ -HBA producidos en el hígado por  $\beta$ -oxidación mitocondrial (Houten y Wanders, 2010). Esto significa que la correlación positiva entre la grasa de leche y el  $\beta$ -HBA ( $R^2 = 0.42$ ;  $P < 0.01$ ) en las vacas de alta producción (figura 31), esquematiza la función de este analito en la síntesis de la grasa láctea (Ospina *et al.*, 2010), clarificando la importancia del  $\beta$ -HBA en el incremento del contenido graso de la leche, principalmente en la síntesis de ácidos grasos saturados.

**Figura 31.** Correlación entre grasa de leche y  $\beta$ -hidroxibutirato,  $n = 63$  vacas de alta producción



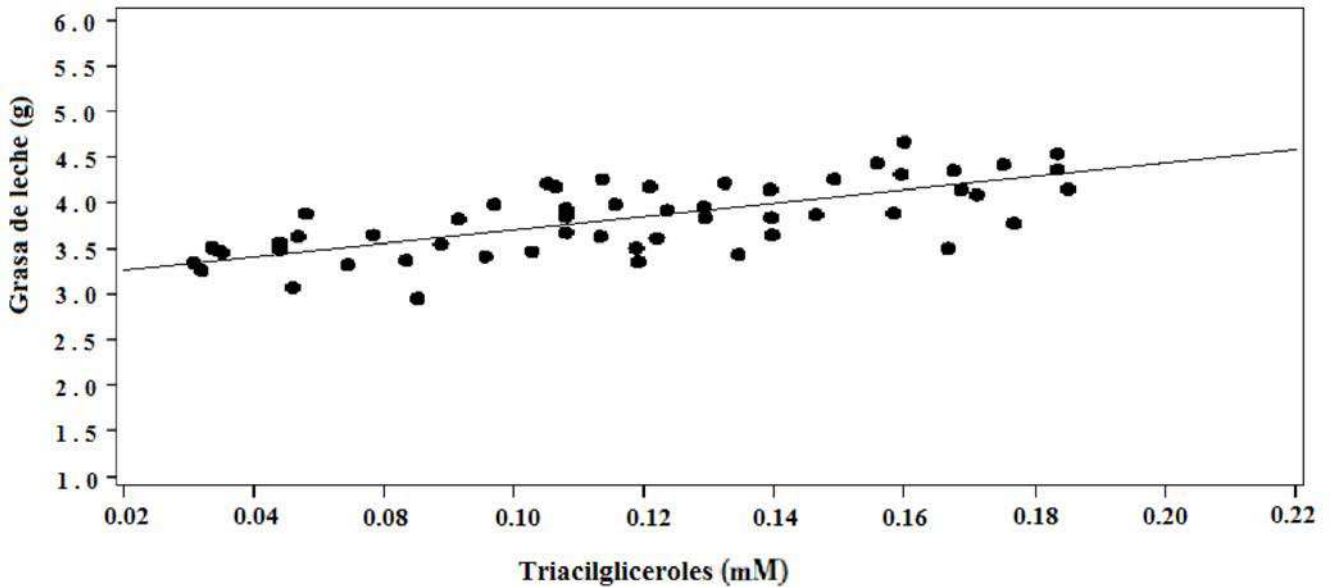
Grasa de leche (●); respuesta pronosticada (—).

Los ácidos grasos de C12 a C16 son sintetizados tanto *de novo* en la glándula mamaria, como transportados en la sangre mediante una unión no covalente con la ALB (Bauman *et al.*, 2006). En la glándula mamaria bovina, no es posible la elongación o condensación sucesiva de malonil-CoA con acil-CoA para alargar la forma del ácido graso a cadenas de más de C16, debido a que no existen las enzimas elongasas necesarias (Harvatine *et al.*, 2009).

Por lo tanto, los ácidos grasos de cadena larga, utilizados para la síntesis de grasa láctea tienen dos orígenes principales: 1) TAG de origen alimentario, transportados en quilomicrones producidos a nivel intestinal y 2) COL esterificado y libre, transportado en VLDLc (Nafikov y Beitz, 2007). Esta información es consistente con el comportamiento de TAG y COL en el grupo de vacas de alta producción, donde se cuantificó una correlación positiva, con un elevado coeficiente ( $R^2 = 0.52$ ;  $P < 0.001$ ) y ( $R^2 = 0.48$ ;  $P < 0.001$ ) al relacionarlos con la grasa de leche respectivamente.

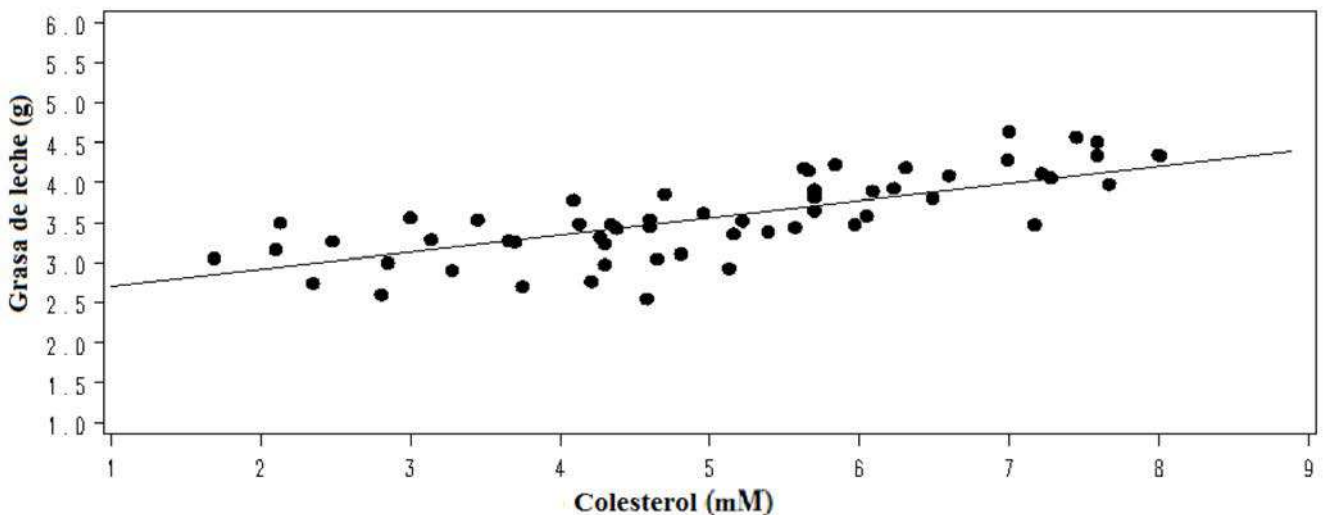
Los resultados encontrados, sugieren que los TAG y el COL son variables subordinadas de la grasa de leche, ya que la concentración lipídica se incrementa progresivamente conforme los TAG y el COL aumenta, hecho que se corroboró con la pendiente de la ecuación entre las dos variables (figura 32 y 33).

**Figura 32.** Correlación entre grasa de leche y triacilgliceroles,  $n = 63$  vacas de alta producción



Grasa de leche (●); respuesta pronosticada (—).

**Figura 33.** Correlación entre grasa de leche y colesterol,  $n = 63$  vacas de alta producción

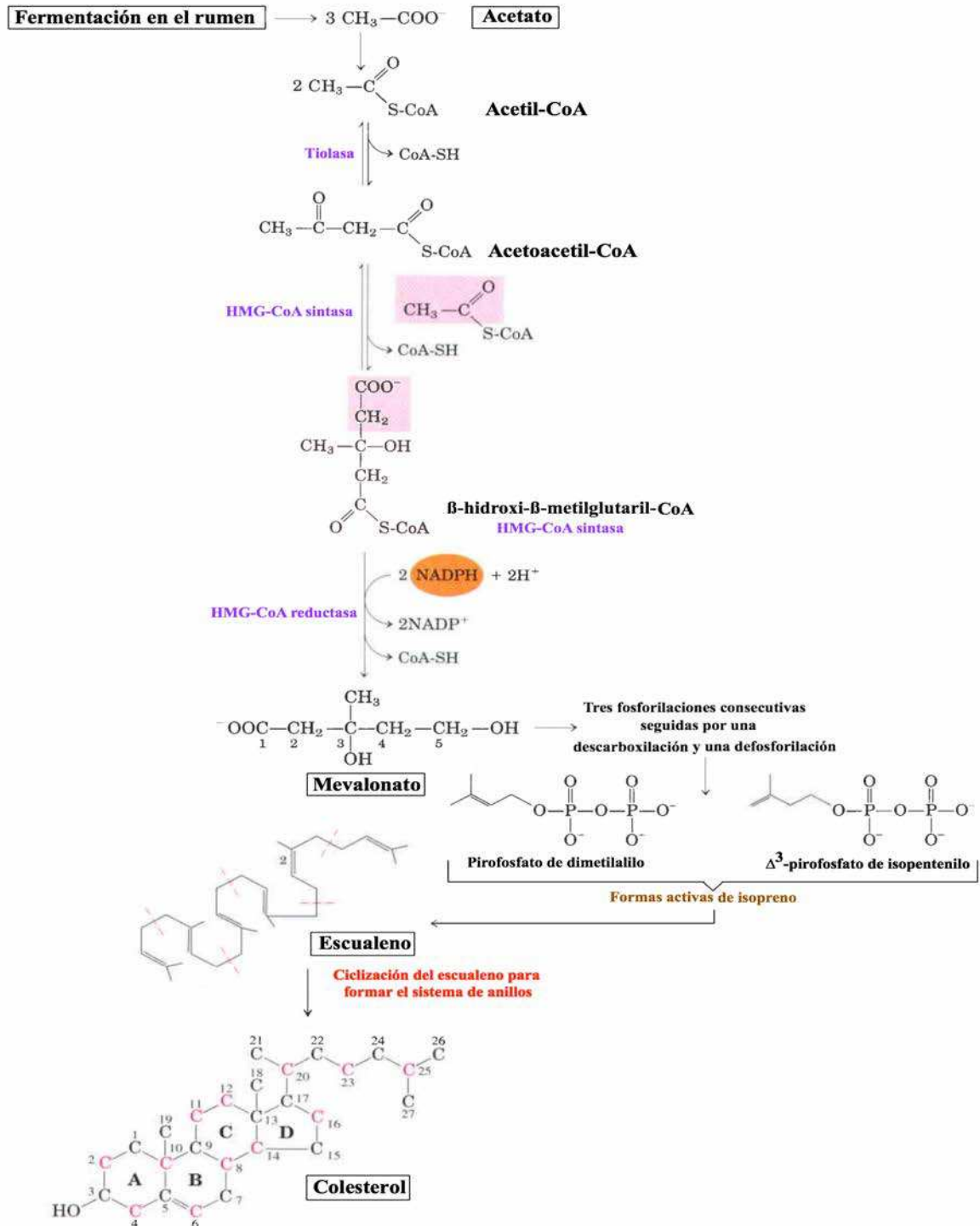


Grasa de leche (●); respuesta pronosticada (—).

En el retículo endoplasmático liso, las primeras reacciones de la síntesis de COL son similares a las reacciones que conducen a la formación de los cuerpos cetónicos AcAc y  $\beta$ -HBA (Pujol, 2014). Dos moléculas de acetil-CoA reaccionan para formar acetoacetil-CoA, en una reacción catalizada por tiolasa (Civeira *et al.*, 2013). El acetoacetil-CoA se condensa con otra molécula de acetil-CoA para formar  $\beta$ -hidroxi- $\beta$ -metilglutaril-CoA, en una reacción catalizada por la HMG-CoA sintasa (Sanhueza *et al.*, 2012). En este punto, las reacciones de la síntesis de COL y de AcAc y  $\beta$ -HBA divergen. En la

cetogénesis la  $\beta$ -hidroxi- $\beta$ -metilglutaril-CoA es dividida, y en la formación de COL es reducida por la enzima HMG-CoA reductasa (Pujol, 2014). Esta enzima utiliza  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  como agente reductor, dando como resultado el mevalonato (figura 34).

**Figura 34.** Resumen de la síntesis de Colesterol



Fuente: elaboración propia a partir de (Nelson y Cox, 2007).

Tres fosforilaciones consecutivas, seguidas por una descarboxilación y una defosforilación, conducen a la formación de  $\Delta^3$ -pirofosfato de isopentenilo y de su isómero pirofosfato de dimetilalilo, formas activas de isopreno que son “polimerizadas” para formar escualeno (Civeira *et al.*, 2013). Este terpeno ya contiene todos los átomos de carbono que forman al COL ( $C_{27}H_{46}O$ ). Las próximas etapas consisten en la ciclización del escualeno para formar el sistema de anillos de los compuestos esteroideos (Pujol, 2014).

Una vez biosintetizado el COL, éste es transportado junto con TAG y fosfolípidos en VLDLc por el torrente sanguíneo hacia los tejidos periféricos (Sanhueza *et al.*, 2012). En el caso del tejido glandular mamario, la enzima lipoproteína lipasa mamaria libera los TAG, para utilizarlos como ácidos grasos libres. Estos ácidos pueden sufrir una desaturación por la  $\Delta^9$ -estearoil-CoA desaturasa.

Posteriormente, los ácidos grasos se esterifican gracias a la acción enzimática de la acil-CoA: diacilglicerol transferasa, dando lugar a los TAG que serán secretados en los glóbulos grasos de la leche (Nafikov y Beitz, 2007). Los lactocitos emplean el COL esterificado a un ácido graso, para integrar junto con carotenoides y vitaminas liposolubles, el núcleo del glóbulo graso, y el COL no esterificado para formar parte de la membrana del glóbulo graso, incrementando la fracción lipídica de la leche (Folnozić *et al.*, 2015).

En cuanto al metabolismo lipoproteínico, éste presenta características similares y diferentes entre especies. En el caso de las vacas lecheras en su carácter de rumiantes, poseen un patrón HDLc en su metabolismo lipoproteínico (Herdt, 2000). Por lo tanto, el COL es captado por las HDLc en lugar de las LDLc como sucede en el caso de los humanos, conejos, cerdos, y algunas especies de monos cuyo patrón es LDLc (Civeira *et al.*, 2013). Por lo que, durante las primeras semanas de lactancia, todo aumento de COL es acompañado de manera paralela por un incremento de HDLc. Esta característica permite que las vacas puedan soportar elevados niveles de COL sin efectos perjudiciales en su salud, debido a que en los rumiantes las HDLc actúan como factor de protección (Kaneko *et al.*, 2008). Los ácidos grasos poliinsaturados de la dieta se incorporan de manera preferencial en fosfolípidos en lugar de TAG (Jump, 2011). Estos fosfolípidos son transportados por HDLc, sin embargo, (Stamey Lanier *et al.*, 2013) demostraron que las HDLc no son hidrolizadas por la lipoproteína lipasa mamaria, imposibilitando en gran medida, el acceso de los ácidos grasos poliinsaturados a la glándula mamaria.

Por otro lado, el rendimiento en la proteína de leche de  $2.91 \pm 0.22$  g/kg, y el valor de urea ( $5.75 \pm 2.13$  mM), fue ligeramente inferior al rango de referencia de  $8.90 \pm 1.80$  mM (Kaneko *et al.*, 2008). Gran parte del nitrógeno contenido en la PDR, es convertido por fermentación ruminal en  $\text{NH}_4^+$  (Abdoun *et al.*, 2007). Este ion es el sustrato principal de nitrógeno, para la síntesis de proteína bacteriana (Abdoun *et al.*, 2007; Burgos *et al.*, 2007).

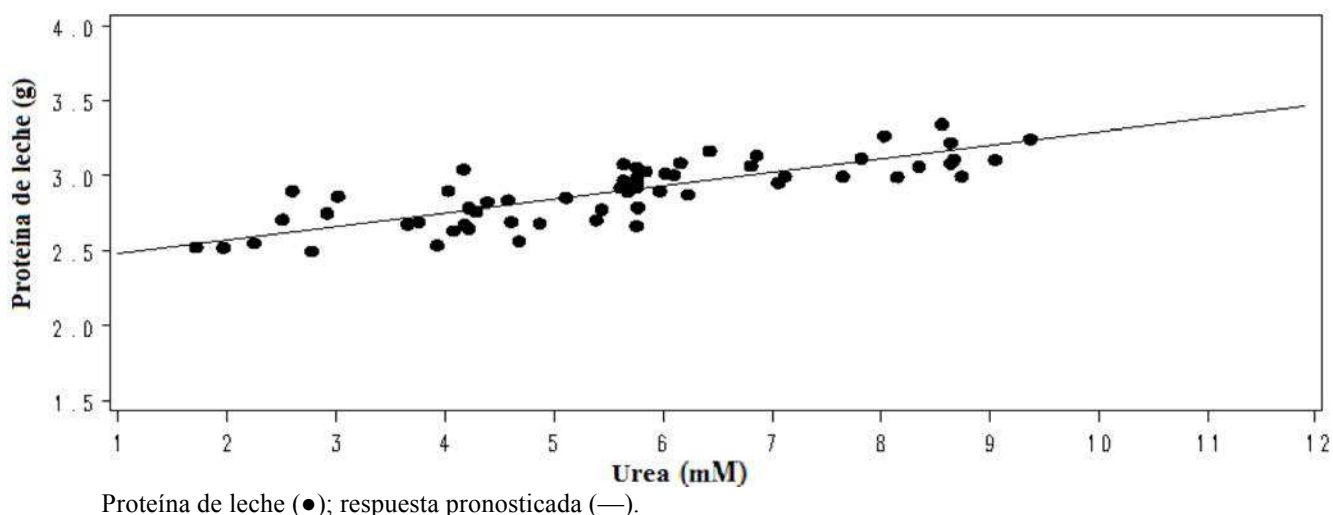
Cuando se suministra una concentración baja de carbohidratos no estructurales en la dieta, se presenta un desequilibrio con la PDR, y la concentración de  $\text{NH}_4^+$  ruminal se incrementa, ya que excede la capacidad de la microbiota para utilizarlo (Bach *et al.*, 2005). Su acumulación alcaliniza el pH ruminal a 7.5, facilitando la formación de  $\text{NH}_3$ , que presenta una fácil absorción por la pared ruminal (Abdoun *et al.*, 2007). Esta condición incrementa la síntesis de urea en los hepatocitos y por ende su presencia en el torrente sanguíneo.

Por el contrario, vacas alimentadas con dietas de moderado a elevado contenido de carbohidratos no estructurales, que estén en equilibrio con la PDR, presentan un pH inferior a 6.7, facilitando la formación de  $\text{NH}_4^+$  el cual es hidrosoluble, por lo que presenta una lenta absorción por la pared ruminal, disminuyendo la síntesis de urea en los hepatocitos y por consiguiente su concentración en la sangre (Noro y Wittwer, 2012).

Por lo tanto, los resultados encontrados en nuestro estudio no sugieren que el aporte de proteína y almidón en la dieta sea bajo, ya que los animales recibieron una buena cantidad de alfalfa y concentrado: 1) grupo de alta producción: 7.14 kg/d de heno de alfalfa, 1.32 kg/d de ensilaje de alfalfa y 13.25 kg/d de concentrado con 17.80 % de PC; 2) grupo de baja producción: 4 kg/d de heno de alfalfa, 14.3 kg/d de alfalfa picada y 7 kg/d de concentrado con 14.60 % de PC. Por el contrario, indicarían que gran parte de la PDR está siendo utilizada de manera eficiente por la flora ruminal (Noro y Wittwer, 2012), y que el reciclaje de urea por saliva, así como su eliminación por orina y leche también es eficaz (Bach *et al.*, 2005).

La urea fue identificada como una variable significativa para explicar el comportamiento de la proteína de leche, al presentar un elevado coeficiente ( $R^2 = 0.71$ ;  $P < 0.001$ ) en el grupo de vacas de alta producción (figura 35).

**Figura 35.** Correlación entre proteína de leche y urea,  $n = 63$  vacas de alta producción



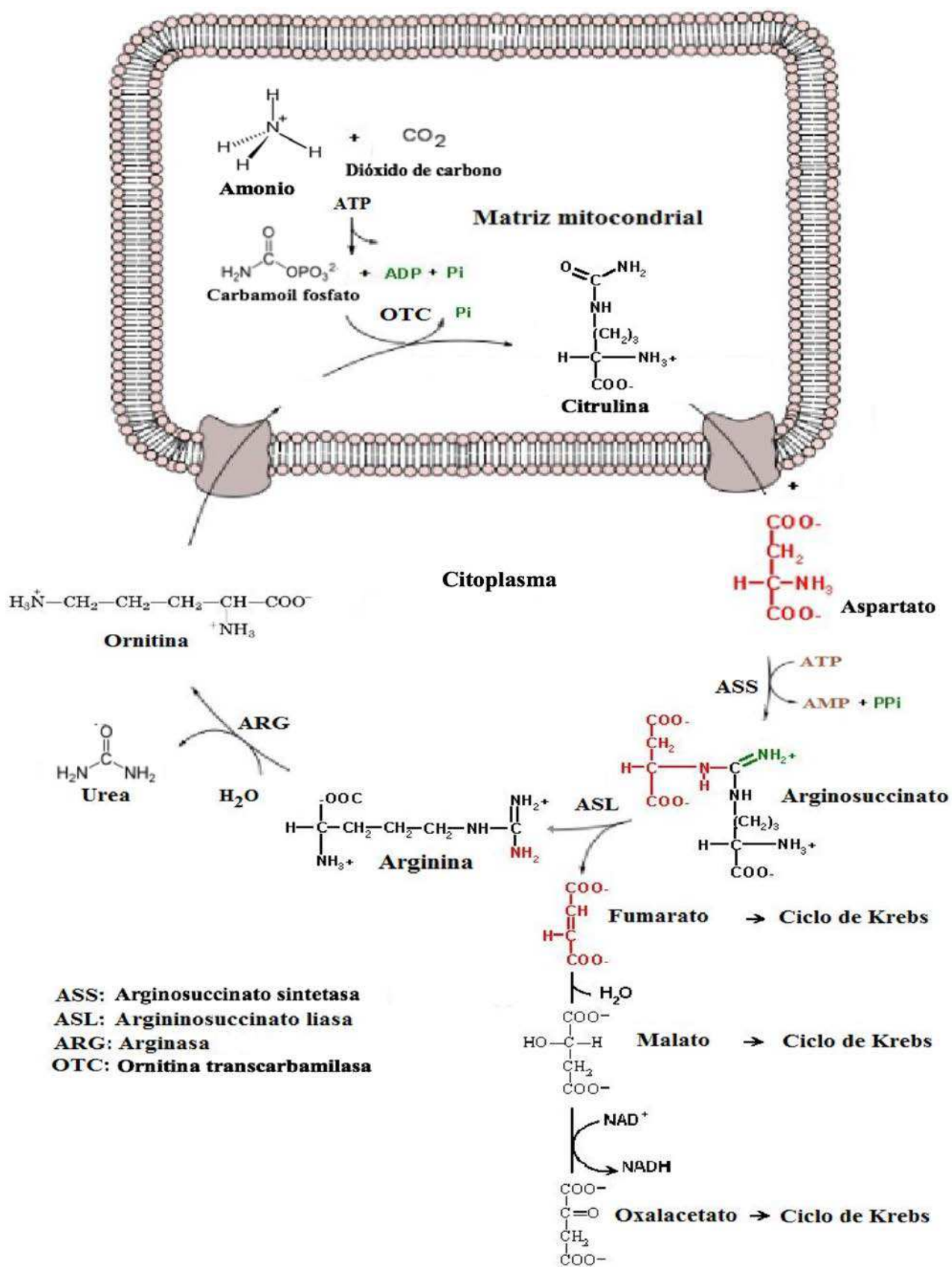
Después de que el  $\text{NH}_4^+$  es absorbido por la pared ruminal, llega al hígado a través de la vena porta (Abdoun *et al.*, 2007). Donde el primer contacto del  $\text{NH}_4^+$  es con los hepatocitos periportales, que poseen en su estructura enzimas ureagénicas encargados de la síntesis de urea (Noro y Wittwer, 2012). La ureagénesis inicia con la condensación de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_4^+$  (donador del primer nitrógeno) y ATP como fuente de energía para formar carbamoil fosfato (**CbP**) (Bach *et al.*, 2005) (figura 36).

El CbP entra en el ciclo de la urea, cediendo su grupo carbamilo a la ornitina, reacción dependiente de la enzima ornitina transcarbamilasa (**OTC**), formando citrulina (Abdoun *et al.*, 2007). La citrulina emigra de la matriz mitocondrial al citoplasma, donde se une al aspartato (donador del segundo nitrógeno), reacción dependiente de la enzima arginosuccinato sintetasa (**AAS**) y de ATP, formando arginosuccinato (Noro y Wittwer, 2012).

En seguida, la reacción enzimática de la argininosuccinato liasa corta el arginosuccinato en arginina y fumarato. La arginina es hidrolizada por la reacción enzimática de la arginasa (**ARG**) liberando urea y ornitina, que entra en la matriz mitocondrial para iniciar otra vuelta en el ciclo (Bach *et al.*, 2005). El  $\text{NH}_4^+$  que no es metabolizado en urea, tiene contacto con los hepatocitos perivenosos, que poseen en su estructura la enzima glutamina sintetasa citosólica, que convierte glutamato en glutamina (Abdoun *et al.*, 2007).



Figura 36. Ciclo de la urea



Fuente: elaboración propia a partir de (Bach *et al.*, 2005).

La glutamina contiene dos grupos aminos por lo que favorece el transporte y excreción de  $\text{NH}_4^+$  en la orina (Bach *et al.*, 2005). La urea se disemina rápidamente en los espacios con agua de los tejidos corporales, por lo que se propaga de la sangre a la leche incrementando su fracción proteica (Nousiainen *et al.*, 2004), lo que beneficiaría económicamente al productor lechero, al tener acceso a los estímulos económicos que otorgan las empresas captadoras de leche, por este incremento proteico.

## **XII. 6. Conclusiones y recomendaciones**

Se identificaron correlaciones positivas entre la grasa de leche y el COL, TAG y  $\beta$ -HBA en las vacas de alta producción. La proteína de leche se correlacionó positivamente con GLU, urea, PROT-T,  $\text{PO}_4^{-3}$ ,  $\text{Na}^+$  y Cl<sup>-</sup> en las vacas de alta producción. Una dependencia prácticamente lineal también se encontró entre la grasa de leche con COL y TAG, entre la proteína de leche con urea y entre la relación grasa: proteína con COL y TAG en las vacas de baja producción. Los hallazgos proporcionan una visión de los mecanismos fisiológicos subyacentes a la lactancia y la identificación de los vínculos entre analitos clave y rasgos de la leche, tales como la proteína y el contenido de grasa.

El COL y los TAG son transportados de los tejidos periféricos al hígado por las HDLc. La gran mayoría de TAG salen del hepatocito en VLDLc, para ser utilizados como fuente de energía y para la síntesis de grasa láctea. Para que esto ocurra, el hígado debe ser capaz de sintetizar apolipoproteína B (**apo B**). Por lo tanto, se sugiere continuar el estudio particular de apo B, HDLc, LDLc y VLDLc con el objetivo de cuantificar su concentración en las vacas lecheras, e identificar su influencia sobre la grasa de leche a través de la lactancia. El estudio se enriquecería aún más, si a la par se cuantifica a la lecitina: colesterol aciltransferasa, enzima clave en la formación de ésteres de COL.

### **XIII. COMPARACIÓN DE ANALITOS BIOQUÍMICOS CORRELACIONADOS CON LA GRASA Y PROTEÍNA DE LECHE A TRAVÉS DEL TIEMPO**

#### **XIII. 1. Colecta de leche II y análisis de grasa y proteína láctea**

El estudio se llevó a cabo con 450 muestras de leche, pertenecientes a 50 vacas Holstein de nueve establos lecheros tecnificados, localizados en el Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca Hidalgo. Al considerar que la leche de los primeros días contiene calostro, que el pico de producción comúnmente es entre 30 y 60 d p.p. (Oetzel, 2004; Quiroz-Rocha *et al.*, 2009), y que la producción por lo general comienza a descender de 12 a 14 semanas p.p. (NRC, 2001). A partir de la primera semana p.p., siete mediciones repetidas con un intervalo de 15 d entre ellas, fueron efectuadas.

La leche se obtuvo durante el primer ordeño de la mañana y antes de la alimentación, utilizando frascos de 100 mL con tapa, previamente identificados con el número de registro, establo y grupo de estudio (7, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 d p.p.). Las muestras se mezclaron con 0.04 g/100 mL de Bronopol (Broad Spectrum Microtabs II 953; D&F Control Systems., Massachusetts, Estados Unidos) como método de conservación (Sánchez *et al.*, 2005). Posteriormente, los frascos se conservaron a 4 °C en un refrigerador portátil (Thermoelectric Cooler Car/Home M5644-710; The Coleman Company., Kansas, Estados Unidos), para ser transportados al Laboratorio de Análisis Lácteos, de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, donde se atemperó la leche hasta alcanzar 37 °C a baño María utilizando (Digital Bain-Marie OE3707; FUNKE GERBER., Berlín, Alemania). La concentración de grasa y proteína láctea se determinó espectrofotométricamente (MilkoScan 133B infrarrojo; Foss Electric., Hillerod, Dinamarca) (FOSS, 2011).

#### **XIII. 2. Muestreo sanguíneo III y determinación de los perfiles metabólicos**

Las muestras de sangre se obtuvieron de las 50 vacas Holstein muestreadas para leche, mediante punción en la vena coccígea, utilizando tubos al vacío de 8.5 mL con activador de coagulación y gel separador (BD Vacutainer 367988; Becton- Dickinson Co., Franklin Lakes, Estados Unidos), después del primer ordeño de la mañana y antes de la alimentación.

Para la obtención del suero, las muestras se centrifugaron directamente en los establos, a 1 500 x g durante 10 min como lo describe (van Saun, 2010), mediante una centrifuga portátil (Porta-Spin C828; ÚNICO., Dayton, Estados Unidos). Posteriormente, los sueros se separaron utilizando tubos de 5 mL con tapa (Tubes 933008; Eppendorf., Madrid, España) y se conservaron a 4 °C en un refrigerador portátil (Thermoelectric Cooler Car/Home M5644-710; The Coleman Company., Kansas, Estados Unidos), para ser transportados al Laboratorio de Análisis Clínicos, de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, donde se congeló el suero a -20 °C hasta su análisis. La concentración de cada uno de los analitos se determinó espectrofotométricamente (Biochemistry Analyzer ES-218 UV-Vis; KONTROLab., Guidonia, Italia). Los analitos bioquímicos, el método analítico de cada parámetro, las unidades en que se expresan los resultados y los reactivos comerciales correspondientes, se describen en el (cuadro 9), de la etapa “VALORES DE REFERENCIA PARA DIFERENTES ANALITOS BIOQUÍMICOS, EN ESTABLOS TECNIFICADOS DEL COMPLEJO AGROPECUARIO INDUSTRIAL DE TIZAYUCA HIDALGO”.

### **XIII. 3. Análisis estadístico**

Para el tratamiento de los datos obtenidos se utilizó el programa estadístico (SAS, System, v. 8.2, Cary, NC). La comparación entre grupos (7, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 d p.p.) se evaluó mediante Análisis de Varianza e histograma de frecuencia. El Análisis de Regresión (PROC REG; SAS, 2001) (anexo 3), cuya significación estadística se manifestó por el coeficiente de correlación de Pearson y un valor ( $P < 0.05$ ), fue utilizado para evaluar las relaciones entre los analitos bioquímicos y el contenido de grasa y proteína de leche. El siguiente modelo de regresión se puso a prueba:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 \cdot X_1 + e_1$$

donde:

$Y$	=	grasa de leche, proteína de leche, relación grasa: proteína;
$X_1$	=	COL, TAG, $\beta$ -HBA y urea;
$\beta_0$	=	intercepto al eje $Y$ ;
$\beta_1$	=	coeficiente de estimación; y
$e_1$	=	error de la estimación.

La bondad del ajuste de cada modelo se estimó por R cuadrado ajustado ( $R^2$ ). Un diagnóstico de los valores atípicos (*Outlier*) se realizó mediante un macro que calcula la distancia robusta de Mahalanobis para cada observación, asignando un peso a las observaciones cuyo valor tiene probabilidad de ser ( $\chi^2$ )  $< P$  donde las observaciones con menor varianza tendrán más importancia que las de mayor varianza (Friendly, 2008) tomando en cuenta las correlaciones entre las variables y la variabilidad de clases.

Se realizó un diagnóstico de los principales supuestos para cada modelo de regresión. La forma funcional lineal se comprobó visualmente con una gráfica, la normalidad de los residuales o errores se verificó mediante la prueba Shapiro-Wilk e histograma de frecuencia, la homocedasticidad se confirmó visualmente con una gráfica que comparó la varianza de los valores residuales frente a los valores previstos y se verificó la no autocorrelación de los residuales mediante la prueba de Durbin-Watson.

### **XIII. 4. Resultados**

La concentración de COL, cuantificó su valor más alto ( $5.50 \pm 1.13$  mM) a los 90 d p.p. Su concentración más baja ( $2.05 \pm 1.11$  mM), se registró a los 7 d p.p. Las correlaciones positivas más sobresalientes entre COL y grasa de leche se cuantificaron a los 45 d p.p. ( $R^2 = 0.52$ ;  $P < 0.01$ ), y a los 7 d p.p. ( $R^2 = 0.46$ ;  $P < 0.01$ ). Los TAG mostraron su concentración más alta ( $0.14 \pm 0.01$  mM) a los 90 d p.p. Su valor más bajo ( $0.11 \pm 0.01$  mM), se registró a los 7 d p.p. Las correlaciones positivas más sobresalientes entre TAG y grasa de leche se cuantificaron a los 45 y 60 d p.p. ( $R^2 = 0.45$ ;  $P < 0.01$ ).

La concentración de  $\beta$ -HBA presentó su valor más alto ( $0.68 \pm 0.14$  mM) a los 30 d p.p. Su concentración más baja ( $0.48 \pm 0.12$  mM), se registró a los 90 d p.p. La correlación positiva más sobresaliente entre  $\beta$ -HBA y grasa de leche se cuantificó a los 30 d p.p. ( $R^2 = 0.40$ ;  $P < 0.01$ ). A partir de los 45 d p.p., el  $\beta$ -HBA no se correlaciono con la grasa de leche. Por último, la urea mostró su concentración más alta ( $7.55 \pm 1.13$  mM) a los 30 d p.p. Su valor más bajo ( $4.84 \pm 1.18$  mM), se registró a los 90 d p.p. Las correlaciones positivas más sobresalientes entre urea y proteína de leche se cuantificaron a los 45 d p.p. ( $R^2 = 0.70$ ;  $P < 0.001$ ), y a los 60 d p.p. ( $R^2 = 0.69$ ;  $P < 0.001$ ).

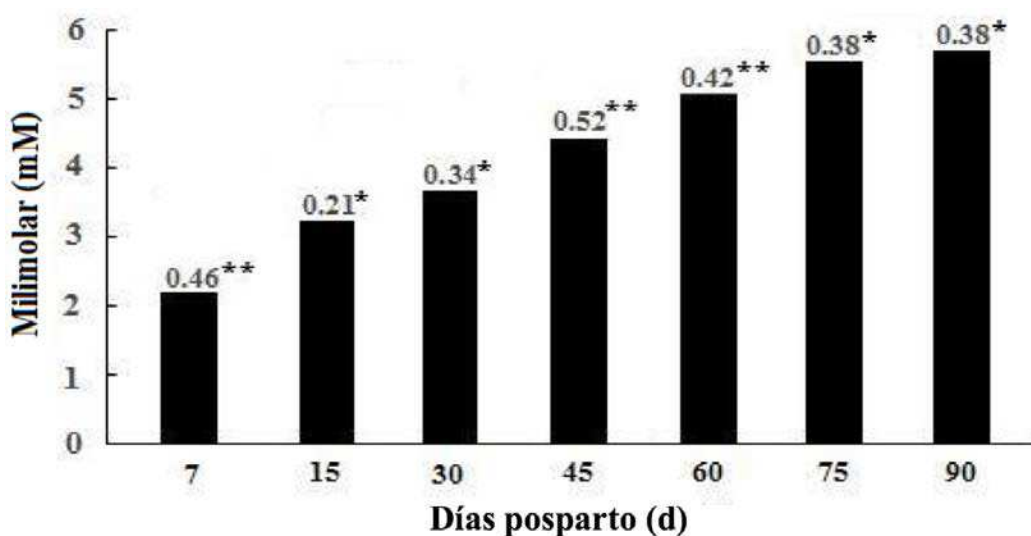
### XIII. 5. Discusión

La concentración de COL presentó su valor más bajo durante la primera semana de lactancia, y luego se incrementó progresivamente hasta los 90 d p.p. Estos resultados son consistentes con lo reportado por Gross *et al.* (2015), quienes señalaron una concentración de  $(2.53 \pm 0.06 \text{ mM})$  para COL durante la semana tres a.p., un valor mínimo de  $(1.59 \pm 0.05 \text{ mM})$  en la primera semana de lactancia, y un incremento gradual hasta alcanzar  $(4.91 \pm 0.12 \text{ mM})$  como valor máximo durante la semana 14 p.p.

A pesar de que la concentración sanguínea de COL, fue menor durante la primera semana (Figura 37), su correlación con la grasa de leche a los 7 d p.p. ( $R^2 = 0.46$ ;  $P < 0.01$ ), obtuvo un coeficiente mayor en comparación con 15 y 30 d p.p.

**Figura 37.** Comparación de colesterol y su correlación con la grasa a través del tiempo,

$n = 50$  vacas Holstein



$R^2$ : \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ .

Estos datos sugieren que durante la primera semana de lactancia, la fracción lipídica recibe una mayor influencia de COL que durante la tercera y cuarta semana. Suposición compatible con lo reportado por Kessler *et al.* (2014), quienes señalaron variaciones en la concentración de COL medido en leche, cuantificando  $(248.33 \pm 18.27 \text{ mg de COL/100 g de grasa})$  durante la primera semana de lactancia, para después disminuir progresivamente hasta alcanzar un valor mínimo de  $(171.55 \pm 14.67 \text{ mg de COL/100 g de grasa})$  en la cuarta semana, seguido de un incremento gradual hasta  $(272.35 \pm 9.90 \text{ mg de COL/100 g de grasa})$  en la semana 14 p.p.

En este sentido, es oportuno señalar que sólo una pequeña parte del COL contenido en la leche se origina *de novo* en la glándula mamaria, mientras que la captación de COL sanguíneo es mucho más acentuada (Folnozić *et al.*, 2015). Por lo tanto, es probable que la mayor concentración de COL en la leche durante la primera semana p.p., sea parcialmente responsable de la baja concentración de COL en la sangre.

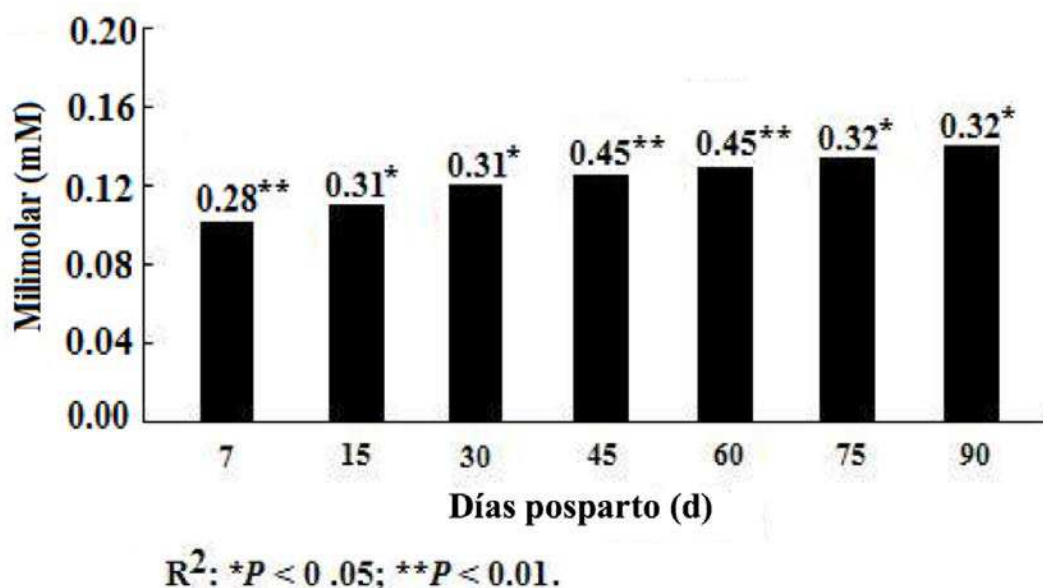
Por otro lado, los transcritos de ARNm de los transportadores ABCA1 y ABCG1 de unión a ATP, encargados de regular el ingreso de fosfolípidos, COL y HDLc al interior de los lactocitos, exhiben patrones diferentes a través de la lactancia, cuantificando su mayor expresión antes de los 50 d p.p. Por tal motivo, las correlaciones entre COL y grasa de leche ( $R^2 = 0.46$ ;  $P < 0.001$ ) a los 7 d p.p., y ( $R^2 = 0.52$ ;  $P < 0.001$ ) a los 45 d p.p. podrían ser explicadas por un aumento del flujo de COL a la glándula mamaria, producto de la mayor expresión de los transportadores ABCA1 y ABCG1 de unión a ATP (Mani *et al.*, 2009; Mani *et al.*, 2011).

La concentración de TAG presentó su valor más bajo durante la primera semana de lactancia, y luego se incrementó progresivamente hasta los 90 d p.p. Estos resultados son consistentes con lo reportado por Kessler *et al.* (2014), quienes señalaron una concentración de ( $0.22 \pm 0.01$  mM) para TAG durante la tercera semana a.p., un valor mínimo de ( $0.11 \pm 0.00$  mM) en la primera semana de lactancia, y un incremento gradual hasta alcanzar ( $0.13 \pm 0.00$  mM) como valor máximo durante la semana 14 p.p.

Al respecto, durante el BEN propio de la lactancia temprana, las reservas de grasa corporal se movilizan y los AGNE transportados por la ALB (Kaneko *et al.*, 2008), llegan al hígado donde se oxidan o se esterifican en TAG (Sanhueza *et al.*, 2012), lo que aparentemente incrementaría la concentración sanguínea de TAG. Sin embargo, al inicio de la lactancia la disminución de apo B, disminuye drásticamente la concentración de VLDLc, LDLc y HDLc (Nafikov y Beitz, 2007), como consecuencia el transporte sanguíneo de los TAG se ve reducido.

Además, la acumulación temporal de TAG en el hígado de vacas lecheras es un proceso fisiológico normal (Duffield *et al.*, 2009). Todas las vacas de alto valor genético tienen un grado moderado de lipidosis hepática después del período seco, y acumulan TAG en el hígado durante los primeros días p.p. (Ospina *et al.*, 2010). Por lo tanto, esta acumulación es parcialmente responsable de la baja concentración de TAG en la sangre (figura 38).

**Figura 38.** Comparación de triacilgliceroles y su correlación con la grasa a través del tiempo,  $n = 50$  vacas Holstein



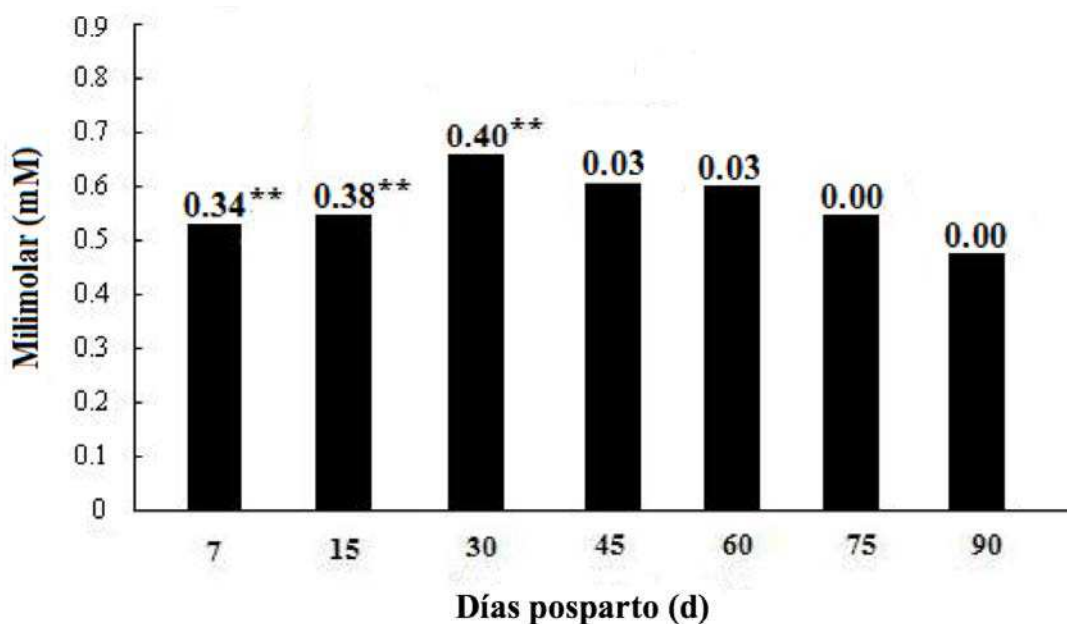
Las correlaciones cuantificadas entre TAG y grasa de leche a los 45 y 60 d p.p. ( $R^2 = 0.45$ ;  $P < 0.01$ ), sugieren que cerca del pico de producción de leche (entre 30 y 60 d p.p.) (Oetzel, 2004; Quiroz-Rocha *et al.*, 2009), la disponibilidad de TAG incrementa la captación de ácidos grasos por la glándula mamaria. Al respecto, Stamey Lanier *et al.* (2013), reportaron un incremento en la actividad de la enzima lipoproteína lipasa mamaria durante este período, aumentando la hidrólisis de los TAG, para ser utilizados como ácidos grasos libres, y nuevamente esterificados en los glóbulos grasos de la leche (Nafikov y Beitz, 2007).

El BEN también presenta una inadecuada biosíntesis hepática de GLU, acompañada de una menor estimulación de las células  $\beta$  del páncreas, comprometiendo la liberación de insulina (Nafikov y Beitz, 2007). En consecuencia, durante las primeras semanas p.p., se presenta una marcada hipoglucemia. El metabolismo de las vacas lecheras, responde a esta situación con la hidrólisis de los TAG almacenados en el tejido adiposo, al obtener ácidos grasos que pueden ser oxidados dentro de la matriz mitocondrial hepática (Bobe *et al.*, 2004), para la producción de acetil-CoA (Wakil y Abu-Elheiga, 2009). Durante la condensación consecutiva de acetil-CoA, se obtiene AcAc como producto alterno (Brownsey *et al.*, 2006), y una parte de él se reduce por la  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa a  $\beta$ -HBA (Dashty, 2013).



El  $\beta$ -HBA es un analito que se puede utilizar como una fuente adicional de energía, para cubrir la escasez de GLU durante el BEN (Ospina *et al.*, 2010). Por lo tanto, durante la primera etapa de lactancia su concentración se eleva ligeramente en respuesta a la movilización lipídica, y desciende cuando el balance energético se vuelve positivo (Duffield *et al.*, 2009; McCarthy *et al.*, 2015). Esta información es congruente con nuestros resultados (figura 39), ya que se observó el incremento de este analito hasta los 30 d p.p., y después se cuantificó un descenso progresivo conforme avanzó la lactancia.

**Figura 39.** Comparación de  $\beta$ -hidroxibutirato y su correlación con la grasa a través del tiempo,  $n = 50$  vacas Holstein



$R^2$ : \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ .

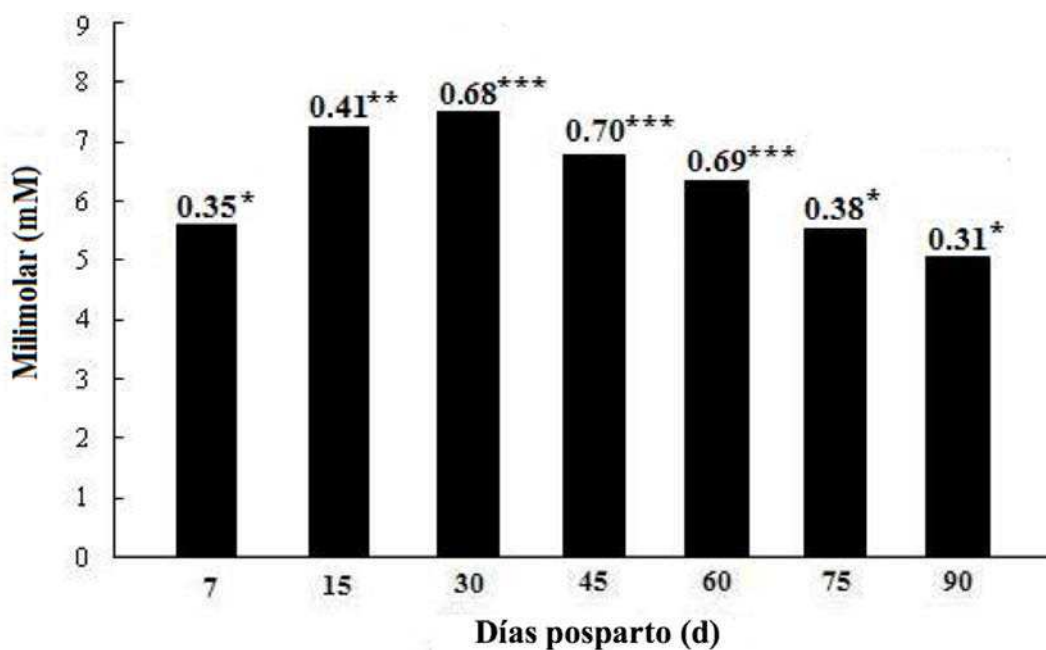
Las correlaciones positivas entre  $\beta$ -HBA y grasa de leche observadas a los 7, 15 y 30 d p.p. (figura 39), sugieren que este analito se asocia con una mayor concentración de grasa, sólo durante la lactancia temprana. Al respecto, Duffield *et al.* (2009) indicaron que el  $\beta$ -HBA se relaciona durante la primera y segunda semana p.p., con un mayor porcentaje de grasa de leche. Pero también señalan, que valores elevados disminuyen la producción de leche y el porcentaje de proteína láctea. Por lo que recomiendan mantener su concentración por debajo de 1.2 mM.

Por último, las correlaciones positivas más sobresalientes entre urea y proteína de leche (figura 40), sugieren que cerca del pico de producción, la disponibilidad de urea incrementa la captación de NNP por la glándula mamaria (Cozzi *et al.*, 2011).

Estos resultados son consistentes con lo reportado por Jonker *et al.* (1998) y Jonker y Kohn (2001), quienes señalaron variaciones en la concentración de urea medida en leche, cuantificando (15.90 mg/dL) como valor máximo alrededor de los 63 d p.p., y (2.62 mg/dL) como valor mínimo durante la primera semana de lactancia.

**Figura 40.** Comparación de urea y su correlación con la proteína a través del tiempo,

*n* = 50 vacas Holstein



**R<sup>2</sup>: \*P < 0.05; \*\*P < 0.01; \*\*\*P < 0.001.**

La concentración de nitrógeno sanguíneo en la vaca lechera, resulta de la difusión de NH<sub>3</sub> y NH<sub>4</sub><sup>+</sup> desde el rumen, y del transporte de AA y péptidos desde el intestino delgado (Simmons *et al.*, 2009). Una fracción de estos AA y péptidos se utiliza en la glándula mamaria para la producción de proteína de leche, y el resto se desaminan en el hígado y se convierten en urea (Burgos *et al.*, 2007). El NH<sub>3</sub> libre es tóxico, por lo tanto, su transporte en grupos amina depende de la glutamina sintetasa. Enzima encargada de controlar el flujo de NH<sub>3</sub> hacia la ureagénesis, o hacia la síntesis de glutamina dependiendo del pH del organismo (Reynolds y Kristensen, 2008). En la sangre, la urea es una pequeña molécula neutra, por lo que se difunde fácilmente a través de las membranas celulares (Marini y van Amburgh, 2003). Por lo tanto, cuando su disponibilidad sanguínea se incrementa, se difunde dentro de la glándula mamaria con mucha facilidad, reflejando la existencia de un equilibrio isotónico entre la sangre y la leche, e incrementando la fracción proteica de la leche.

### XIII. 6. Conclusiones y recomendaciones

Se cuantificaron correlaciones positivas entre COL, TAG,  $\beta$ -HBA y la grasa de leche a través de la lactancia. Se identificó el punto de mayor influencia sobre la fracción lipídica, a los 7 y 45 d p.p. para COL, a los 45 y 60 d p.p. para TAG y a los 30 d p.p. para  $\beta$ -HBA. Se cuantificó una correlación positiva entre urea y la proteína de leche a través de la lactancia. Se identificó el punto de mayor influencia sobre la fracción proteica, a los 45 y 60 d p.p. para urea. Los hallazgos proporcionan una visión de las respuestas metabólicas causadas por la producción de grasa y proteína de leche en vacas mexicanas.

Los beneficiarios del conocimiento generado son los administradores de múltiples establos en primera instancia, ya que una de sus funciones es el análisis de los componentes lácteos y el diagnóstico anticipado de los problemas posteriores al parto. Pero los aportes generados no están circunscritos a ellos exclusivamente, ya que estos conocimientos pueden ser extrapolados a instituciones del sector lechero nacional.

La grasa y proteína de la leche de vaca, se relaciona con factores de tipo intrínseco (p. ej., especie, raza, genotipo y estado fisiológico) y extrínseco (nutrición) (Bauman *et al.*, 2006). De todos ellos, los cambios en la alimentación parecen ser los que más afectan. Estos efectos pueden explicarse mediante dos mecanismos diferentes: uno directo y otro indirecto. El mecanismo directo estaría relacionado con los lípidos y el nitrógeno que se aportan en el alimento y con el proceso metabólico que éstos sufren en el rumen. El mecanismo indirecto estaría relacionado con los cambios causados por la alimentación en la expresión de los genes que intervienen en la síntesis de grasa y proteína en la glándula mamaria. Así p. ej., la síntesis *de novo* que da lugar a los ácidos grasos de cadena corta y media requiere de las enzimas acetil-CoA carboxilasa y ácido graso sintasa (codificadas por los genes ACACA y FASN respectivamente) (Kadota *et al.*, 2016). Los TAG y las HDLc deben ser hidrolizados por la enzima lipoproteína lipasa mamaria (codificada por el gen LPL) (Crookenden *et al.*, 2015) para que sus ácidos grasos tengan acceso a la glándula mamaria. La desaturación de estos ácidos requiere de la enzima  $\Delta^9$ -estearoil-CoA desaturasa (codificada por los genes SCD1 y SCD5) (Yao *et al.*, 2017). Y la esterificación necesita de la enzima acil-CoA: diacilglicerol transferasa (codificada por el gen DGAT) (Hradecká *et al.*, 2008), para dar lugar a los TAG que serán secretados en los glóbulos grasos de la leche. Por lo tanto, se sugiere realizar futuros estudios basados en nutrigenómica, con el fin de identificar las respuestas en la expresión genética, causadas por la producción de grasa y proteína de leche en vacas lecheras mexicanas.

#### XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdoun, K., F. Stumpff, y H. Martens. 2007. Ammonia and urea transport across the rumen epithelium. *Anim Health Res Rev* 7(1-2):43-59.
2. AbuGhazaleh, A. A., D. O. Felton, y S. A. Ibrahim. 2007. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil and sunflower oil supplementation to dairy cows managed under two feeding systems. *J Dairy Sci* 90(10):4763-4769.
3. Argov-Argaman, N., K. Mida, B. C. Cohen, M. Visker, y K. Hettinga. 2013. Milk fat content and DGAT1 genotype determine lipid composition of the milk fat globule membrane. *PLOS ONE* 8(7):e68707.
4. Ashes, J. R., S. K. Gulati, y T. W. Scott. 1997. Potential to alter the content and composition of milk fat through nutrition. *J Dairy Sci* 80(9):2204-2212.
5. Bach, A., S. Calsamiglia, y M. D. Stern. 2005. Nitrogen metabolism in the rumen. *J Dairy Sci* 88 (Suppl 1):9-21.
6. Barbosa, R. S., V. Fischer, M. E. R. Ribeiro, M. B. Zanela, M. T. Stumpf, G. J. Kolling, J. S. Júnior, L. E. Barros, y A. S. do Egito. 2012. Electrophoretic characterization of proteins and milk stability of cows submitted to feeding restriction. *Pesq Agropec Bras* 47(4):621-628.
7. Barłowska, J., T. Grodzicki, y B. Topyła. 2009. Physicochemical properties of milk fat from three breeds of cows during summer and winter feeding. *Archiv Tierzucht* 52(4):356-363.
8. Bastin, C., N. Gengler, y H. Soyeurt. 2011. Phenotypic and genetic variability of production traits and milk fatty acid contents across days in milk for Walloon Holstein first-parity cows. *J Dairy Sci* 94(8):4152-4163.
9. Bauman, D. E., I. H. Mather, R. J. Wall, y A. L. Lock. 2006. Major advances associated with the biosynthesis of milk. *J Dairy Sci* 89(4):1235-1243.
10. Ben-Shem, A., N. Garreau de Loubresse, S. Melnikov, L. Jenner, G. Yusupova, y M. Yusupov. 2011. The structure of the eukaryotic ribosome at 3.0 Å resolution. *Science* 334(6062):1524-1529.
11. Berk, V., W. Zhang, R. D. Pai, y J. H. Cate. 2006. Structural basis for mRNA and tRNA positioning on the ribosome. *P Natl Acad Sci USA* 103(43):15830-15834.

12. Bevilacqua, C., J. C. Helbling, G. Miranda, y P. Martin. 2006. Translational efficiency of casein transcripts in the mammary tissue of lactating ruminants. *Reprod Nutr Dev* 46(5):567-578.
13. Bjerre-Harpoth, V., N. C. Friggens, V. M. Thorup, T. Larsen, B. M. Damgaard, K. L. Ingvarsen, y K. M. Moyes. 2012. Metabolic and production profiles of dairy cows in response to decreased nutrient density to increase physiological imbalance at different stages of lactation. *J Dairy Sci* 95(5):2362-2380.
14. Bobe, G., J. W. Young, y D. C. Beitz. 2004. Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *J Dairy Sci* 87(10):3105-3124.
15. Bojkovski, J., R. Relic, B. Savic, y T. Petrujkic. 2011. Metabolic parameters and welfare of dairy cows. *Bul UASVM Vet Med* 68(2):48-55.
16. Bossaert, P., E. Trevisi, G. Opsomer, G. Bertoni, S. De Vliegher, y J. L. Leroy. 2012. The association between indicators of inflammation and liver variables during the transition period in high-yielding dairy cows: an observational study. *Vet J* 192(2):222-225.
17. Bouda, J., C. A. Gutiérrez, H. G. Salgado, y G. K. C. Kawabata. 2005. Monitoreo, diagnóstico y prevención de trastornos metabólicos en vacas lecheras. *Bovinotecnia-Boletín Técnico Virtual*. Departamento de Producción Animal. Universidad Nacional Autónoma de México [en línea] <http://www.fmvez.unam/bovinotecnia/index.html>. Consultado el 30 Septiembre, 2012.
18. Broderick, G. A., P. Huhtanen, S. Ahvenjarvi, S. M. Reynal, y K. J. Shingfield. 2010. Quantifying ruminal nitrogen metabolism using the omasal sampling technique in cattle: a meta analysis. *J Dairy Sci* 93(7):3216-3230.
19. Brownsey, R. W., A. N. Boone, J. E. Elliott, J. E. Kulpa, y W. M. Lee. 2006. Regulation of acetyl-CoA carboxylase. *Biochem Soc Trans* 34(2):223-227.
20. Burgos, S. A., J. G. Fadel, y E. J. Depeters. 2007. Prediction of ammonia emission from dairy cattle manure based on milk urea nitrogen: relation of milk urea nitrogen to urine urea nitrogen excretion. *J Dairy Sci* 90(12):5499-5508.
21. Bylund, G. M. 2003. Composición de la leche de vaca/principales ácidos grasos en la grasa de la leche. En *Manual de industrias lácteas*. Mundi-Prensa libros, (Ed.) 1ª ilustrada, ed. Pág 19. Tetra Pak Processing Systems. Madrid, España.
22. Calsamiglia, S., P. W. Cardozo, A. Ferret, y A. Bach. 2008. Changes in rumen microbial fermentation are due to a combined effect of type of diet and pH. *J Anim Sci* 86(3):702-711.

23. Canadian Council on Animal Care. 1993. Farm animal facilities and environment/Cattle. En Guide to the care and use of experimental animals. Olfert, D. E., M. B. Cross y A. A. McWilliam, (Eds.) 2<sup>nd</sup>, ed. Págs. 65-69. Community Care Access Centres. Ottawa, Ontario.
24. CANILEC. 2015. La producción nacional de leche y las perspectivas de crecimiento económico 2015. Mercados y estadísticas. Cámara Nacional de Industriales de la Leche [en línea] <http://www.canilec.org.mx/index.html>. Consultado el 25 Mayo, 2015.
25. Casida, J. E. y K. A. Durkin. 2013. Anticholinesterase insecticide retrospective. *Chem Biol Interact* 203(1):221-225.
26. Ceballos, A., P. Gómez, M. Vélez, N. A. Villa, y L. López. 2002. Variación de los indicadores bioquímicos del balance de energía según el estado productivo en bovinos lecheros de Manizales, Colombia. *Rev Col Cienc Pec* 15(1):13-22.
27. Čejna, V. y G. Chládek. 2005. The importance of monitoring changes in milk fat to milk protein ratio in Holstein cows during lactation. *J Cent Eur Agr* 6(4):539-546.
28. Chinnadurai, K., H. K. Kanwal, A. K. Tyagi, C. Stanton, y P. Ross. 2013. High conjugated linoleic acid enriched ghee (clarified butter) increases the antioxidant and antiatherogenic potency in female Wistar rats. *Lipids Health Dis* 12(1):121.
29. Civeira, F., L. Baila, I. de Castro-Orós, R. Mateo-Gallego, y A. Cénarro. 2013. Novedades en el metabolismo lipídico. *Nefrología* 4(4).
30. CNOG. 2012. Información económica pecuaria. No 22. Dirección de estudios económicos y comercio internacional. Confederación Nacional de Organizaciones Ganaderas [en línea] <http://www.cnog.org.mx/>. Consultado el 4 Agosto, 2014.
31. CODEX STAN-207. 1999. Norma oficial para las leches en polvo y la nata (crema) en polvo. Normas Internacionales de los Alimentos. *Codex Alimentarius* [en línea] <http://www.codexalimentarius.org/>. Consultado el 6 Enero, 2012.
32. CODEX STAN-263. 1966. Norma oficial para el queso Cheddar. Normas Internacionales de los Alimentos. *Codex Alimentarius* [en línea] <http://www.codexalimentarius.org/>. Consultado el 15 Agosto, 2012.
33. CODEX STAN-279. 1971. Norma oficial para la mantequilla (manteca). Normas Internacionales de los Alimentos. *Codex Alimentarius* [en línea] <http://www.codexalimentarius.org/>. Consultado el 1 Septiembre, 2012.

34. Colmenero, J. J. y G. A. Broderick. 2006. Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 89(5):1704-1712.
35. Colovic, M. B., D. Z. Krstic, T. D. Lazarevic-Pasti, A. M. Bondzic, y V. M. Vasic. 2013. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Curr Neuropharmacol* 11(3):315-335.
36. Comeron, E., D. Orosco, y A. Lauxmann. 2001. ¿La calidad se paga?. Calidad de leche. *Rev Infortambo* 15(145):74-78.
37. Contarini, G. y M. Povo. 2013. Phospholipids in milk fat: composition, biological and technological significance, and analytical strategies. *Int J Mol Sci* 14(2):2808-2831.
38. Cozzi, G., L. Ravarotto, F. Gottardo, A. L. Stefani, B. Contiero, L. Moro, M. Brscic, y P. Dalvit. 2011. Short communication: reference values for blood parameters in Holstein dairy cows: effects of parity, stage of lactation, and season of production. *J Dairy Sci* 94(8):3895-3901.
39. Craninx, M., A. Steen, H. van Laar, T. van Nespen, J. Martin-Tereso, B. De Baets, y V. Fievez. 2008. Effect of lactation stage on the odd and branched chain milk fatty acids of dairy cattle under grazing and indoor conditions. *J Dairy Sci* 91(7):2662-2677.
40. Crookenden, M. A., K. S. Mandok, T. M. Grala, C. V. Phyn, J. K. Kay, S. L. Greenwood, y J. R. Roche. 2015. Source of metabolizable energy affects gene transcription in metabolic pathways in adipose and liver tissue of nonlactating, pregnant dairy cows. *J Anim Sci* 93(2):685-698.
41. da Fonseca, L. L. F., M. P. H. Rodríguez, V. M. dos Santos, P. A. Lima, y d. S. C. Lucci. 2004. Supplementation of dairy cows with propylene glycol during the periparturient period: effects on body condition score, milk yield, first estrus post-partum,  $\beta$ -hydroxybutyrate, non-esterified fatty acids and glucose concentrations. *Cienc Rural* 34(3):897-903.
42. Dagleish, D. G. y M. Corredig. 2012. The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing. *Annu Rev Food Sci Technol* 3(1):449-467.
43. Dashty, M. 2013. A quick look at biochemistry: carbohydrate metabolism. *Clin Biochem* 46(15):1339-1352.
44. Deng, W., D. Xi, H. Mao, y M. Wanapat. 2008. The use of molecular techniques based on ribosomal RNA and DNA for rumen microbial ecosystem studies. *Mol Biol Rep* 35(2):265-274.

45. Dewettinck, K., R. Rombaut, N. Thienpont, T. T. Le, K. Messens, y J. van Camp. 2008. Nutritional and technological aspects of milk fat globule membrane material. *Int Dairy J* 18(5):436-457.
46. Dhiman, T. R., S. H. Nam, y A. L. Ure. 2005. Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. *Crit Rev Food Sci Nutr* 45(6):463-482.
47. Dhull, V., A. Gahlaut, N. Dilbaghi, y V. Hooda. 2013. Acetylcholinesterase biosensors for electrochemical detection of organophosphorus compounds: a review. *Biochem Res Int* 2013:731501.
48. Díaz, H. O. 2013. El ion calcio: su regulación y función en la célula  $\beta$  pancreática. *Rev Cubana Endocrinol* 14(3):12-19.
49. Doepel, L. y H. Lapierre. 2010. Changes in production and mammary metabolism of dairy cows in response to essential and nonessential amino acid infusions. *J Dairy Sci* 93(7):3264-3274.
50. Drago, S. M. E. 2007. Lactoferrina: producción industrial y aplicaciones. *Rev Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 38(3):30-38.
51. Duffield, T. F., K. D. Lissemore, B. W. McBride, y K. E. Leslie. 2009. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *J Dairy Sci* 92(2):571-580.
52. Duske, K., H. M. Hammon, A. K. Langhof, O. Bellmann, B. Losand, K. Nurnberg, G. Nurnberg, H. Sauerwein, H. M. Seyfert, y C. C. Metges. 2009. Metabolism and lactation performance in dairy cows fed a diet containing rumen-protected fat during the last twelve weeks of gestation. *J Dairy Sci* 92(4):1670-1684.
53. El Economista. 2010. "2010: el año más lluvioso". Mercados y estadísticas. El Economista S. A. de C. V. [en línea] <http://eleconomista.com.mx/>. Consultado el 15 Octubre, 2010.
54. El-Loly, M. M. 2011. Composition, properties and nutritional aspects of milk fat globule membrane. *Pol J Food Nutr Sci* 61(1):7-32.
55. Elgersma, A., G. Ellen, H. van der Horst, H. Boer, P. R. Dekker, y S. Tamminga. 2004. Quick changes in milk fat composition after transition from fresh grass to a silage diet and effects on consumer health benefits. *Anim Feed Sci Tech* 117(1):13-27.
56. Evers, J. M., R. G. Haverkamp, S. E. Holroyd, G. B. Jameson, D. D. S. Mackenzie, y O. J. McCarthy. 2008. Heterogeneity of milk fat globule membrane structure and composition as observed using fluorescence microscopy techniques. *Int Dairy J* 18(12):1081-1089.



57. Fahy, E., S. Subramaniam, H. A. Brown, C. K. Glass, A. H. Merrill, Jr., R. C. Murphy, C. R. Raetz, D. W. Russell, Y. Seyama, W. Shaw, T. Shimizu, F. Spener, G. van Meer, M. S. van Nieuwenhze, S. H. White, J. L. Witztum, y E. A. Dennis. 2005. A comprehensive classification system for lipids. *J Lipid Res* 46(5):839-861.
58. FAO. 2013. Perspectivas alimentarias. Noviembre de 2013. Análisis del Mercado Mundial. Leche y Productos Lácteos. Food and Agriculture Organization [en línea] <http://www.fao.org/GIEWS/spanish/fo/index.htm>. Consultado el 31 Julio, 2014.
59. FAPRI-ISU. 2011. World agricultural outlook. World Dairy and World Coarse Grains. Food and Agricultural Policy Research Institute-Iowa State University's [en línea] <http://www.fapri.iastate.edu/>. Consultado el 16 Agosto, 2012.
60. Farrell Jr, H. M., F. R. Jimenez, G. T. Bleck, E. M. Brown, J. E. Butler, L. K. Creamer, C. L. Hicks, C. M. Hollar, K. F. Ng-Kwai-Hang, y H. E. Swaisgood. 2004. Nomenclature of the proteins of cows' milk-sixth revision. *J Dairy Sci* 87(6):1641-1674.
61. Farrell Jr, H. M., E. L. Malin, E. M. Brown, y P. X. Qi. 2006. Casein micelle structure: what can be learned from milk synthesis and structural biology? *Curr Opin Colloid Interface Sci* 11(2-3):135-147.
62. Ferrandini, E., M. Castillo, M. B. López, y J. Laencina. 2006. Structural models for the casein micelle. *An Vet MURCIA* 22(1):5-18.
63. FIRA. 2013. Panorama agroalimentario. Leche y lácteos, 2013. Dirección de Análisis Económico y Consultoría. Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura [en línea] <http://portal.fira.gob.mx/Nd/index.jsp>. Consultado el 25 Enero, 2013.
64. Folnozic, I., R. Turk, D. Duricic, S. Vince, J. Pleadin, Z. Flegar-Mestric, H. Valpotic, T. Dobranic, D. Gracner, y M. Samardzija. 2015. Influence of Body Condition on Serum Metabolic Indicators of Lipid Mobilization and Oxidative Stress in Dairy Cows During the Transition Period. *Reprod Domest Anim* 50(6):910-917.
65. FOSS. 2011. Productos: MilkoScan™ Minor 6. Aplicaciones, Parámetros y Especificaciones Técnicas. Industria/lácteos [en línea] <http://www.foss.es/>. Consultado el 22 Mayo, 2012.
66. Frandson, R. D., W. L. Wilke, y A. D. Fails. 2009. Anatomy and physiology of the mammary gland. En *Anatomy and physiology of farm animals*. Iowa State University Press, (Ed.) 7ª ilustrada, ed. Págs. 449-463. Wiley Blackwell. Iowa, Estados Unidos.

67. Friendly, M. 2008. Macro Outlier. En SAS/STAT System for statistical graphics. 8.2, v. SAS Institute Inc. Cary, NC.
68. García, C., N. W. Lutz, S. Confort-Gouny, P. J. Cozzone, M. Armand, y M. Bernard. 2012. Phospholipid fingerprints of milk from different mammals determined by  $^{31}\text{P}$  NMR: towards specific interest in human health. *Food Chem* 135(3):1777-1783.
69. García, C. A. C. y R. L. A. Montiel. 2011. El período de transición de la vaca lechera. *Rev Sociedades Rurales Producción y Medio Ambiente* 11(22):151-172.
70. García, C. A. C., R. L. A. Montiel, T. F. Borderas, y V. Girard. 2013. Modelo discriminante para predecir cetosis subclínica a nivel hato a través de la relación grasa: proteína de la leche. En XXXVII Congreso Nacional de Buiatría. Pág 357 Clave: CTYCC353. Acapulco Guerrero, México.
71. García, C. A. C., R. L. A. Montiel, y T. F. Borderas. 2014. Grasa y proteína de la leche de vaca: componentes, síntesis, y modificación. *Arch Zootec* 63(1):85-105.
72. García, C. A. C., R. L. A. Montiel, T. F. Borderas, y V. Girard. 2015. Relationship between  $\beta$ -hydroxybutyrate and fat:protein ratio of milk during early lactation in dairy cows. *Arch Med Vet* 47(1):21-25.
73. Garton, G. A. 1963. The Composition and Biosynthesis of Milk Lipids. *J Lipid Res* 4(3):237-254.
74. Gebauer, F. y M. W. Hentze. 2004. Molecular mechanisms of translational control. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5(10):827-835.
75. Goff, J. P. 2006. Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. *J Dairy Sci* 89(4):1292-1301.
76. Goldhawk, C., N. Chapinal, D. M. Veira, D. M. Weary, y M. A. von Keyserlingk. 2009. Prepartum feeding behavior is an early indicator of subclinical ketosis. *J Dairy Sci* 92(10):4971-4977.
77. González, F. D., R. Muino, V. Pereira, R. Campos, y J. L. Benedito. 2011. Relationship among blood indicators of lipomobilization and hepatic function during early lactation in high-yielding dairy cows. *J Vet Sci* 12(3):251-255.
78. Gregory, E. B. 2005. Pay for performance. En Dairy incentive pay. Gregory, E. B., (Ed.) 4<sup>a</sup>, ed. Págs. 1-18. Agricultural and Natural Resources. Universidad de California, Estados Unidos.

79. Gross, J. J., E. C. Kessler, C. Albrecht, y R. M. Bruckmaier. 2015. Response of the cholesterol metabolism to a negative energy balance in dairy cows depends on the lactational stage. *PLOS ONE* 10(6):e0121956.
80. Guillén, C. E. E., A. J. F. Panameño, y L. L. V. Barrientos. 2008. Efecto del cambio en la condición corporal, raza y número de partos en el desempeño reproductivo de vacas lecheras. *Agronomía Mesoamericana* 9(2):251-259.
81. Gunasekaran, S., S. Ko, y L. Xiao. 2007. Use of whey proteins for encapsulation and controlled delivery applications. *J Food Eng* 83(1):31-40.
82. Harvatine, K. J., Y. R. Boisclair, y D. E. Bauman. 2009. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. *Animal* 3(1):40-54.
83. Heid, H. W. y T. W. Keenan. 2005. Intracellular origin and secretion of milk fat globules. *Eur J Cell Biol* 84(2-3):245-258.
84. Hellen, C. U. y P. Sarnow. 2001. Internal ribosome entry sites in eukaryotic mRNA molecules. *Genes Dev* 15(13):1593-1612.
85. Herdt, T. H. 2000. Ruminant adaptation to negative energy balance: Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 16(2):215-230.
86. Herdt, T. H. y B. Hoff. 2011. The use of blood analysis to evaluate trace mineral status in ruminant livestock. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 27(2):255-283.
87. Hernández-Ledesma, B., I. Recio, y L. Amigo. 2008.  $\beta$ -lactoglobulin as source of bioactive peptides. *Amino Acids* 35(2):257-265.
88. Hiltunen, J. K., Z. Chen, A. M. Haapalainen, R. K. Wierenga, y A. J. Kastaniotis. 2010. Mitochondrial fatty acid synthesis an adopted set of enzymes making a pathway of major importance for the cellular metabolism. *Prog Lipid Res* 49(1):27-45.
89. Horne, D. S. 2006. Casein micelle structure: models and muddles. *Curr Opin Colloid Interface Sci* 11(2-3):148-153.
90. Houten, S. M. y R. J. Wanders. 2010. A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid  $\beta$ -oxidation. *J Inherit Metab Dis* 33(5):469-477.

91. Hradecká, E., L. Panicke, y L. Hanusová. 2008. The relation of GH1, GHR and DGAT1 polymorphisms with estimated breeding values for milk production traits of German Holstein sires. *Czech J Anim Sci* 53(6):238-245.
92. Jacob, M., D. Jaros, y H. Rohm. 2011. Recent advances in milk clotting enzymes. *Int J Dairy Technol* 64(1):14-33.
93. Jacobs, A. A., J. Dijkstra, J. S. Liesman, M. J. Vandehaar, A. L. Lock, A. M. van Vuuren, W. H. Hendriks, y J. van Baal. 2013. Effects of short and long chain fatty acids on the expression of stearoyl-CoA desaturase and other lipogenic genes in bovine mammary epithelial cells. *Animal* 7(9):1508-1516.
94. Jakubowski, H. 2012. Quality control in tRNA charging. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 3(3):295-310.
95. Jensen, R. G. 2002. The composition of bovine milk lipids: january 1995 to december 2000. *J Dairy Sci* 85(2):295-350.
96. John, H. K. 2005. Milk quality incentives. En *Dairy incentive pay*. Gregory, E. B., (Ed.) 4<sup>a</sup>, ed. Págs. 51-62. Agricultural and Natural Resources. Universidad de California, Estados Unidos.
97. Jonker, J. S., R. A. Kohn, y R. A. Erdman. 1998. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 81(10):2681-2692.
98. Jonker, J. S. y R. A. Kohn. 2001. Using milk urea nitrogen to evaluate diet formulation and environmental impact on dairy farms. *ScientificWorldJournal* 1 Suppl 2:852-859.
99. Jump, D. B. 2011. Fatty acid regulation of hepatic lipid metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 14(2):115-120.
100. Kadegowda, A. K., T. A. Burns, M. C. Miller, y S. K. Duckett. 2013. *Cis-9, trans-11* conjugated linoleic acid is endogenously synthesized from palmitelaidic (C16:1 *trans-9*) acid in bovine adipocytes. *J Anim Sci* 91(4):1614-1623.
101. Kadota, Y., T. Kawakami, S. Takasaki, M. Sato, y S. Suzuki. 2016. Gene expression related to lipid and glucose metabolism in white adipose tissue. *Obes Res Clin Pract* 10(1):85-93.
102. Kaneko, J. J., W. J. Harvey, y L. M. Bruss. 2008. Appendix VIII Blood Analyte Reference Values in Large Animals. En *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Kaneko, J. J., W. J. Harvey y L. M. Bruss, (Eds.) 6th, ed. Págs. 882-888. Academic Press. California, Estados Unidos.

103. Kessler, E. C., J. J. Gross, R. M. Bruckmaier, y C. Albrecht. 2014. Cholesterol metabolism, transport, and hepatic regulation in dairy cows during transition and early lactation. *J Dairy Sci* 97(9):5481-5490.
104. Kim, E. J., S. A. Huws, M. R. F. Lee, y N. D. Scollan. 2009. Dietary transformation of lipid in the rumen microbial ecosystem. *Asian Aust J Anim Sci* 22(9):1341-1350.
105. Kim, J. H., J. Kim, y Y. Park. 2012. *Trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid enhances endurance capacity by increasing fatty acid oxidation and reducing glycogen utilization in mice. *Lipids* 47(9):855-863.
106. Kimmel, A. R., D. L. Brasaemle, M. McAndrews-Hill, C. Sztalryd, y C. Londos. 2010. Adoption of Perilipin as a unifying nomenclature for the mammalian PAT-family of intracellular lipid storage droplet proteins. *J Lipid Res* 51(3):468-471.
107. Kliem, K. E., P. C. Aikman, D. J. Humphries, R. Morgan, K. J. Shingfield, y D. I. Givens. 2009. Effect of replacing calcium salts of palm oil distillate with extruded linseeds on milk fatty acid composition in Jersey and Holstein cows. *Animal* 3(12):1754-1762.
108. KONTROLab. 2011. ES-218 Fully Automatic Biochemistry Analyzer. User's Manual: Applications, settings, and technical specifications. Via Aurelia, 10/B 00012. Guidonia. Rome, Italy.
109. Kraut, J. A. y N. E. Madias. 2010. Metabolic acidosis: pathophysiology, diagnosis and management. *Nat Rev Nephrol* 6(5):274-285.
110. Kullenberg, D., L. A. Taylor, M. Schneider, y U. Massing. 2012. Health effects of dietary phospholipids. *Lipids Health Dis* 11(3):1-16.
111. Kumar, A., S. Grover, J. Sharma, y V. K. Batish. 2010. Chymosin and other milk coagulants: sources and biotechnological interventions. *Crit Rev Biotechnol* 30(4):243-258.
112. Kumar, S., A. K. Puniya, M. Puniya, S. S. Dagar, S. K. Sirohi, K. Singh, y G. W. Griffith. 2009. Factors affecting rumen methanogens and methane mitigation strategies. *World J Microbiol Biotechnol* 25(9):1557-1566.
113. Leroy, J. L., T. Vanholder, A. T. van Kneysel, I. García-Ispuerto, y P. E. Bols. 2008. Nutrient prioritization in dairy cows early postpartum: mismatch between metabolism and fertility?. *Reprod Domest Anim* 43(Suppl 2):96-103.

114. Liao, J., H. Li, W. Zeng, D. B. Sauer, R. Belmares, y Y. Jiang. 2012. Structural insight into the ion-exchange mechanism of the sodium/calcium exchanger. *Science* 335(6069):686-690.
115. Liconsa. 2013. Esquema de precios y estímulos por L de leche fluida, vigente a partir del 9 de octubre 2011. Programa de Abasto Social. Adquisición de leche [en línea] <http://www.liconsa.gob.mx/>. Consultado el 17 Enero, 2013.
116. Ling, J., N. Reynolds, y M. Ibba. 2009. Aminoacyl-tRNA synthesis and translational quality control. *Annu Rev Microbiol* 63(1):61-78.
117. Liu, H. C., W. L. Chen, y S. J. Mao. 2007. Antioxidant nature of bovine milk  $\beta$ -lactoglobulin. *J Dairy Sci* 90(2):547-555.
118. Livney, Y. D. 2010. Milk proteins as vehicles for bioactives. *Curr Opin Colloid Interface Sci* 15(1-2):73-83.
119. Lock, A. L. y D. E. Bauman. 2004. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids* 39(12):1197-1206.
120. Luhovyy, B. L., T. Akhavan, y G. H. Anderson. 2007. Whey proteins in the regulation of food intake and satiety. *J Am Coll Nutr* 26(6):704S-712S.
121. MacGibbon, A. K. H. y M. W. Taylor. 2006. Composition and structure of bovine milk lipids. En *Advanced Dairy Chemistry: lipids*. Fox, P. F. y P. L. H. McSweeney, (Eds.) 3<sup>a</sup> ilustrada, ed. Págs. 1-35. Springer Science. Cork, Ireland.
122. Mani, O., M. T. Sorensen, K. Sejrsen, R. M. Bruckmaier, y C. Albrecht. 2009. Differential expression and localization of lipid transporters in the bovine mammary gland during the pregnancy-lactation cycle. *J Dairy Sci* 92(8):3744-3756.
123. Mani, O., M. Korner, C. E. Ontsouka, M. T. Sorensen, K. Sejrsen, R. M. Bruckmaier, y C. Albrecht. 2011. Identification of ABCA1 and ABCG1 in milk fat globules and mammary cells--implications for milk cholesterol secretion. *J Dairy Sci* 94(3):1265-1276.
124. Månsson, H. L. 2008. Fatty acids in bovine milk fat. *Food Nutr Res* 52(1):1-3.
125. Manterola, B. H. 2011. Estrategias nutricionales y alimenticias para modificar los sólidos totales de la leche. En *Seminario sobre productividad en sistemas pastoriles lecheros*. Departamento de Producción Animal, (Ed.). Págs. 1-20. Circular de Extensión. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile.

126. Marín, M. P., C. Ríos, H. Contreras, J. Robles, y P. Meléndez. 2011. Non esterified fatty acids at calving and its relationship with milk yield in Holstein cows. *Arch Zootec* 60(230):257-264.
127. Marini, J. C. y M. E. van Amburgh. 2003. Nitrogen metabolism and recycling in Holstein heifers. *J Anim Sci* 81(2):545-552.
128. Martínez, M. A. L. 2007. Effects of nutrition on type and content of fatty acids in meat from ruminant animals. *Arch Zootec* 56(1):45-66.
129. McCarthy, C., M. M. Duffy, D. Mooney, W. G. James, M. D. Griffin, D. J. Fitzgerald, y O. Belton. 2013. IL-10 mediates the immunoregulatory response in conjugated linoleic acid-induced regression of atherosclerosis. *FASEB J* 27(2):499-510.
130. McCarthy, M. M., S. Mann, D. V. Nydam, T. R. Overton, y J. A. McArt. 2015. Short communication: concentrations of nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate in dairy cows are not well correlated during the transition period. *J Dairy Sci* 98(9):6284-6290.
131. McMahon, D. J. y B. S. Oommen. 2008. Supramolecular structure of the casein micelle. *J Dairy Sci* 91(5):1709-1721.
132. McManaman, J. L. y M. C. Neville. 2003. Mammary physiology and milk secretion. *Adv Drug Deliv Rev* 55(5):629-641.
133. Michel, L. Y., S. Verkaart, W. J. Koopman, P. H. Willems, J. G. Hoenderop, y R. J. Bindels. 2014. Function and regulation of the  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  exchanger NCX3 splice variants in brain and skeletal muscle. *J Biol Chem* 289(16):11293-11303.
134. Moallem, U., H. Lehrer, M. Zachut, L. Livshitz, y S. Yacoby. 2010. Production performance and pattern of milk fat depression of high-yielding dairy cows supplemented with encapsulated conjugated linoleic acid. *Animal* 4(4):641-652.
135. Moioli, B., G. Contarini, A. Avalli, G. Catillo, L. Orru, G. De Matteis, G. Masoero, y F. Napolitano. 2007. Effect of stearoyl-coenzyme A desaturase polymorphism on fatty acid composition of milk. *J Dairy Sci* 90(7):3553-3558.
136. Muller-Buschbaum, P., R. Gebhardt, S. V. Roth, E. Metwalli, y W. Doster. 2007. Effect of calcium concentration on the structure of casein micelles in thin films. *Biophys J* 93(3):960-968.
137. Nafikov, R. A. y D. C. Beitz. 2007. Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals. *J Nutr* 137(3):702-705.

138. Nam, I. S. y P. C. Garnsworthy. 2007. Biohydrogenation of linoleic acid by rumen fungi compared with rumen bacteria. *J Appl Microbiol* 103(3):551-556.
139. Nelson, L. D. y M. M. Cox. 2007. Biosynthesis of Cholesterol, Steroids, and Isoprenoids. En Lehninger. *Principles of Biochemistry*. Rossignol, R., P. Shriver, P. McCaffrey, E. Geller y B. Moscatelli, (Eds.) 5<sup>a</sup> ilustrada, ed. Págs. 797-805. W. H. Freeman and Company. New York, USA.
140. NOM -155 - SCFI. 2003. Norma Oficial Mexicana. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. En *Diario Oficial de la Federación*. Dirección General de Normas, (Ed.) 1<sup>a</sup>, ed. Págs. 7-44. Secretaría de Economía. México, Ciudad de México.
141. Noro, M. y F. Wittwer. 2012. Relationships between liver ureagenesis and gluconeogenesis in ruminants fed with a high nitrogen diet. *Veterinaria México* 43(2):143-154.
142. Nousiainen, J., K. J. Shingfield, y P. Huhtanen. 2004. Evaluation of Milk Urea Nitrogen as a Diagnostic of Protein Feeding. *J Dairy Sci* 87(2):386-398.
143. NRC. 1978. Nutrient requirements of dairy cattle. National Research Council, (Ed.) 5<sup>a</sup>, ed. National Academy Press. Washington, D. C.
144. NRC. 1989. Nutrient requirements of dairy cattle. National Research Council, (Ed.) 6<sup>a</sup>, ed. National Academy Press. Washington, D. C.
145. NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. National Research Council, (Ed.) 7<sup>a</sup>, ed. National Academy Press. Washington, D. C.
146. Nunes-Nesi, A., W. L. Araujo, T. Obata, y A. R. Fernie. 2013. Regulation of the mitochondrial tricarboxylic acid cycle. *Curr Opin Plant Biol* 16(3):335-343.
147. Oetzel, G. R. 2004. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 20(3):651-674.
148. Or-Rashid, M., O. AlZahal, y B. McBride. 2008. Studies on the production of conjugated linoleic acid from linoleic and vaccenic acids by mixed rumen protozoa. *Appl Microbiol Biotechnol* 81(3):533-541.
149. Ospina, P. A., D. V. Nydam, T. Stokol, y T. R. Overton. 2010. 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(4):1596-1603.
150. Palmquist, D. L. 2006. Milk fat: origin of fatty acids and influence of nutritional factors thereon. En *Advanced Dairy Chemistry: lipids*. Fox, P. F. y P. L. H. McSweeney, (Eds.) 3<sup>a</sup> ilustrada, ed. Págs. 43-92. Springer Science. Cork, Ireland.
151. Pariza, M. W. y Y. L. Ha. 1990. Conjugated dienoic derivatives of linoleic acid: a new class of anticarcinogens. *Med Oncol Tumor Pharmacother* 7(2-3):169-171.
152. Payne, J. M. 1972. The future of presymptomatic diagnosis. *Proc Roy Soc Med* 65(2):181-183.
153. Payne, J. M., G. J. Rowlands, R. Manston, y S. M. Dew. 1973. A statistical appraisal of the results of metabolic profile tests on 75 dairy herds. *Br Vet J* 129(4):370-381.
154. Payne, J. M., G. J. Rowlands, R. Manston, S. M. Dew, y W. H. Parker. 1974. A statistical appraisal of the results of the metabolic profile tests on 191 herds in the B.V.A.-A.D.A.S joint exercise in animal health and productivity. *Br Vet J* 130(1):34-44.
155. Peel, M. C., B. L. Finlayson, y T. A. McMahon. 2007. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrol Earth Syst Sci*:1633-1644.
156. Peso, E. P., B. C. A. González, M. M. I. Vasallo, P. M. Santaella, B. G. F. Ros, S. M. C. Frontela, y G. M. C. Martínez. 2012.  $\alpha$ -Lactalbumin as an ingredient of infant formula. *Arch Latinoam Nutr* 6(1):6-14.
157. Polacek, N. y A. S. Mankin. 2005. The ribosomal peptidyl transferase center: structure, function, evolution, inhibition. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 40(5):285-311.
158. Prodanović, R., Ž. Sladojević, D. Kirovski, I. Vujanac, V. Ivetić, B. Savić, B. Kureljušić, y M. Stevančević. 2012. Use of metabolic profiles and body condition scoring for the assessment of energy status of dairy cows. *Biotech Anim Husbandry* 28(1):25-32.
159. Pujol, M. C. 2014. Mecanismos básicos. Absorción y excreción de colesterol y otros esteroides. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis* 26(1):41-47.
160. Quiroz-Rocha, G. F., S. J. LeBlanc, T. F. Duffield, D. Wood, K. E. Leslie, y R. M. Jacobs. 2009. Reference limits for biochemical and hematological analytes of dairy cows one week before and one week after parturition. *Can Vet J* 50(4):383-388.

161. Reinhardt, T. A. y J. D. Lippolis. 2006. Bovine milk fat globule membrane proteome. *J Dairy Res* 73(4):406-416.
162. Reynolds, C. K. y N. B. Kristensen. 2008. Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: an asynchronous symbiosis. *J Anim Sci* 86(Suppl):293-305.
163. Rojen, B. A., M. Larsen, y N. B. Kristensen. 2012. Effect of abomasal infusion of oligofructose on portal-drained visceral ammonia and urea-nitrogen fluxes in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci* 95(12):7248-7260.
164. Rutten, M. J., H. Bovenhuis, K. A. Hettinga, H. J. van Valenberg, y J. A. van Arendonk. 2009. Predicting bovine milk fat composition using infrared spectroscopy based on milk samples collected in winter and summer. *J Dairy Sci* 92(12):6202-6209.
165. Saggerson, D. 2008. Malonyl-CoA, a key signaling molecule in mammalian cells. *Annu Rev Nutr* 28(1):253-272.
166. Sahebkar, A. 2013. Fat lowers fat: purified phospholipids as emerging therapies for dyslipidemia. *Biochim Biophys Acta* 1831(4):887-893.
167. Salazar, G. L. F., L. A. M. Echeverri, S. A. Botero, y U. L. F. Velásquez. 2009. Serum Metabolic Parameters and Body Condition During Pre and Postpartum in Brahman Cows. *Rev Científica, FCV-LUZ* 19(4):350 - 355.
168. Sánchez, A., D. Sierra, C. Luengo, J. C. Corrales, C. T. Morales, A. Contreras, y C. Gonzalo. 2005. Influence of storage and preservation on somatic cell count and composition of goat milk. *J Dairy Sci* 88(9):3095-3100.
169. Sánchez-Juanes, F., J. M. Alonso, L. Zancada, y P. Hueso. 2009. Distribution and fatty acid content of phospholipids from bovine milk and bovine milk fat globule membranes. *Int Dairy J* 19(5):273-278.
170. Sanhueza, J., R. Valenzuela, y A. Valenzuela. 2012. Cholesterol metabolism: increasingly complex. *Grasas y Aceites* 63(4):373-382.
171. SAS. 2001. SAS/STAT User's guide. 8.2, v. SAS Institute Inc. Cary, NC.
172. Schennink, A., J. M. Heck, H. Bovenhuis, M. H. Visker, H. J. van Valenberg, y J. A. van Arendonk. 2008. Milk fatty acid unsaturation: genetic parameters and effects of stearoyl-CoA

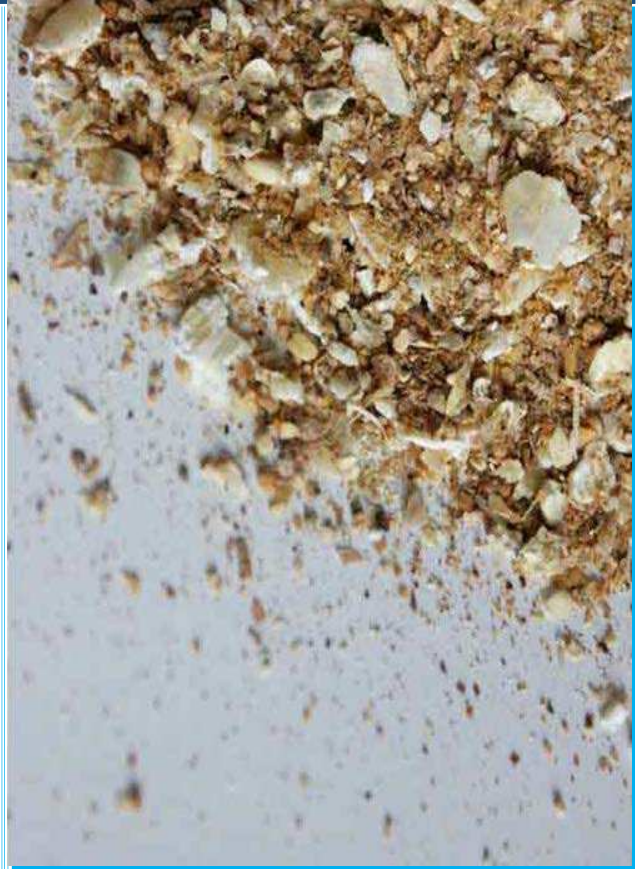
- desaturase (SCD1) and acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1). *J Dairy Sci* 91(5):2135-2143.
173. Schopen, G. C., J. M. Heck, H. Bovenhuis, M. H. Visker, H. J. van Valenberg, y J. A. van Arendonk. 2009. Genetic parameters for major milk proteins in Dutch Holstein-Friesians. *J Dairy Sci* 92(3):1182-1191.
174. SE. 2012. Análisis del sector lácteo en México. Secretaría de Economía de México. Dirección General de Industrias Básicas [en línea] <http://www.economia.gob.mx/>. Consultado el 19 Agosto, 2012.
175. SFA-SAGARPA. 2013. Perspectivas de largo plazo para el sector agropecuario de México 2011-2020. Subsecretaría de Fomento a los Agronegocios-Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca, y Alimentación [en línea] <http://www.sagarpa.gob.mx/>. Consultado el 1 Abril, 2012.
176. Shen, W., K. Martinez, C. C. Chuang, y M. McIntosh. 2013. The phospholipase C inhibitor U73122 attenuates *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid-mediated inflammatory signaling and insulin resistance in human adipocytes. *J Nutr* 143(5):584-590.
177. SIAP. 2011. Resumen nacional: producción, precio, valor, animales sacrificados y peso. Boletín del Mercado Nacional Agropecuario. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [en línea] <http://www.siap.gob.mx/>. Consultado el 10 Agosto, 2012.
178. Simmons, N. L., A. S. Chaudhry, C. Graham, E. S. Scriven, A. Thistlethwaite, C. P. Smith, y G. S. Stewart. 2009. Dietary regulation of ruminal bovine UT-B urea transporter expression and localization. *J Anim Sci* 87(10):3288-3299.
179. Singh, H. 2006. The milk fat globule membrane a biophysical system for food applications. *Curr Opin Colloid Interface Sci* 11(2-3):154-163.
180. Solberg, H. E. 1987. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *Clin Chim Acta* 170(2-3):S13-S32.
181. Sorensen, J., D. S. Palmer, y B. Schiott. 2013. Hot-spot mapping of the interactions between chymosin and bovine  $\kappa$ -casein. *J Agric Food Chem* 61(33):7949-7959.

182. Soyeurt, H., P. Dardenne, A. Gillon, C. Croquet, S. Vanderick, P. Mayeres, C. Bertozzi, y N. Gengler. 2006. Variation in fatty acid contents of milk and milk fat within and across breeds. *J Dairy Sci* 89(12):4858-4865.
183. Stamey Lanier, J., J. K. Suagee, O. Becvar, y B. A. Corl. 2013. Mammary uptake of fatty acids supplied by intravenous triacylglycerol infusion to lactating dairy cows. *Lipids* 48(5):469-479.
184. Steitz, T. A. 2008. A structural understanding of the dynamic ribosome machine. *Nat Rev Mol Cell Biol* 9(3):242-253.
185. Stoop, W. M., J. A. van Arendonk, J. M. Heck, H. J. van Valenberg, y H. Bovenhuis. 2008. Genetic parameters for major milk fatty acids and milk production traits of Dutch Holstein-Friesians. *J Dairy Sci* 91(1):385-394.
186. Swaisgood, H. E. 2003. Protein composition of milk: identification, structure, and chemical composition. En *Advanced Dairy Chemistry: proteins part A*. Fox, P. F. y P. L. H. McSweeney, (Eds.) 3ª ilustrada, ed. Págs. 140-225. Springer Science. Cork, Ireland.
187. Tarazón, H. M. A., P. É. O. Rueda, C. A. Correa, R. L. Avendaño, y H. T. John. 2009. Efectos de la inyección de Somatotropina bovina sobre la producción y composición de la leche de vacas Holstein en lactancia muy tardía. *Rev Biotecnia* 11(1):34-40.
188. Tedeschi, L. O., D. G. Fox, y P. J. Kononoff. 2013. A dynamic model to predict fat and protein fluxes and dry matter intake associated with body reserve changes in cattle. *J Dairy Sci* 96(4):2448-2463.
189. Temel, R. E. y J. M. Brown. 2012. Biliary and Non-Biliary Contributions to Reverse Cholesterol Transport. *Curr Opin Lipidol* 23(2):85-90.
190. Thorn, D. C., S. Meehan, M. Sunde, A. Rekas, S. L. Gras, C. E. MacPhee, C. M. Dobson, M. R. Wilson, y J. A. Carver. 2005. Amyloid fibril formation by bovine milk  $\kappa$ -casein and its inhibition by the molecular chaperones  $\alpha$ <sub>s</sub> and  $\beta$ -casein. *Biochemistry* 44(51):17027-17036.
191. Tong, L. y H. J. Harwood Jr. 2006. Acetyl-coenzyme A carboxylases: versatile targets for drug discovery. *J Cell Biochem* 99(6):1476-1488.
192. van Knegsel, A. T., H. van den Brand, J. Dijkstra, W. M. van Straalen, M. J. Heetkamp, S. Tamminga, y B. Kemp. 2007. Dietary energy source in dairy cows in early lactation: energy partitioning and milk composition. *J Dairy Sci* 90(3):1467-1476.

193. van Saun, R. J. 2006. Interpretation of *pooled* metabolic profiles for evaluating transition cow health status. En XXIV World Buiatrics Congress. Págs. 3-15 Abstract #117. Niza, Francia.
194. van Saun, R. J., A. Todd, y G. A. Varga. 2006. Serum mineral status and risk of periparturient disease. En XXIV World Buiatrics Congress. Págs. 22-27 Abstract #117. Niza, Francia.
195. van Saun, R. J. 2010. Indicators of dairy cow transition risks: metabolic profiling revisited. En XXVI World Buiatrics Congress. Págs. 65-77. Santiago, Chile.
196. Vidal, M. E. 2013. Lácteos: Oferta y Demanda en el contexto regional y mundial. En 1º Foro de Agricultura de América del Sur. Oficina de Programación y Política Agropecuaria, (Ed.). Consejo Agropecuario del Sur. Foz de Iguazú, Brasil.
197. Wakabayashi, H., K. Yamauchi, y M. Takase. 2006. Lactoferrin research, technology and applications. *Int Dairy J* 16(11):1241-1251.
198. Wakil, S. J. y L. A. Abu-Elheiga. 2009. Fatty acid metabolism: target for metabolic syndrome. *J Lipid Res* 50(Suppl):138-143.
199. Walther, C. T. y V. R. Farese Jr. 2009. The life of lipid droplets. *Biochim Biophys Acta, Mol Cell Biol Lipids* 1791(6):459-466.
200. Wang, H., U. Sreenevasan, H. Hu, A. Saladino, B. M. Polster, L. M. Lund, D. W. Gong, W. C. Stanley, y C. Sztalryd. 2011. Perilipin 5, a lipid droplet associated protein, provides physical and metabolic linkage to mitochondria. *J Lipid Res* 52(12):2159-2168.
201. Westwood, C. T., I. J. Lean, y J. K. Garvin. 2002. Factors influencing fertility of Holstein dairy cows: a multivariate description. *J Dairy Sci* 85(12):3225-3237.
202. Whitaker, D. A. 2000. Use and interpretation of metabolic profile. En *The health of dairy cattle*. Andrews, A. H., (Ed.) 1ª ilustrada, ed. Págs. 89-107. Wiley Blackwell. Oxford, Inglaterra.
203. Wiltbank, M., H. López, R. Sartori, S. Sangsritavong, y A. Gumen. 2006. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology* 65(1):17-29.
204. Wolins, N. E., B. K. Quaynor, J. R. Skinner, M. J. Schoenfish, A. Tzekov, y P. E. Bickel. 2005. S3-12, Adipophilin, and TIP47 package lipid in adipocytes. *J Biol Chem* 280(19):19146-19155.

205. Yao, D., J. Luo, Q. He, H. Shi, J. Li, H. Wang, H. Xu, Z. Chen, Y. Yi, y J. J. Loo. 2017. SCD1 Alters Long-Chain Fatty Acid (LCFA) Composition and Its Expression Is Directly Regulated by SREBP-1 and PPARgamma 1 in Dairy Goat Mammary Cells. *J Cell Physiol* 232(3):635-649.
206. Zárate-Martínez, J. P., J. C. Vinay-Vadillo, C. O. Carballo, V. D. Hernández-Hernández, y E. V. Amezcua-Manjarres. 2011. Efecto de la alimentación con grasas protegidas en vacas de doble propósito. *Agron Mesoam* 22(2):359-366.
207. Zhang, S. O., R. Trimble, F. Guo, y H. Y. Mak. 2010. Lipid droplets as ubiquitous fat storage organelles in *C. elegans*. *BMC Cell Biol* 11:96.
208. Zhang, X., X. Fu, H. Zhang, C. Liu, W. Jiao, y Z. Chang. 2005. Chaperone like activity of  $\beta$ -casein. *Int J Biochem Cell Biol* 37(6):1232-1240.
209. Zhao, K., H. Y. Liu, M. M. Zhou, y J. X. Liu. 2010. Establishment and characterization of a lactating bovine mammary epithelial cell model for the study of milk synthesis. *Cell Biol Int* 34(7):717-721.

## **XV. APÉNDICE**



**Paquete NIR para concentrado alta  
producción y baja producción**



**SERVICIOS GAQ, S.A. DE C.V.**  
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD

LABORATORIO CERTIFICADO POR EL NATIONAL FORAGE TESTING ASSOCIATION (NFTA)



Av. Tepeyac No. 1280 Parque Industrial O'Donnell Aeropuerto  
76250 El Marqués, Qro. Tel (442) 253 0038, Fax (442) 225 2895  
[www.gaqa.com](http://www.gaqa.com)

Muestra: <b>CONCENTRADO ALTA PRODUCCIÓN</b>	Fecha recepción: <b>12-abr-16</b>
Nombre rancho: <b>0802</b>	Fecha programación: <b>19-abr-16</b>
Clave del rancho: <b>0802</b>	Fecha entrega: <b>20-abr-16</b>

**REPORTE DE RESULTADOS: PAQUETE NIR PARA DIETAS Y CONCENTRADOS**

Materia seca (%)	44.87
Humedad (%)	55.13

<b>PROTEINA</b>	<b>%MS</b>	<b>%PC</b>
Proteína cruda	17.80	
Proteína soluble	6.60	37.08
Proteína ligada a la FAD	1.36	7.64
Proteína ligada a la FND	2.75	15.45

<b>FIBRA</b>	<b>%MS</b>	<b>%FND</b>
Fibra ácido detergente	22.80	72.84
Fibra neutro detergente	31.30	
Digestibilidad de la FND 240 hr	18.30	58.47
FND indigestible	13.00	41.53
Lignina	4.75	

<b>CARBOHIDRATOS</b>	<b>%MS</b>	<b>%CNF</b>	<b>%ALMIDÓN</b>
Azúcares (Carbohidratos solubles en etanol)	5.10	12.91	
Almidón	22.10	55.95	
Digestibilidad de almidón (7 hr)			80.10
Ácidos grasos totales (%MS)	3.56		
Grasa cruda	4.86		

**CALCULO DE INDICES DE ENERGIA**

Total de nutrientes digestibles (%MS)	70.10
Energía neta de lactancia (Mcal/Kg)	1.61
Energía neta de mantenimiento (Mcal/Kg)	1.63
Energía neta de ganancia (Mcal/Kg)	1.04
Carbohidratos no fibrosos (%MS)	39.50
Carbohidratos no estructurales (%MS)	27.20

<b>MINERALES</b>	<b>(%MS)</b>
Cenizas	9.27
Calcio	0.75
Fósforo	0.46
Magnesio	0.29
Potasio	1.58
Azufre	0.22

Dra. Myriam Leal Pérez  
Gerente de Calidad

Los resultados emitidos en este informe corresponden a la muestra analizada en el laboratorio de Control de Calidad de Servicios GAQ, S.A. de C.V.

Se prohíbe la reproducción total o parcial de este informe sin la autorización del responsable del Laboratorio de Control de Calidad de Servicios GAQ, S.A. de C.V.  
GAQ.LA.F-001-00





**SERVICIOS GAQ, S.A. DE C.V.**  
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD

LABORATORIO CERTIFICADO POR EL NATIONAL FORAGE TESTING ASSOCIATION (NFTA)

Av. Tepeyac No. 1280 Parque Industrial O'Donnell Aeropuerto  
76250 El Marqués, Qro. Tel (442) 253 0038, Fax (442) 225 2895  
[www.gaqsa.com](http://www.gaqsa.com)



Muestra: <b>CONCENTRADO BAJA PRODUCCIÓN</b>	Fecha recepción: <b>12-abr-16</b>
Nombre rancho: <b>0802</b>	Fecha programación: <b>19-abr-16</b>
Clave del rancho: <b>0802</b>	Fecha entrega: <b>20-abr-16</b>

**REPORTE DE RESULTADOS: PAQUETE NIR PARA DIETAS Y CONCENTRADOS**

Materia seca (%)	58.30
Humedad (%)	41.70

<b>PROTEINA</b>	<b>%MS</b>	<b>%PC</b>
Proteína cruda	14.60	
Proteína soluble	6.10	41.78
Proteína ligada a la FAD	1.17	8.01
Proteína ligada a la FND	2.24	15.34

<b>FIBRA</b>	<b>%MS</b>	<b>%FND</b>
Fibra ácido detergente	22.80	64.59
Fibra neutro detergente	35.30	
Digestibilidad de la FND 240 hr	23.60	66.86
FND indigestible	11.60	32.86
Lignina	3.87	

<b>CARBOHIDRATOS</b>	<b>%MS</b>	<b>%CNF</b>	<b>%ALMIDÓN</b>
Azúcares (Carbohidratos solubles en etanol)	3.50	8.62	
Almidón	27.90	68.72	
Digestibilidad de almidón (7 hr)			79.70
Ácidos grasos totales (%MS)	2.06		
Grasa cruda	3.19		

<b>CALCULO DE INDICES DE ENERGIA</b>	
Total de nutrientes digestibles (%MS)	68.00
Energía neta de lactancia (Mcal/Kg)	1.57
Energía neta de mantenimiento (Mcal/Kg)	1.57
Energía neta de ganancia (Mcal/Kg)	0.97
Carbohidratos no fibrosos (%MS)	40.60
Carbohidratos no estructurales (%MS)	31.40

<b>MINERALES</b>	<b>(%MS)</b>
Cenizas	8.55
Calcio	0.57
Fósforo	0.44
Magnesio	0.26
Potasio	1.50
Azufre	0.19

  
Dra. Myriam Leal Pérez  
Gerente de Calidad

Los resultados emitidos en este informe corresponden a la muestra analizada en el laboratorio de Control de Calidad de Servicios GAQ, S.A. de C.V.

## XV. APÉNDICE



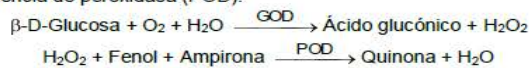
**Reactivos y métodos analíticos para la  
determinación de analitos bioquímicos**

**Determinación cuantitativa de glucosa IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

La glucosa oxidasa (GOD) cataliza la oxidación de glucosa a ácido glucónico. El peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), producido se detecta mediante un aceptor cromogénico de oxígeno, fenol-ampirona en presencia de peroxidasa (POD):



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra ensayada<sup>1,2</sup>.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

La glucosa es la mayor fuente de energía para las células del organismo; la insulina facilita la entrada de glucosa en las células. La diabetes mellitus es una enfermedad que cursa con una hiperglucemia, causada por un déficit de insulina<sup>1,5,6</sup>. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

<b>R 1</b>	TRIS pH 7,4	92 mmol/L
Tampón	Fenol	0,3 mmol/L
<b>R 2</b>	Glucosa oxidasa (GOD)	15000 U/L
Enzimas	Peroxidasa (POD)	1000 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	2,6 mmol/L
<b>GLUCOSE CAL</b>	Patrón primario acuoso de Glucosa	100 mg/dL

**PREPARACIÓN**

Reactivo de trabajo (RT): Disolver (→) el contenido de un vial de R 2 Enzimas en un frasco de R 1 Tampón.

Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

Estabilidad: 1 mes en nevera (2-8°C) o 7 días a Temperatura ambiente (15-25°C).

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 505 nm ≥ 0,10.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

**MUESTRAS**

Suero o plasma, libre de hemólisis<sup>1</sup> y LCR.

El suero debe separarse lo antes posible del coágulo.

Estabilidad: La glucosa en suero o plasma es estable 3 días a 2-8°C.

**PROCEDIMIENTO**

- Condiciones del ensayo:  
 Longitud de onda: ..... 505 nm (490-550)  
 Cubeta: ..... 1 cm paso de luz  
 Temperatura: ..... 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón <sup>(Nota 1,2)</sup> (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

- Mezclar e incubar 10 minutos a 37°C ó 20 minutos a temperatura ambiente (15-25°C).

- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

**CÁLCULOS**

$$\frac{(A)\text{Muestra}}{(A)\text{Patrón}} \times 100 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de glucosa en la muestra}$$

**Factor de conversión:** mg/dL x 0,0555= mmol/L.

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>**

Suero o plasma:

$$60 - 110 \text{ mg/dL} \cong 3,33 - 6,10 \text{ mmol/L}$$

LCR:

$$60 - 80 \% \text{ del valor en sangre}$$

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERÍSTICAS DEL METODO**

**Rango de medida:** Desde el límite de detección de 0,04 mg/dL hasta el límite de linealidad de 500 mg/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

**Precisión:**

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (mg/dL)	96,8	241	98,4	248
SD	0,81	1,43	1,55	3,73
CV (%)	0,83	0,59	1,58	1,50

**Sensibilidad analítica:** 1 mg/dL = 0,0036 A.

**Exactitud:** Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: y= 1,0x + 0,12.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

No se han observado interferencias con: hemoglobina hasta 4 g/L, bilirrubina hasta 20 mg/L, creatinina hasta 100 mg/L, galactosa hasta 1 g/L. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la glucosa<sup>3,4</sup>.

**NOTAS**

- GLUCOSE CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

**BIBLIOGRAFÍA**

- Kaplan A. Glucose. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1032-1036.
- Trinder P. Ann Clin Biochem 1969; 6: 24-33.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PRESENTACIÓN**

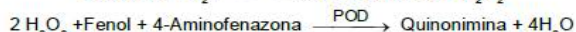
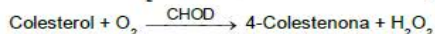
Ref:1001190	Cont.	4 x 125 mL
Ref:1001191		4 x 250 mL
Ref:1001192		10 x 50 mL

**Determinación cuantitativa de colesterol**
**IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

El colesterol presente en la muestra origina un compuesto coloreado según la reacción siguiente:


 La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra ensayada<sup>1,2</sup>.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

 El colesterol es una sustancia grasa presente en todas las células del organismo. El hígado produce naturalmente todo el colesterol que necesita para formar las membranas celulares y producir ciertas hormonas. La determinación del colesterol es una de las herramientas más importantes para el diagnóstico y clasificación de las lipemias. El aumento del nivel de colesterol es uno de los principales factores de riesgo cardiovascular<sup>5,6</sup>. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

R	PIPES pH 6.9	90 mmol/L
	Fenol	26 mmol/L
	Colesterol esterasa (CHE)	1000 U/L
	Colesterol oxidasa (CHOD)	300 U/L
	Peroxidasa (POD)	650 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	0,4 mmol/L
CHOLESTEROL CAL	Patrón primario acuoso de Colesterol	

**PREPARACIÓN**

Todos los reactivos están listos para su uso.

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias (A) del Blanco a 505 nm  $\geq 0,26$ .

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

**MUESTRAS**

 Suero o plasma<sup>1,2</sup>. Estabilidad de la muestra 7 días a 2-8°C y 3 meses si se mantiene la muestra congelada (-20°C).

**PROCEDIMIENTO**

- Condiciones del ensayo:
  - Longitud de onda: ..... 505 nm (500-550).
  - Cubeta: ..... 1 cm paso de luz
  - Temperatura: ..... 37°C /15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón <sup>1(Nota1-2)</sup> (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

- Mezclar e incubar 5 min a 37°C ó 10 min a 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 60 minutos.

**CÁLCULOS**

$$\frac{(A)\text{Muestra}}{(A)\text{Patrón}} \times \text{Conc. Patrón} = \text{mg/dL de colesterol en la muestra}$$

**Factor de conversión:** mg/dL x 0,0258= mmol/L.

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar los instrumentos, los reactivos y la calibración.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA**

 Evaluación del riesgo<sup>5,6</sup>:

Menos de 200 mg/dL	Normal
200-239 mg/dL	Moderado
240 o más	Alto

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO**
**Rango de medida:** Desde el límite de detección 0,113 mg/dL hasta el límite de linealidad 750 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

**Precisión:**

Media (mg/dL)	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	99.789	185.309	96.346	184.962
SD (mg/dL)	1.213	1.405	4.196	12.773
CV (%)	1.216	0.758	4.355	6.906

**Sensibilidad analítica:** 1 mg/dL = 0,0015 (A).

**Exactitud:** Los reactivos SPINREACT no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales.

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coeficiente de correlación (r): 0,9968.

 Ecuación de la recta de regresión:  $y = 0,9797x + 2,2803$ .

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

 No se han observado interferencias de hemoglobina hasta 5 g/L y bilirrubina hasta 10 mg/dL<sup>1,2</sup>. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del Colesterol<sup>3,4</sup>.

**NOTAS**

- CHOLESTEROL CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- LCF (*Lipid Clearing Factor*) está integrado en el reactivo.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

**BIBLIOGRAFÍA**

- Naito H.K. Cholesterol. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton* 1984; 1194-11206 and 437.
- Meiattini F. et al. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System. *Clin Chem* 1978; 24 (12): 2161-2165.
- Young D.S. *Effects of drugs on Clinical Lab. Tests*, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young D.S. *Effects of disease on Clinical Lab. Tests*, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. *Tietz Laboratory Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed AACC 1995.

**PRESENTACIÓN**

Ref. 41020	Cont.	2 x 50 mL
Ref. 41022		2 x 100 mL
Ref. 41021		2 x 250 mL
Ref. 41019		1 x 1000 mL

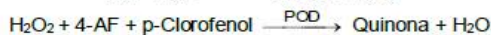
**Determinación cuantitativa de triglicéridos**  
**IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

Los triglicéridos incubados con lipoproteín lipasa (LPL) liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerol fosfato deshidrogenasa (GPO) y ATP en presencia de glicerol quinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP). El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) por GPO.

Al final, el peróxido de hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra ensayada<sup>1,2,3</sup>.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

Los triglicéridos son grasas que suministran energía a la célula. Al igual que el colesterol, son transportados a las células del organismo por las lipoproteínas en la sangre.

Una dieta alta en grasas saturadas o carbohidratos puede elevar los niveles de triglicéridos.

Su aumento es relativamente inespecífico. Diversas dolencias, como ciertas distrofías hepáticas (cirrosis, hepatitis, obstrucción biliar) o diabetes mellitus, pueden estar asociadas con su elevación<sup>3,6,7</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

<b>R</b>	GOOD pH 6.3	50 mmol/L
	p-Clorofenol	2 mmol/L
	Lipoprotein lipasa (LPL)	150000 U/L
	Glicerol quinasa (GK)	500 U/L
	Glicerol-3-oxidasa (GPO)	3500 U/L
	Peroxidasa (POD)	440 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	0,1 mmol/L
	ATP	0,1 mmol/L

<b>TRIGLYCERIDES CAL</b>	Calibrador primario de Triglicéridos
--------------------------	--------------------------------------

**PREPARACIÓN**

El reactivo y el calibrador están listos para su uso.

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Deterioro de los reactivos**

La presencia de turbidez indica contaminación del reactivo.

Absorbancias (A) Variaciones en las lecturas de Blancos de reactivos y/o Calibradores, indican contaminación o deterioro. del Blanco a 505 nm  $\geq$  0,40.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

**MUESTRAS**

Suero y plasma<sup>1</sup>.

Estabilidad de la muestra: 5 días a 2-8°C.

**PROCEDIMIENTO**

- Condiciones del ensayo:
  - Longitud de onda: ..... 505 (490-550) nm
  - Cubeta: ..... 1 cm paso de luz
  - Temperatura ..... 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón <sup>(Nota1,2)</sup> (μL)	--	10	--
Muestra (μL)	--	--	10

- Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C o 10 min. a 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A) del calibrador y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

**CÁLCULOS**

$$\frac{(A)\text{Muestra}}{(A)\text{Patrón}} \times \text{Conc. Patrón} = \text{mg/dL de triglicéridos en la muestra}$$

Factor de conversión: mg/dL x 0,0113 = mmol/L.

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210)

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar los instrumentos, los reactivos y la calibración.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA**

Hombres: 40 – 160 mg/dL

Mujeres: 35 – 135 mg/dL

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO**

Rango de medida: Desde el límite de detección 0.530 mg/dL hasta el límite de linealidad 1000 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

**Precisión:**

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (mg/dL)	127.926	196.797	126.803	201.984
SD	2.012	1.961	4.128	15.56
CV (%)	1.573	0.996	3.155	7.704

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0015 (A).

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,9917.

Ecuación de la recta de regresión: y = 0.8843x + 13.7233

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

No se han observado interferencias con bilirrubina < 170 μmol/L, hemoglobina < 10 g/L<sup>2</sup>.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de los triglicéridos<sup>4,5</sup>.

**NOTAS**

- TRIGLYCERIDES CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- LCF (Lipid Clearing Factor) está integrado en el reactivo.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

**BIBLIOGRAFÍA**

- Bucolo G et al. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. *Clin Chem* 1973; 19 (5): 476-482.
- Fossati P et al. *Clin. Chem* 1982; 28(10): 2077-2080.
- Kaplan A et al. *Tryglycerides. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton* 1984; 437 and *Lipids* 1194-1206.
- Young DS. *Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed* AACC Press, 1995.
- Young DS. *Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed* AACC 2001.
- Burtis A et al. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed* AACC 1999.
- Tietz N W et al. *Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed* AACC 1995.

**PRESENTACIÓN**

Ref. 41030	R: 1 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref. 41031	R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref. 41032	R: 1 x 100 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref. 41033	R: 1 x 500 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref. 41034	R: 1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL

**PARA SU USO**

Para la determinación cuantitativa *in vitro* de D-3-hidroxitubirato en suero y plasma. Este producto es adecuado para su utilización en Manual.

<b>Cat. No.</b>	1. Tampon RB 1007	1 x 105 ml
	2. Enzima/Coenzima Patron	10 x 10 ml 1 x 5 ml
<b>RB 1008</b>	1. Tampon	10 x 50 ml
10 x 50 ml	2. Enzima/Coenzima Patron	10 x 50 ml 1 x 5 ml

**METODO UV**

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

**PRINCIPIO**



**MUESTRA**

Suero, plasma heparinizado o EDTA plasma.

**COMPOSICIÓN DEL REACTIVO**

Componentes	Concentraciones iniciales de las Soluciones
<b>1. Tampon</b>	
Tampon tis	100 mmol/l, pH 8.5
EDTA	2 mmol/l
Acido oxálico	20 mmol/l
<b>2. Enzima/Coenzima</b>	
NAD <sup>+</sup>	2.5 mmol/l
3-HBDH	0.12 U/ml
<b>Patron</b>	
D-3-hidroxitubirato	1 mmol/l

**PRECAUCIONES DE SEGURIDAD**

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 desheche 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%.

Hojas informativas sobre Salud y Seguridad están disponibles si se desean.

Los reactivos deben ser utilizados solo para los propósitos indicados por personal adecuado cualificado de laboratorio bajo condiciones apropiadas de laboratorio.

**ESTABILIDAD Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS**

- Tampon**  
Listo para su uso. Estable hasta la fecha de caducidad cuando se conserva entre +2 y +8°C.
  - Enzima/Coenzima**  
Cat. No. RB 1007 10 x 10 ml  
Reconstituir el contenido de un vial de Enzima/Coenzima 2 con 10 ml de Tampon 1. Estable durante 24 horas entre +15 y +25°C o 7 días entre +2 y +8°C.  
Cat. No. RB 1008 10 x 50 ml  
Reconstituir el contenido de un vial de Enzima/Coenzima 2 con una parte de Tampon 1 y transferir el contenido a la botella 1 enjuagando varias veces la botella 2. Estable durante 24 horas entre +15 y +25°C o 7 días entre +2 y +8°C.
- Patron (1 mmol/l)**  
Listo para su uso. Estable hasta la fecha de caducidad cuando se conserva entre +2 y +8°C.

**MATERIALES SUMINISTRADOS**

Tampon  
Enzima/Coenzima  
Patron

**MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS**

Multisueros Valorados Randox Nivel 2 (No. Cat. HN 1530) y Nivel 3 (No. Cat. HE 1532)

**PROCEDIMIENTO**

Longitud de onda: 340 nm (Hg 334 nm ó Hg 365 nm)  
Cubeta: 1 cm de espesor  
Temperatura: 37°C  
Medición: frente a reactivo blanco  
Pipetear en tubos de ensayo:

	Micro	Seminicio
Patron o Muestra	75 µl	25 µl
Agua desionada	75 µl	25 µl
Reactivo	3,00 ml	1,00 ml

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 calculos.

**CALCULOS**

Concentr. de D-3-hidroxitubirato (mmol/l) =

$$\frac{\Delta A_{muestra}}{\Delta A_{patron}} \times \text{Conc. de patron}$$

**CONTROL DE CALIDAD**

Se recomiendan los Multisueros Valorados Randox, Nivel 2 y Nivel 3 para el control de calidad diario. Analizar dos niveles distintos de controles al menos una vez al día. Los valores obtenidos deberán encontrarse dentro del rango especificado. Si los valores se encuentran fuera del rango y su repetición excluye error, se deberán seguir los siguientes pasos:

- Comprobar programación del instrumento y la lámpara.
- Comprobar que todo material está limpio.
- Comprobar el agua, contaminación ej. el crecimiento bacteriano puede contribuir a la inexactitud de los resultados.
- Comprobar la temperatura de reacción.
- Comprobar la fecha de caducidad del kit y sus componentes.
- Ponerse en contacto con el Soporte Técnico al Cliente de los Laboratorios Randox, Irlanda del Norte +00 44 28 94422413.

**INTERFERENCIA**

Hb se analizó hasta 1 g/dl y se encontró que no interfiere

**VALORES NORMALES**

Niveles en plasma (en ayunas) = 0.03 - 0.3 mmol/l

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango que refleje la edad, sexo, dieta y localidat geográfica de la población.

**LINEALIDAD**

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

**SENSIBILIDAD**

La concentración mínima detectable de D-3-Hidroxitubirato ha sido establecida en 0,1 mmol/l

**REFERENCIAS**

- McMurray C.H., Blanchflower, W.J., Rice, D.A., Clin Chem., 1984; 30: No. 3
- Li, P.K., Lee, S.T., Macgillivray, M.H., et al. Clin. Chem. 1980; 26: 1713-1717.

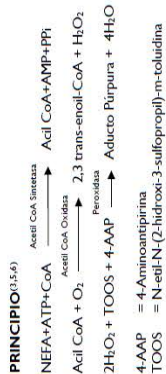


**PARA SU USO**

Para la determinación cuantitativa *in vitro* de Ácidos Grasos No Esterificados (NEFA) en suero y plasma. Este producto es adecuado para su utilización de forma manual y en el analizador **RX monza**.

<b>Cat. No.</b>	
FA 115	70 ml
3 x 10 ml	3 x 10 ml
	R1a. Tampón
	R1b. Enzima/Coenzimas
	R2a. Diluyente de la Enzima
	R2b. Maleimida
	R2c. Reactivo Enzima
	CAL Patrón

**METODO COLORIMETRICO**



**MUESTRA(1)**  
 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 Ammonio

**COMPOSICIÓN DEL REACTIVO**

Componentes	Concentración inicial de las Soluciones
<b>R1a. Tampón</b>	
Tampón fosfato	0,04 mol/l, pH 6,9
Cloruro de magnesio	3 mmol/l
Surfactante	
<b>R1b. Enzima/Coenzimas</b>	
Acil Coenzima A Sintetasa	≥ 0,3 U/ml
Coenzima A	≥ 1,5 U/ml
ATP	0,9 mmol/l
<b>R2a. Diluyente del Enzima</b>	
Penoxietanol	1,5 mmol/l
Surfactante	0,3% (w/v)
<b>R2b. Maleimida</b>	10,6 mmol/l
<b>R2c. Enzima reactivo</b>	
Acil coenzima A oxidasa	≥ 10 U/ml
Peroxidasa	7,5 U/ml
<b>CAL Patrón</b>	1,2 mmol/l
	Vedi inserto lote específico

**RANGO NORMAL(2,8)**

En ayunas, 0,1 - 0,9 mmol/l.  
 Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango que refleje la edad, sexo, dieta y localidad geográfica de la población.

**INTERFERENCIA**

Si se realiza la técnica de los NEFA de forma automática, el reactivo no deberá colocarse en el instrumento tras los triglicéridos

**PRECAUCIONES DE SEGURIDAD**

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

Por favor, desechar todos los materiales Biológicos y Químicos según las pautas locales.  
 Hojas informativas sobre Salud y Seguridad están disponibles si se desean.

**Los reactivos deben ser utilizados solo para los propósitos indicados por personal adecuado cualificado de laboratorio bajo condiciones apropiadas de laboratorio.**

**ESTABILIDAD Y PREPARACION DE LOS REACTIVOS**

- R1a. Tampón**  
 Listo para su uso. Estable hasta la fecha de caducidad cuando se conserva entre +2 y +8°C.
- R1b. Enzima/Coenzimas**  
 Reconstituir un vial de Enzima/Coenzimas 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 conservado entre +2 y +8°C.
- R2b. Maleimida**  
 Reconstituir el contenido de una botella de Maleimida R2b con el contenido entero de una botella de diluyente del Enzima R2a. Asegurarse de que la Maleimida está completamente disuelta. Usar inmediatamente para reconstituir la Botella R2c.
- R2c. Reactivo Enzima**  
 Reconstituir el contenido de un vial de Reactivo Enzima R2c con una botella de Solución R2b reconstituida. Estable durante 5 días entre +2 y +8°C. No congelar. Proteger de la luz.

**CAL**

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

**R1 = Tampón / Enzima/ Coenzimas**

**R2 = Diluyente del Enzima / Maleimida / Enzima Reactivo**

**MATERIALES SUMINISTRADOS**

Tampón  
 Enzima/Coenzimas  
 Diluyente del Enzima  
 Maleimida  
 Reactivo Enzima  
 Patrón

**MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS**

Multisueros Valorados Randox Nivel 2  
 (No. Cat. HN 1530) y Nivel 3 (No. Cat. HE 1532).

**CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE FUNCIONAMIENTO**

Los siguientes datos de funcionamiento se obtuvieron mediante el analizador **Rx Monza** a una temperatura de 37°C.

**LINEALIDAD**

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

**NOTAS(1,7)**

- Muestras visiblemente lipémicas requieren una muestra blanca.
- Muestras con niveles de bilirrubina o hemoglobina superiores a los indicados a continuación, requieren una muestra blanca:

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

Estas muestras necesitarán un blanco de muestra\* para llevarse a cabo (Ajuste de muestra). En el caso de un procedimiento manual, la concentración de NEFA se calculará de la siguiente manera:-

$$\text{mmol/l} = \frac{\text{Amuestra} - \text{Amuestra blanco}}{\text{Aparón}} \times \text{Conc. de patrón}$$

En el caso del **RX monza**, la concentración de NEFA se calculará de la siguiente manera:

$$\text{Muestra} - \text{Muestra Blanco} = \text{Muestra Concentration (mmol/l)}$$

- La muestra que va a ser analizada no debe heparinizarse, ya que esto estimulará 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 esta prueba.
- Debido a la incorporación de ascorbato oxidasa en el Reactivo Enzima 4, niveles de ácido ascorbico superiores a 2,0 mg/dl (es decir > 10 veces el valor normal) no interfieren en la prueba.
- 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.
- Si la muestra de suero permanece a temperatura ambiente durante un tiempo considerable, el nivel de NEFA 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.
- Si  $\text{Aparón} - \text{Reactivo blanco}$  es < 0,180 repetir la prueba con reactivo fresco.

**RX MONZA PROCEDURE**

Seleccione NEFA en la pantalla Run Test (Realizar análisis) y lleve a cabo un blanco de agua de la forma indicada.

Pipetee en un tubo de ensayo:

	Reactivo	Patrón	Muestra	Muestra + Muestra Blank
10 µl H <sub>2</sub> O	10 µl	-	-	-
Patrón	-	10 µl	-	-
Muestra	-	-	10 µl	-
Reactivo 1	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl

Mezclelo, incúbelo durante 5 minutos a 37°C.

Reactivo 2	400 µl	400 µl	400 µl	400 µl
Muestra	-	-	10 µl	10 µl

Mezclelo, incúbelo durante 5 minutos a 37°C.

Introduzca la cubeta en el soporte de la celda de flujo del

**SENSIBILIDAD**

El nivel mínimo detectable con una precisión aceptable se ha determinado en 0,072 mmol/l



RX monza y pulse Read (Leer).

\* Consulte las notas 1 y 2.

**MANUAL PROCEDIMIENTO(6)**

Longitud de onda:	550 nm
Cubeta:	1 cm de espesor
Temperatura:	37°C
Medición:	Frente al reactivo blanco

Pipetear en la cubeta:	React. blanco	Patrón	Muestra	*Muestra blanco
Agua destilada	50 µl	---	---	---
Patrón	---	50 µl	---	---
Muestra	---	---	50 µl	---
Solución R1	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

Mezclar e incubar a 37°C durante 10 minutos.

Solución R2	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml
Muestra	---	---	---	50 µl

Mezclar e incubar a 37°C durante 10 min. Leer la absorbancia de la muestra (Amuestra) y del patrón (Apatrón) frente a reactivo blanco a 550 nm.

\* Consulte las notas 1 y 2.

**N.B.: Tiempo de lectura debe ser exactamente 10 min.**

**CALCULOS**

**Utilizando una curva de calibración**  
 La curva de calibración debe ser confirmada para cada nuevo lote de reactivos de la forma siguiente:

No. de Tubo	1	2	3	4
Nombre	Blanco	Patrón bajo	Patrón normal	Patrón elevado
NEFA Patrón	---	25 µl	50 µl	100 µl
Agua	50 µl	25 µl	---	---
Solución R1	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

Mezclar e incubar a 37°C durante 10 min.

Solución R2	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml
-------------	--------	--------	--------	--------

Mezclar e incubar a 37°C durante 10 min.

Abs	0,000	(leer)	(leer)	(leer)
NEFA Conc. (mmol/l)	0,000	0,50	1,00	1,91

Representar absorbancias (A550 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.

**Utilizando un patrón**

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

$$\text{mmol/l} = \frac{\text{Amuestra}}{\text{Apatrón}} \times \text{Concentración de patrón}$$

**REFERENCIAS**

- DeVries, G.H., Mamunes, P., Miller, C.D. and Hayward, D.M., Analytical Biochem. 1976; 76: 156-166.



**RANDOX**

**Determinación cuantitativa de urea IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL METODO**

 La ureasa cataliza la hidrólisis de la urea, presente en la muestra, en amoníaco (NH<sub>3</sub>) y anhídrido carbónico (CO<sub>2</sub>).

 El amoníaco formado se incorpora al α-cetoglutarato por acción de la glutamato deshidrogenasa (GLDH) con oxidación paralela de NADH a NAD<sup>+</sup>:


$$2 \text{NH}_3 + \alpha\text{-Ketoglutarato} + \text{NADH} \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{H}_2\text{O} + \text{NAD}^+ + \text{L-Glutamato}$$
 La disminución de la concentración de NAD<sup>+</sup> en el medio es proporcional a la concentración de urea de la muestra ensayada<sup>1</sup>.

**SIGNIFICADO CLINICO**

La urea es el resultado final del metabolismo de las proteínas; se forma en el hígado a partir de su destrucción.

 Puede aparecer la urea elevada en sangre (uremia) en dietas con exceso de proteínas, enfermedades renales, insuficiencia cardiaca, hemorragias gástricas, hipovolemia y obstrucciones renales<sup>1,4,5</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

<b>R 1</b>	TRIS pH 7,8	80 mmol/L
Tampón	α-Cetoglutarato	6 mmol/L
<b>R 2</b>	Ureasa	3750 U/L
Enzimas	Glutamato deshidrogenasa (GLDH)	6000 U/L
	NADH	0,32 mmol/L
<b>UREA CAL</b>	Patrón primario acuoso de Urea 50 mg/dL	

**PREPARACION**

Reactivo de trabajo (RT): Disolver (→) el contenido de un vial de R 2 Enzimas en un frasco de R 1 Tampón.

Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

Estabilidad: 6 semanas a 2-8°C o 7 días a 15-25°C.

**CONSERVACION Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 340 nm < 1,00.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio (Nota 1).

**MUESTRAS**

 - Suero o plasma heparinizado<sup>1</sup>: No usar sales de amonio o fluoruro como anticoagulantes.

 - Orina<sup>1</sup>: Diluir la muestra al 1/50 con agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 50 (factor de dilución); Evitar el crecimiento bacteriano, manteniendo el pH < 4.

La urea es estable 5 días a 2-8°C.

**PROCEDIMIENTO**

- Condiciones del ensayo:
  - Longitud de onda: 340 nm
  - Cubeta: 1 cm paso de luz
  - Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón (Nota 2-3) (μL)	--	10	--
Muestra (μL)	--	--	10

- Mezclar y leer las absorbancias a los 30 s (A<sub>1</sub>) y a los 90 s (A<sub>2</sub>).
- Calcular: ΔA = A<sub>1</sub> - A<sub>2</sub>.

**CALCULOS**

$$\frac{(\Delta A)_{\text{Muestra}}}{(\Delta A)_{\text{Patrón}}} \times 50 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de urea en la muestra}$$

 10 mg/L urea BUN dividido por 0,466 = 21 mg/L de urea = 0,36 mmol/L urea<sup>1</sup>.

**Factor de conversión:** mg/dL x 0,1665 = mmol/L.

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>**

Suero: de 15 a 45 mg/dL (2,49-7,49 mmol/L)

Orina: de 20 a 35 gr/24 horas

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERISTICAS DEL METODO**
**Rango de medida:** Desde el límite de detección de 1,82 mg/dL hasta el límite de linealidad de 500 mg/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

**Precisión:**

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (mg/dL)	41,9	146	39,96	144
SD	0,89	2,55	1,10	2,79
CV (%)	2,13	1,74	2,76	1,93

**Sensibilidad analítica:** 1 mg/dL = 0,0016 A.

**Exactitud:** Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coeficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: y = 0,99x + 0,01.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

 Como anticoagulante se recomienda la heparina. En ningún caso deben utilizarse sales de amonio o fluoruro<sup>1</sup>.

 Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la urea<sup>2,3</sup>.

**NOTAS**

- UREA CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- El material empleado así como el agua destilada que se utilice deben estar libres de amoníaco y/o sus sales<sup>1</sup>.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

**BIBLIOGRAFIA**

- Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PRESENTACION**

Ref: 1001332 10 x 20 mL

 Ref: 1001333 Cont. 10 x 50 mL





ALBUMIN

# Albumina

Verde bromocresol. Colorimétrico

## Determinación cuantitativa de albúmina IVD

Conservar a 2-8°C

### PRINCIPIO DEL METODO

La albúmina se combina con el verde de bromocresol a pH ligeramente ácido, produciéndose un cambio de color del indicador, de amarillo verdoso a verde azulado proporcional a la concentración de albúmina presente en la muestra ensayada<sup>1,2,3,4</sup>.

### SIGNIFICADO CLINICO

La albúmina es una de las más importantes proteínas plasmáticas producidas en el hígado.

Entre sus múltiples funciones se incluye nutrición, mantenimiento de la presión oncótica y transporte de sustancias como Ca<sup>++</sup>, bilirrubina, ácidos grasos, drogas y esteroides.

Alteraciones en los valores de albúmina indican enfermedades del hígado, desnutrición, lesiones de la piel como dermatitis, quemaduras severas o deshidratación<sup>1,7,8</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

### REACTIVOS

R	Verde bromocresol pH 4,2	50 mmol/L
ALBUMIN CAL	Patrón primario acuoso de Albúmina 5 g/dL	

### PREPARACION

El reactivo y calibrador están listos para su uso.

### CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

### ALBUMIN CAL

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 630 nm  $\geq 0,40$ .

### MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 630 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

### MUESTRAS

Suero o plasma libre de hemólisis<sup>1</sup>: Estabilidad 1 mes a 2-8°C o 1 semana a 15-25°C.

### PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
  - Longitud de onda: ..... 630 nm (600-650)
  - Cubeta: ..... 1 cm paso de luz
  - Temperatura ..... 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón <sup>(Nota 1-2)</sup> (µL)	--	5	--
Muestra (µL)	--	--	5

- Mezclar e incubar 10 min a temperatura ambiente (15-25°C).

- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable 1 hora a temperatura ambiente.

### CALCULOS

$$\frac{(A)Muestra}{(A)Patrón} \times 5 \text{ (Conc Patrón)} = \text{g/dL de albúmina en la muestra}$$

Factor de conversión: g/dL x 144,9 = µmol/L

### CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

### VALORES DE REFERENCIA

3,5 a 5,0 g/dL<sup>1</sup>.

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

### CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,04 g/dL hasta el límite de linealidad de 6 g/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (g/dL)	3,38	5,80	3,30	5,67
SD	0,02	0,03	0,26	0,04
CV (%)	0,52	0,49	0,78	0,69

Sensibilidad analítica: 1 g/dL = 0,126 A.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: y= 0,98x + 0,09.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

### INTERFERENCIAS

Bilirrubina hasta 110 mg/L, hemoglobina hasta 1 g/L y lipemia hasta 10 g/L, interfieren<sup>1,4</sup>.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la albumina<sup>5,6</sup>.

### NOTAS

- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

### BIBLIOGRAFIA

- Gendler S. Uric acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1268-1273 and 425.
- Rodkey F L. Clin Chem 1965; 11: 478-487.
- Webster D. Clin Chem. 1974; Acta 53: 109-115.
- Doumas BT Clin Chem. 1971; Acta 31: 87-96.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

### PRESENTACIÓN

Ref: 1001020 

Cont.
-------

 2 x 250 mL



IMPORTADORES EXCLUSIVOS : LAB CENTER DE MEXICO S.A. DE C.V.  
Colina de las Termas #35 Fracc. Boulevares Nautcalpan Edo. de México C.P. 53140  
TEL.: 01 (55) 5360-8772 LADJ SIN COSTO 01 800 500 SPIN (7746)  
www.spinreact.com.mx info@spinreact.com.mx

**Determinación cuantitativa de proteínas totales IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

En medio alcalino, las proteínas dan un intenso color violeta azulado en presencia de sales de cobre; contiene yoduro como antioxidante. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de proteína total en la muestra ensayada<sup>1,4</sup>.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

Las proteínas son compuestos orgánicos macromoleculares, ampliamente distribuidos en el organismo. Actúan como elementos estructurales y de transporte. Se dividen en dos fracciones, albúmina y globulinas.

Su determinación es útil en la detección de:

- Hiperproteinemia producida por hemoconcentración, deshidratación o aumento en la concentración de proteínas específicas.
- Hipoproteinemia por hemodilución debida a un defecto en la síntesis proteica, pérdidas excesivas (hemorragias) o catabolismo proteico excesivo<sup>4,5</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

<b>R</b>	Potasio sodio tartrato	15 mmol/L
	Yoduro sódico	100 mmol/L
Biuret	Yoduro de potasio	5 mmol/L
	Sulfato de cobre (II)	19 mmol/L
<b>T PROTEIN CAL</b>	Patrón primario de Albúmina Bovina 7 g/dL	

**PRECAUCION**

Corrosivo (C): R35: Provoca quemaduras graves.  
Sulfato de cobre (II): Peligroso para el medio ambiente (N): R50/53: Nocivo para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático.  
S22: No respirar el polvo. S60: Elimínense el producto y su recipiente como residuos peligrosos. S61: Evítense su liberación al medio ambiente. Recábense instrucciones específicas/las fichas de datos de seguridad.

**PREPARACION**

Los reactivos están listos para su uso.

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 540 nm  $\geq 0,22$ .

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro ó analizador para lecturas a 540 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

**MUESTRAS**

Suero o plasma heparinizado<sup>1</sup>.

Estabilidad de la muestra: 1 mes en nevera a (2-8°C).

**PROCEDIMIENTO**

1. Condiciones del ensayo:  
Longitud de onda: ..... 540 (530 -550) nm  
Cubeta: ..... 1 cm paso de luz  
Temperatura ..... 37°C / 15-25°C
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón (Nota 1-2) (µL)	--	25	--
Muestra (µL)	--	--	25

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C o 10 minutos a Tª ambiente.
5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

**CÁLCULOS**

$$\frac{(A)Muestra}{(A)Patrón} \times 7 \text{ (Conc. Patrón)} = \text{g/dL de proteínas totales}$$

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>**

Adultos: 6,6 – 8,3 g/dL

Recién nacidos: 5,2 – 9,1 g/dL

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO**

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,20 g/dL hasta el límite de linealidad de 15 g/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (g/dL)	5,07	9,64	5,15	9,74
SD	0,04	0,08	0,06	0,14
CV (%)	0,88	0,90	1,23	1,43

Sensibilidad analítica: 1 g/dL = 0,07 A.

**Exactitud:** Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,9918

Ecuación de la recta de regresión:  $y = 1,0164x - 0,1264$ .

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

Hemoglobina y lipemia<sup>1,4</sup>.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de las proteínas<sup>2,3</sup>.

**NOTAS**

1. T PROTEIN CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
2. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
3. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
4. SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Koller A. Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1316-1324 and 418.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz NW et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PRESENTACIÓN**

Ref: 1001290	Cont.	R: 2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref: 1001291		R: 2 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001292		R: 1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL

### PARA SU USO

Para la determinación cuantitativa *in vitro* de calcio en suero. Este producto es adecuado para uso Manual.

**Cat. No.**  
CA.2390 1. Reactivo Arsenazo 6 x 100 ml

### SIGNIFICADO CLINICO<sup>(1)</sup>

El Calcio es el quinto elemento mineral más abundante en el cuerpo humano. La mayoría del calcio en humanos adultos es extracelular y el 99% existe en forma de hidroxapatita en huesos y dientes donde confiere rigidez. El calcio se encuentra en el suero en tres formas: unido a proteínas (45%), ionizado (45%) y un 10% está en complejos con pequeños ligandos difusibles como en el caso del citrato, lactato, fosfato y bicarbonato. El calcio juega un importante papel en los mecanismos de transmisión del impulso nervioso, la contracción muscular y la coagulación sanguínea. El calcio también está involucrado en la regulación de la actividad de la adenilato ciclasa y la fosfodiesterasa a través de una combinación reversible con la calmodulina. La concentración del calcio extracelular ionizado en la superficie celular controla la secreción de las glándulas paratiroides, la de las células C-tiroideas y la de las células pancreáticas.

Los niveles elevados de calcio sérico se dan en casos de hiperparatiroidismo, carcinomas, sobredosis de vitamina D. Estos niveles elevados son también de valor diagnóstico en la detección de enfermedades renales crónicas y enfermedades pancreáticas agudas. Los niveles bajos de calcio están asociados con hipoparatiroidismo, deficiencia de vitamina D y fallo renal.

### PRINCIPIO

El Arsenazo III se une específicamente al calcio formando un complejo coloreado a 650 nm.

Ca<sup>++</sup> + Arsenazo III → Complejo coloreado

La cantidad de calcio presente en la muestra es directamente proporcional a la intensidad del complejo coloreado formado.

### MUESTRA<sup>(4)</sup>

Suero / Plasma No utilizar como anticoagulante EDTA ni Oxalato sódico ya que se ha demostrado que interfieren con los resultados. El suero es estable durante 8 horas a temperatura ambiente ó 24 horas cuando se conserva entre +2 y +8°C.

### COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Componentes	Concentración Inicial de las Soluciones
1. <b>Reactivo Arsenazo III</b>	90 mmol/l, pH 5.9
Acetato sódico	348 Tmol/l
Estabilizadores no reactivos	

### PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

Solo para uso en diagnóstico *in vitro*. No pipetear con la boca. Tomar las precauciones normales requeridas para el manejo de reactivos de laboratorio.

Hojas de Salud y Seguridad están disponibles si lo desea.

**Los reactivos deben ser utilizados solo para los propósitos indicados por personal adecuado cualificado de laboratorio bajo condiciones apropiadas de laboratorio.**

### ESTABILIDAD Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso. Estables hasta la fecha de caducidad cuando se conservan entre +15 y +25°C.

### MATERIALES SUMINISTRADOS

Reactivo Arsenazo.

### MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Pipetas para dispensar 15 TL y 1 ml.  
Cronómetro y baño de agua o bloque de calor para mantener temperaturas de 25,30 o 37°C.  
Espectrofotómetro con longitud de onda de 640-660 nm.  
Multisueros Valorados Randox Nivel 2 (No. Cat. HN 1530) y Nivel 3 (No. Cat. HE 1532)  
Suero de Calibración Randox Nivel 3 (No. Cat. CAL 2351) o Nivel 2 (No. Cat. CAL 2350).

### PROCEDIMIENTO

Longitud de onda: 650 nm (640 nm - 660 nm)  
Cuveta: 1 cm de espesor  
Temperatura: 25/30/37°C  
Medición: frente al aire

	Reactivo Blanco	Calibrador	Muestra
Agua destilada	15 TL	-	15 TL
Muestra	-	-	-
Calibrador Reactivo 1	1,0 ml	15 TL, 1,0 ml	1,0 ml

Mezclar y leer la absorbancia de la muestra (A<sub>muestra</sub>) y Calibrador (A<sub>calibrador</sub>) frente al reactivo blanco al cabo de 5 minutos.

### CALCULO

Concentración =  $\frac{A_{muestra}}{A_{calibrador}} \times \text{valor del calibrador}$

### CALIBRACION

Se recomienda calibrar este análisis con Suero de Calibración Randox Nivel 3 o Nivel 2.

### CONTROL DE CALIDAD

Se recomiendan los Multisueros Valorados Randox, Nivel 2 y Nivel 3 para el control de calidad diario. Analizar dos niveles distintos de controles al menos una vez al día. Los valores obtenidos deberán encontrarse dentro del rango especificado. Si los valores se encuentran fuera del rango y su repetición excluye error, se deberán seguir los siguientes pasos:

1. Comprobar la programación del instrumento y la lámpara.
2. Comprobar que todo el material está limpio.
3. Comprobar el agua, contaminación ej. el crecimiento bacteriano puede contribuir a la inexactitud de los resultados.
4. Comprobar la temperatura de reacción
5. Comprobar la fecha de caducidad del kit y sus componentes.
6. Ponerse en contacto con el Sopofo Técnico al Cliente de los Laboratorios Randox, Ifranda del Norte +00 44 28 94422413.

### VALORES NORMALES<sup>(5)</sup>

Suero: 2.02 - 2.60 mmol/l (8.10 - 10.4 mg/dl)  
Orina: 2.5 - 6.2 mmol/24 hrs (100 - 249 mg/24 hrs)

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango que refleje la edad, sexo, dieta y localización geográfica de la población.

### LINEARIDAD

Este método es lineal hasta 4.25 mmol/l (17 mg/dl). Diluir 1 + 1 con una solución de 0.9% NaCl las muestras superiores a esta concentración y volver a analizar. Multiplicar el resultado por 2.

### CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE FUNCIONAMIENTO

Los siguientes datos de funcionamiento fueron obtenidos utilizando un analizador COBAS FARA a 37°C. Están disponibles datos de funcionamiento hojas de aplicación para otros analizadores automáticos en RANDOX.

### SENSIBILIDAD

El nivel mínimo detectable ha sido determinado en 0.25 mmol/l.

### PRECISION (Suero)

Intra-ensayo	Nivel 1	Nivel 2
Muestra	0.803	2.90
Media (mmol/l)	0.013	0.037
SD	1.62	1.27
CV (%)	20	20

### Inter-ensayo

Muestra	Nivel 1	Nivel 2
Media (mmol/l)	0.798	2.89
SD	0.017	0.05
CV (%)	2.09	1.73
n	20	20

### COMPARACION DE METODO (Suero)

El método Randox (Y) fue comparado con otro método comercial alternativo disponible. Se analizaron 40 muestras de pacientes con valores entre 1.01 y 3.63 mmol/l. El análisis de regresión lineal resultó en la siguiente ecuación:

$$Y = 1.05 X - 0.038$$

Con un coeficiente de correlación  $r = 0.995$

### REFERENCIAS

1. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry 2<sup>nd</sup> Edition W.B. Saunders Co., Philadelphia (1976)
2. Michaylova, V., and Ilkova, P., Anal Chem Acta, 53: 194 (1971)
3. Barnett, R.N., et al. (1973) Amer. J. Clin. Path. 59: 836.
4. Young, D., Pestaner, L., Clin Chem. 21: 5 (1975).

**Determinación cuantitativa de fósforo IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL METODO**

Método directo para la determinación de fósforo inorgánico. El fósforo inorgánico reacciona en medio ácido con molibdato amónico formando un complejo fosfomolibdico de color amarillo. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de fósforo inorgánico presente en la muestra ensayada<sup>1,2</sup>.

**SIGNIFICADO CLINICO**

El fósforo, es esencial para la formación del tejido óseo y el metabolismo energético celular. Aproximadamente un 85% se encuentra en el hueso y en los dientes.

Niveles bajos de fósforo pueden ser debidos a hipervitaminosis D, hipertiroidismo primario, desordenes renales, ingestión de antiácidos o mala absorción.

Niveles altos son atribuidos a la dieta, metástasis de huesos, alteraciones en el hígado, alcoholismo, diarreas y vómitos<sup>1,5,6</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

R	Molibdato amónico	0,40 mM
Molibdico	Ácido sulfúrico (SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> ) Detergente	210 mM
PHOSPHORUS CAL	Patrón primario acuoso de Fósforo 5 mg/dL	

**PRECAUCIONES**

Ácido sulfúrico: Corrosivo (C). R34: Provoca quemaduras. S26: En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acudir a un médico. S30: No echar jamás agua a este producto. S45: En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico.

**PREPARACION**

Reactivo y Patrón listos para su uso.

**CONSERVACION Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**PHOSPHORUS CAL**

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 340 nm  $\geq 0,54$ .

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro ó analizador para lecturas a 340 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio<sup>(Nota 1)</sup>.

**MUESTRAS**

- Suero o plasma<sup>1,5</sup>: Libre de hemólisis. El suero o plasma deben separarse lo antes posible de los eritrocitos con el fin de evitar la liberación de fósforo de los hematies. Estabilidad: 7 días a 2-8°C.
- Orina<sup>1,2</sup> (24 h): Recoger la orina en recipientes conteniendo 10 mL de ácido clorhídrico (ClH) al 10% (v/v) para evitar la precipitación de fosfatos. Ajustar pH 2. Diluir la muestra 1/10 con agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado por 10 (factor de dilución). Estabilidad: 10 días a 2-8°C.

**PROCEDIMIENTO**

- Condiciones del ensayo:
  - Longitud de onda: ..... 340 nm
  - Cubeta: ..... 1 cm paso de luz
  - Temperatura ..... 37 / 30 / 25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón <sup>(Nota 2,3)</sup> (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

- Mezclar e incubar 5 minutos.
- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo.

**CALCULOS**

Suero:  $\frac{(A)Muestra}{(A)Patrón} \times 5$  (Conc. Patrón) = mg/dL de fósforo en la muestra

Orina 24 h:  $\frac{(A)Muestra}{(A)Patrón} \times 5 \times \text{vol. (dL) orina/24h}$  = mg/24 h de fósforo

Factor de conversión: mg/dL x 0,323= mmol/L.

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>**

Suero o plasma:

Niños 4,0 – 7,0 mg/dL  $\approx$  1,29 – 2,26 mmol/L  
 Adultos 2,5 – 5,0 mg/dL  $\approx$  0,80 – 1,61 mmol/L

Orina:

Adultos 0,4 – 1,3 g /24 h

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERISTICAS DEL METODO**

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,07 mg/dL hasta el límite de linealidad de 15 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intrasene (n= 20)		Intersene (n= 20)	
Media (mg/dL)	3,44	5,84	3,45	5,83
SD	0,02	0,04	0,02	0,04
CV (%)	0,64	0,64	0,72	0,68

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,053 A.

Exactitud: Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x). El ensayo con 50 muestras dio los siguientes resultados:

Coefficiente de correlación (r): 0,9938.

Ecuación de la recta de regresión:  $y = 0,9902x + 0,0749$ .

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

No realizar la prueba con muestras hemolizadas ya que los hematies contiene una alta concentración de esteroides de fósforo orgánico, que es hidrolizado a fósforo inorgánico durante su conservación, el incremento es de 4-5 mg/dL por día<sup>5</sup>. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del fósforo<sup>3,4</sup>.

**NOTAS**

- La mayoría de detergentes utilizados para el lavado de material contienen quelantes y fosfatos que interfieren en el ensayo. Se recomienda limpiar el material con ácido nítrico diluido y enjuagar abundantemente con agua desionizada.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

**BIBLIOGRAFIA**

- Farrell E C. Phosphorus. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1072-1074 and 418.
- Daly J A. et al. Clin Chem 1972; 18 (3): 263-265.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

**PRESENTACION**

 Ref: 1001155 Cont. 2 x 150 mL

**Determinación cuantitativa de Sodio**
**IVD**

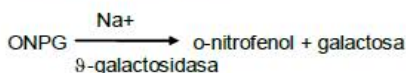
Conservar a 2-8°C

**USO PREVISTO**

 Para determinación cuantitativa *in vitro* de Sodio en suero y plasma.

**PRINCIPIO DEL METODO<sup>(1)</sup>**

El Sodio se determina enzimáticamente a través de la actividad de β-galactosidasa, usando como sustrato ONPG. La absorbancia del producto o-nitrofenil a 405 nm es proporcional a la concentración de sodio.



ONPG = o-nitrofenil -β-D-galactopiranosas

**SIGNIFICADO CLINICO**

Este test se utiliza en el diagnóstico y tratamiento de hiperaldosteronismo, diabetes insípida, hiper-tensión suprarrenal, enfermedad de Addison, deshidratación, secreción inadecuada de hormona antidiurética, o de otras enfermedades de desequilibrio electrolítico

**REACTIVOS**

<b>R 1</b> Tampón / Enzimas	Tampón Tris, pH 9.0 Cryptand β-galactosidasa	450 mmol/l 5.4 mmol/l ≥ 0.8 U/ml
<b>R2</b> Diluyente/ Sustrato	Tampón Tris O-nitrofenil galactosida	10.0 mmol/l 5.5 mmol/l

**PREPARACION**
**R1. Tampón / Enzimas**

Transferir el contenido de 1 vial de Tampón R1a a un vial de Enzima R1b agitando ligeramente, asegurándose que todo el contenido se disuelve completamente. Transferir el contenido total al tampón R1a, lavando el vial R1b varias veces. Evitar la formación de espuma.

**R2. Diluyente/ Sustrato**

Transferir el contenido de 1 vial de Diluyente R2a a un vial de Sustrato R2b agitando ligeramente, asegurándose que todo el contenido se disuelve completamente. Transferir el contenido total al tampón R2a, lavando el vial R2b varias veces. Evitar la formación de espuma.

**CONSERVACION Y ESTABILIDAD**

 R1 es estable 2 semanas a 2-8°C o 5 días a 15-25°C.  
 R2 es estable 4 semanas a 2-8°C o 2 semanas a 15-25°C.  
 No usar los reactivos una vez pasada la fecha de caducidad.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio (Nota 1).

**MUESTRAS**

Suero, plasma tratado con heparinato de litio.

**PROCEDIMIENTO**

- Condiciones del ensayo:
  - Longitud de onda: ..... 405 nm
  - Cubeta: ..... 1 cm paso de luz
  - Temperatura constante: ..... 37°C / 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en la cubeta:

	Estándar	Muestra
R1	720 µL	720 µL
R2	290 µL	290 µL
Estándar	30 µL	---
Muestra	---	30 µL

4. Mezclar y leer la absorbancia después de 60 s (A1) y 120 s (A2).

 5. Calcular:  $\Delta A = A_2 - A_1$ .

**CALCULOS**

$$\frac{(\Delta A)_{\text{Muestra}}}{(\Delta A)_{\text{Calibrador}}} \times \text{Conc Calibrador} = \text{mmol/L sodio en la muestra}$$

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 and 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>(2)</sup>**

136 - 146 mmol/l (313 - 336 mg/dl)

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERISTICAS DEL METODO**
**Linealidad:** El método es lineal entre concentraciones de sodio de 37.3 y 187.8 mmol/L.

**Sensibilidad:** La mínima concentración de sodio detectable con un nivel de precisión aceptable se determinó a 37.3 mmol/L.

**Precisión:**

	Intraserie (n=20)			Interserie (n=20)		
	Media (mmol/L)	SD	CV (%)	Media (mmol/L)	SD	CV (%)
Media (mmol/L)	47.4	124.9	179.8	62.9	125.2	159.6
SD	0.76	1.54	1.08	4.99	2.51	1.94
CV (%)	1.60	1.23	0.60	7.94	2.01	1.21

**Exactitud:** Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 40 muestras entre 119 y 226 fueron los siguientes:

Coeficiente de regresión (r): 0.98

 Ecuación de la recta de regresión:  $y = 1.12x - 13$ 

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**NOTAS**

- A fin de evitar contaminaciones se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

**BIBLIOGRAFIA**

- Berry, M. N. et al., (1988) *Clin. Chem.* **34**, 2295.
- Tietz, N. W. (1983) *Clinical guide to Laboratory Tests*, p.384, W.B. Saunders Co., Philadelphia.

**PRESENTACION**

 Ref: 1001385 Cont. R1a: 3 x 20 mL, R1b: 3 (Lio.) → 20 mL  
 R2a: 3 x 9 mL, R2b: 3 (Lio.) → 9 mL

**Determinación cuantitativa de Potasio**
**IVD**

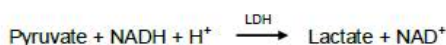
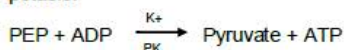
Conservar a 2-8°C

**USO PREVISTO**

 Para determinación cuantitativa *in vitro* de Potasio en suero y plasma.

**PRINCIPIO DEL METODO<sup>(1)</sup>**

El Potasio se determina enzimáticamente a través de la actividad de ADP, usando como sustrato fosfoenolpiruvato. El piruvato formado reacciona con el NADH en presencia de LDH para formar Lactato y NAD. El correspondiente descenso de absorbancia a 340 nm es proporcional a la concentración de potasio.


**SIGNIFICADO CLINICO**

Este test se utiliza para controlar el equilibrio electrolítico en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades caracterizadas por niveles altos o bajos de potasio en sangre.

**REACTIVOS**

<b>R 1</b> Tampón / Enzima- Sustrato	Tampón Tris, pH 8.2	250 mmol/l
	Cryptand	12 mmol/l
	PEP	≥ 3.3 mmol/l
	ADP	≥ 3.15 mmol/l
	I-oxoglutarato	≥ 1.2 mmol/l
	NADH	≥ 0.35 mmol/l
	GLDH	≥ 11 mmol/l
PK	≥ 1.2 mmol/l	
<b>R2</b> Enzima/ Diluyente	LDH	≥ 65 U/ml

**PREPARACION**
**R1. Tampón / Enzima-Sustrato**

Disolver el contenido de 1 vial de R1b (enzima-sustrato) con una porción de tampón R1a; transferir entonces el contenido total al tampón R1a, lavando el vial R1b varias veces.

**R2. Enzima/ Diluyente**

Disolver el contenido de 1 vial de R2b con una porción de diluyente R2a; transferir entonces el contenido total al diluyente R2a, lavando el vial R2b varias veces.

**CONSERVACION Y ESTABILIDAD**

R1 es estable 7 días a 2-8°C.

R2 es estable 2 semanas a 2-8°C.

No usar los reactivos una vez pasada la fecha de caducidad.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio (Nota 1).

**MUESTRAS**

Suero, plasma tratado con heparinato de litio.

**PROCEDIMIENTO**

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ..... 340 nm

Cubeta: ..... 1 cm paso de luz

Temperatura constante ..... 37°C / 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en la cubeta:

	Estándar	Muestra
R1	720 µL	720 µL
R2	290 µL	290 µL
Estándar	20 µL	----
Muestra	----	20 µL

4. Mezclar y leer la absorbancia después de 120 s (A1) y 240 s (A2).

 5. Calcular:  $\Delta A = A_2 - A_1$ .

**CALCULOS**

$$\frac{(\Delta A) \text{ Muestra}}{(\Delta A) \text{ Calibrador}} \times \text{Conc Calibrador} = \text{mmol/L potasio en la muestra}$$

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINCONTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 and 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>(2)</sup>**

3.5 – 5.1 mmol/l (13.7 – 19.9 mg/dl)

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERISTICAS DEL METODO**
**Linealidad:** El método es lineal hasta concentraciones de potasio de 11.2 mmol/L.

**Sensibilidad:** La mínima concentración de potasio detectable con un nivel de precisión aceptable se determinó a 2.46 mmol/l.

**Precisión:**

Media (mmol/L)	Intraserie (n=20)			Interserie (n=20)		
	3.37	4.37	6.40	3.17	4.05	6.04
SD	0.09	0.14	0.12	0.09	0.07	0.09
CV (%)	2.67	3.23	1.95	2.95	1.67	1.53

**Exactitud:** Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 77 muestras entre 2.51 y 9.99 fueron los siguientes:

Coeficiente de regresión (r): 0.99..

 Ecuación de la recta de regresión:  $y = 0.99x - 0.07$ 

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

Se encontró que las siguientes sustancias a los siguientes niveles no interfieren:

Intralipid®	750 mg/dl
Bilirrubina	25 mg/dl
Triglicéridos	1000 mg/dl
Hemoglobina	250 mg/dl

**NOTAS**

1. A fin de evitar contaminaciones se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso.
2. **SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

**BIBLIOGRAFIA**

1. Berry, M. N. et al., (1989) *Clin. Chem.* 35,817.
2. Tietz, N. W. (1986) *Textbook of Clinical Chemistry*, p. 1841. W.B. Saunders Company, Philadelphia.

**PRESENTACION**

 Ref: 1001395 Cont. R1a: 3 x 20 mL, R1b: 3 (Lio.) → 20 mL  
 R2a: 3 x 9 mL, R2b: 3 (Lio.) → 9 mL

**Determinación cuantitativa de magnesio**
**IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL METODO**

El magnesio forma un complejo coloreado al reaccionar con Magon sulfonado en solución alcalina.

 La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de magnesio en la muestra ensayada<sup>1</sup>.

**SIGNIFICADO CLINICO**

El magnesio, es el segundo catión intracelular más abundante en el organismo humano después del potasio, siendo esencial en gran número de procesos enzimáticos y metabólicos.

Es un cofactor en todas las reacciones enzimáticas que involucran al ATP y forma parte de la membrana que mantiene la excitabilidad eléctrica de las células musculares y nerviosas.

Principales causas de déficit de magnesio son mala absorción intestinal, administración de diuréticos o aminoglucósidos, hiperparatiroidismo o acidosis diabética.

 Niveles altos de magnesio se hallan en la uremia, fallo renal, glomerulonefritis, enfermedad de Addison o terapia intensiva con antiácidos<sup>1,4,5</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

R	Azul de Xilydil	0,1 mmol/L
	Acido Tioglicólico	0,7 mmol/L
	DMSO	3000 mmol/L
<b>MAGNESIUM CAL</b>	Patrón primario acuoso de Magnesio	2 mg/dL

**PRECAUCIONES**

Corrosivo (C): R35: Provoca quemaduras graves.

S26: En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acudir a un médico.

**PREPARACION**

El reactivo está listo para su uso.

**CONSERVACION Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas, cambio de color y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 546  $\geq$  1,8.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro ó analizador para lecturas a 546 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio<sup>(Nota 2)</sup>.

**MUESTRAS**

- Suero o plasma heparinizado<sup>1</sup>: Libre de hemólisis. Separado lo antes posible de los hematias. No usar oxalato o EDTA como anticoagulante. Estabilidad de la muestra: 7 días a 2-8°C.
- Orina<sup>1</sup>: Ajustar a pH 1 con ClH. Si la muestra es turbia, calentarla a 60°C 10 min. para disolver los precipitados. Diluir la muestra 1/10 con agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado por 10 (factor de dilución). Estabilidad de la muestra: 3 días a 2-8°C.

**PROCEDIMIENTO**

- Condiciones del ensayo:  
 Longitud de onda: ..... 546 nm  
 Cubeta: ..... 1 cm paso de luz  
 Temperatura ..... 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón <sup>(Nota 3-4)</sup> (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

- Mezclar e incubar 5 min a temperatura ambiente o 3 minutos a 37°C.
- Leer la absorbancia (A) del calibrador y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

**CALCULOS**

$$\frac{(A)Muestra}{(A)Patrón} \times 2 \text{ (Conc. Patrón)} = \text{mg/dL de magnesio en la muestra}$$
**Factores de conversión:**

$$\text{mg/dL} \times 0,412 = \text{mmol/L} \quad \text{ó} \quad 0,5 \text{ mmol/L} = 1,0 \text{ mEq/L} = 1,22 \text{ mg/dL} = 12,2 \text{ mg/L}^1$$
**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>**

 Suero o plasma: 1,6 – 2,5 mg/dL  $\approx$  0,66 – 1,03 mmol/L

 Orina: 24-244 mg/24 horas  $\approx$  2-21 mEq/L/24 horas

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERISTICAS DEL METODO**
**Rango de medida:** Desde el limite de detección de 0,0003 mg/dL hasta el limite de linealidad de 6 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al limite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

**Precisión:**

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (mg/dL)	1,99	3,55	1,98	3,41
SD	0,03	0,04	0,09	0,15
CV (%)	1,68	1,14	4,55	4,42

**Sensibilidad analítica:** 1 mg/dL = 0,4676 A.

**Exactitud:** Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Coeficiente de correlación (r): 0,92276

 Ecuación de la recta de regresión:  $y=1,027x + 0,102$ 

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

 Hemólisis. Los anticoagulantes a excepción de la heparina<sup>1</sup>.

 Se han descrito varias drogas y otras substancias que interfieren en la determinación del magnesio<sup>2,3</sup>.

**NOTAS**

- MAGNESIUM CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- Se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso para evitar contaminaciones de magnesio. En caso de utilizar material de vidrio deberá lavarse con una solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, enjuagar varias veces con agua destilada y secar antes de su uso.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. Se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

**BIBLIOGRAFIA**

- Farrell E C. Magnesium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1065-1069.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PRESENTACION**

Ref. 1001285 R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL

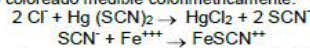
 Ref. 1001286  Cont. R: 2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL

**Determinación cuantitativa de iones cloruro IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL METODO**

Los iones cloruro de la muestra reaccionan con tiocianato de mercurio desplazando el ión tiocianato. El tiocianato libre en presencia de iones férricos forma un complejo coloreado medible colorimétricamente:



La intensidad del color es proporcional a la concentración de iones cloruro presente en la muestra ensayada<sup>1,2,3,4</sup>.

**SIGNIFICADO CLINICO**

El control de la concentración de iones cloruro tiene gran interés clínico dada su importancia en el balance ácido-base y la regulación osmótica del fluido extracelular. Valores altos se relacionan con pérdidas excesivas de agua o alteraciones del flujo renal y fibrosis quística. Valores bajos nos indican acidosis metabólica, trastornos gastrointestinales o alteración de los mecanismos renales<sup>5,7,8</sup>. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

R	Tiocianato de mercurio	4 mmol/L
Tiocianato -Hg	Nitrato de hierro	40 mmol/L
	Nitrato de mercurio	2 mmol/L
	Ácido nítrico	45 mmol/L
<b>CLORURO CAL</b>	Patrón primario acuoso de Cloruros	125 mmol/L

**PRECAUCIONES**

Corrosivo (C): R35: Provoca quemaduras graves.  
 Tiocianato de mercurio: Nocivo (Xn): R20/21/22: Nocivo por inhalación, ingestión y por contacto con la piel. R33: Peligro de efectos acumulativos.  
 S13: Manténgase lejos de alimentos y bebidas. S28: En caso de contacto con la piel, lavar inmediatamente con abundante agua. S45: En caso de accidente o malestar, acúdate inmediatamente al médico (si es posible, muéstrale la etiqueta). S60: Elimínese el producto y su recipiente como residuos peligrosos. S61: Evítense su liberación al medio ambiente. Recábense instrucciones específicas/las fichas de datos de seguridad.

**PREPARACION**

Reactivo y Patrón están listos para su uso.

**CONSERVACION Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 480 nm  $\geq 0,15$ .

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro o analizador con cubeta para lecturas a 480 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio<sup>(Nota 1, 2, 3)</sup>.

**MUESTRAS**

- Suero, plasma, LCR, sudor y otros fluidos<sup>1,2</sup>: Libre de hemólisis. Separado lo antes posible de los hematies. No usar oxalato o EDTA como anticoagulantes ya que interfiere en los resultados.
  - Orina<sup>1</sup>: Efectuar la recogida de orina de 24 horas en recipientes libres de cloruros. Diluir la orina 1/2 en agua destilada para su análisis. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 2 (factor de dilución).
- Estabilidad de la muestra: Los iones de cloruro son estables 1 semana a temperatura ambiente (15-25°C) o en nevera (2-8°C) o congelado (-20°C).

**PROCEDIMIENTO**

- Condiciones del ensayo:
  - Longitud de onda: 480 (440-500) nm
  - Cubeta: 1 cm paso de luz
  - Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón <sup>(NOTAS)</sup> (μL)	--	10	--
Muestra (μL)	--	--	10

- Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C / 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable 30 minutos.

**CALCULOS**

$$\frac{(A) \text{ Muestra}}{(A) \text{ Patrón}} \times 125 \text{ (Conc. Patrón)} = \text{mmol/L de iones cloruro}$$

$$\text{Orina 24 h: } \frac{(A) \text{ Muestra}}{(A) \text{ Patrón}} \times 125 \times \text{vol. (dL) orina/24 h} = \text{mmol/24 h iones cloruro}$$

Factor de conversión: mmol/L = mEq/L.

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>**

Suero o plasma:	95 - 115 mmol/L	LCR:	95 - 110 mmol/L
Orina:	110 - 250 mmol/24h	Sudor:	Hasta 60 mmol/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERISTICAS DEL METODO**

Rango de medida: Desde el límite de detección de 1,13 mmol/L hasta el límite de linealidad de 130 mmol/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con agua destilada y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (mmol/L)	90,7	106	91,6	108
SD	0,64	0,73	0,69	0,81
CV (%)	0,70	0,69	0,76	0,74

Sensibilidad analítica: 1 mmol/L = 0,006 A.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales.

Los resultados obtenidos con 50 muestras fuerin los siguientes:

Coefficiente de regresión (r): 0,99

Ecuación de la recta de regresión:  $y = 0,9823x + 2,3006$

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

- Hemólisis. Los anticoagulantes a excepción de la heparina<sup>1</sup>.
- Billirubina hasta 120 mg/L, albúmina bovina hasta 150 g/L y triglicéridos hasta 6 g/L no alteran significativamente los datos del ensayo<sup>4</sup>.
- Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren con la determinación del cloruro<sup>5,6</sup>.

**NOTAS**

- CHLORIDE CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- Se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso para evitar contaminaciones. En caso de utilizar material de vidrio deberá lavarse con una solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, enjuagar varias veces con agua destilada y secar antes de su uso.
- La mayoría de detergentes destinados a uso del laboratorio contienen agentes quelantes. Trazas de los mismos, como consecuencia de un mal aclarado del material, invalida la determinación.
- Evitar el contacto con partes metálicas.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

**BIBLIOGRAFIA**

- Miller W.G. Chloride. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1059-1062 and 417.
- Ibbott F A. et al. New York Academic Press 1965: 101-111.
- Schoenfeld R G et al. Clin Chem 1964 (10): 533-539.
- Levinson S S. et al. In Faulkner WR et al editors. (9) AACC 1982: 143-148.
- Young D.S. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young D.S. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PRESENTACION**

Ref: 1001360	Cont.	R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL
--------------	-------	------------------------------





## PARA SU USO

Para la determinación cuantitativa *in vitro* de dióxido de carbono en suero y plasma. Para uso Manual y/o Automático

CD No.	Contenido
CD 116	1 x 105 ml
CD 117	10 x 10 ml
CD 118	1 x 5 ml
CD 119	1 x 105 ml
CD 120	5 x 20 ml
CD 121	1 x 5 ml
CD 122	10 x 50 ml
CD 123	10 x 50 ml
CD 124	1 x 5 ml
CD 125	5 x 100 ml
CD 126	5 x 100 ml
CD 127	1 x 5 ml
CD 128	5 x 200 ml
CD 129	5 x 200 ml
CD 130	1 x 5 ml
CD 131	6 x 500 ml
CD 132	6 x 500 ml
CD 133	1 x 5 ml

**SIGNIFICADO CLÍNICO<sup>(1)</sup>**  
El aumento de CO<sub>2</sub> en la sangre (hipercapnia) causa acidosis respiratoria. CO<sub>2</sub> aumenta cuando disminuye la ventilación alveolar debido a enfermedades pulmonares o bronquiales, o con la respiración de aire enrriquecido en CO<sub>2</sub>.

**PRINCIPIO<sup>(2,3)</sup>**  

$$\text{Fosfoenolpiruvato} + \text{HCO}_3^- \xrightarrow[\text{MDH}]{\text{PEPC}} \text{oxaloacetato} + \text{H}^+ \rightarrow \text{malato} + \text{NAD}^+$$

La disminución de la absorbancia a 380 nm, causada por la oxidación del NADH, es proporcional a la concentración de bicarbonato en la muestra.

**PREPARACION Y TOMA DE LA MUESTRA<sup>(4)</sup>**  
Suero o plasma heparinizado.

No deben usarse como anticoagulantes EDTA, oxalato ó citrato, ya que podrían afectar a los resultados. Sumergir la muestra en hielo y analizarla en la hora que sigue. Las muestras se deberán conservar cerradas herméticamente, ya que el CO<sub>2</sub> se difunde de la muestra, causando valores erróneos (hasta 6 mmol/ltr)

## COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Componentes	Concentración en la prueba
1. <b>Tampón</b>	25 mmol/l, pH 6,5
2. <b>Reactivo CO<sub>2</sub></b>	6,3 mmol/l
3. <b>Patrón</b>	1,2 mmol/l
4. <b>Reactivo CO<sub>2</sub></b>	200 U/l
5. <b>Reactivo CO<sub>2</sub></b>	≥ 600 U/l
6. <b>Reactivo CO<sub>2</sub></b>	8,0 mmol/l
7. <b>Reactivo CO<sub>2</sub></b>	25 mmol/l

**PRECAUCIONES DE SEGURIDAD**  
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 desheche 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%.

Hojas informativas sobre Salud y Seguridad están disponibles si se desean

**Los reactivos deben ser utilizados solo para los propósitos indicados por personal adecuado cualificado de laboratorio bajo condiciones apropiadas de laboratorio.**

## ESTABILIDAD Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

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

2. **Reactivo CO<sub>2</sub>**  
CD 116, CD 117  
Reconstituir el contenido de un vial con el volumen adecuado de Tampón 1:  
20 ml para el kit de 10 x 10 ml (CD 116)  
10 ml para el kit de 5 x 20 ml (CD 117)  
Es estable durante 15 días entre +2 y +8°C cuando se conserva en el vial original sellado. 70 horas entre +2 y +8°C o 40 horas entre +15 y +25°C, expuesto a la atmósfera en su envase original o en un envase con cuello estrecho. Es preferible dejar que el reactivo repose toda la noche o al menos durante 4 horas antes de usar.

CD 119, CD 136, CD 137, CD 169  
Reconstituir el contenido de un vial de CO<sub>2</sub> Reactivo con una parte de Tampón 1. Transferir el contenido entero a la botella de tampón 1, enjuagando el vial 2 veces. Es estable durante 15 días entre +2 y +8°C cuando se conserva en el vial original sellado, 70 horas entre +2 y +8°C o 40 horas entre +15 y +25°C expuesto a la atmósfera en su envase original o en un envase con cuello estrecho. Es preferible dejar que el reactivo repose toda la noche o al menos durante 4 horas antes de usar.

## 3. Patrón

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

## MATERIALES SUMINISTRADOS

Tampón  
Reactivo CO<sub>2</sub>  
Patrón

## MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Pipetas apropiadas para suministrar 10 TI y 1000 TI.  
Cronómetro. Bloque de calentamiento o baño de agua para mantener 37°C. Un espectrofotómetro con una longitud de onda de 380 nm.  
Solución de NaCl al 0,9% para la dilución de muestras (si necesario).  
Multisueros Valorados Randox Nivel 2 (No. Cat. HN 1530) y Nivel 3 (No. Cat. HE 1532)

## NOTAS DE PROCEDIMIENTO

- Para permitir que el reactivo alcance equilibrio, se recomienda que se reconstituya preferiblemente la noche anterior o al menos 4 horas antes de usar. Entonces el reactivo es estable durante 15 días entre +2 y +8°C en su frasco original sellado o durante 70 horas entre +2 y +8°C expuesto a la atmósfera.
- No exponer el reactivo al aire durante más tiempo del necesario y conservar con el taponado bien cerrado.
- Para pipetear con la boca.
- Para mediciones a 340 nm utilizar un kit de CO<sub>2</sub> (Total) de 340 nm, No. Cat. CD 127, CD 128, CD 129, CD 122, CD 123, CD 118.
- No agitar vigorosamente cuando se reconstituya el reactivo ya que esto puede causar una absorción excesiva de CO<sub>2</sub>. Es suficiente con invertir con cuidado el frasco varias veces.

## PROCEDIMIENTO

Longitud de onda: 380 nm  
Cubeta: 1 cm de espesor  
Temperatura: 37°C  
Medición: frente a agua destilada

Pipetear en la cubeta:

Test	Blanco	Patrón
Muestra	10 TI	---
Agua bidestilada	---	10 TI
Patrón	---	---
Reactivo	1000 TI	1000 TI

Incluir durante 5 min. a 37°C y medir la absorbancia del patrón (A<sub>patrón</sub>), de la muestra (A<sub>muestra</sub>) y del reactivo blanco (A<sub>blanco</sub>).

## CALCULOS

$$-A_{\text{muestra}} = A_{\text{blanco}} - A_{\text{muestra}}$$

$$\text{CO}_2 \text{ Total (mmol/l)} = \frac{-A_{\text{muestra}}}{-A_{\text{patrón}}} \times \text{conc. de patrón}$$

## CALIBRACION

Se recomienda para la calibración el patrón CO<sub>2</sub> Randox (25 mmol/l) suministrado con el kit. El patrón está preparado gravimétricamente utilizando bicarbonato sódico grado A.C.S. Se recomienda recalibrar para cada serie de muestras analizadas.

## CONTROL DE CALIDAD

Se recomiendan los Multisueros Valorados Randox Nivel 2 y Nivel 3 para el control de calidad diario. Analizar dos niveles distintos de controles al menos una vez al día. Los valores obtenidos deberán encontrarse dentro del rango especificado. Si los valores se encuentran fuera del rango y su repetición excluye error, se deberán seguir los siguientes pasos:  
1. Comprobar programación del instrumento y la lámpara  
2. Comprobar que todo material está limpio  
3. Comprobar el agua, contaminación ej. el crecimiento bacteriano puede contribuir a la inexactitud de los resultados  
4. Comprobar la temperatura de reacción  
5. Comprobar la fecha de caducidad del kit y sus componentes.  
6. Ponerse en contacto con el Soporte Técnico al Cliente de los Laboratorios Randox, filanda del Norte +00 44 28 94422413.

## INTERFERENCIAS<sup>(6)</sup>

La principal interferencia en este análisis es el CO<sub>2</sub> proveniente del aire o la respiración del analista. También pueden afectar los niveles de CO<sub>2</sub> en la sangre algunas drogas y otras sustancias. La hemoglobina hasta una concentración de 2 g/l no afecta al análisis.

## VALORES NORMALES EN SUERO<sup>(4)</sup>

Adultos: Arterial 21-28 mmol/l  
Venesa 22-29 mmol/l

Arterial: Recién nacidos 17,2-23,6 mmol/l  
Niños 19,0-23,9 mmol/l

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango que refleje la edad, sexo, dieta y localización geográfica de la población

## LINEALIDAD

El método es lineal hasta una concentración de 50 mmol/l. Las muestras con concentraciones superiores deberán diluirse 1+1 con solución NaCl al 0,9% y multiplicar el resultado por 2.

## SENSIBILIDAD

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de sensibilidad, ya que está limitada por el espectrofotómetro utilizado. Bajo las condiciones del análisis, el cambio de la absorbancia de 0,001 unidades es equivalente a 0,8 mmol/l.

## REFERENCIAS

- Tietz, N. N., et al. "Textbook of Clinical Chemistry" W. B. Saunders Co, 1986; 1172-1253
- Woods, N., et al. "Laboratory Test Handbook" 2<sup>nd</sup> ed., Williams and Wilkins, 1990.
- Fornester, R.L., Watagi, K., Silverman, D.A., Pierre, K.J., Clin. Chem. 1976; 22:243-245.
- Norris, R.A., Atkinson, A.R., Smith, W.G., Clin. Chem. 1975; 21:8: 1083 - 1101.
- Young D.S., Effects of Drugs on Chemical Laboratory Tests, 3<sup>rd</sup> ed., AACC Press 1990.



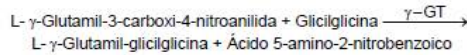


**Determinación cuantitativa de gamma-glutamyl transferasa (γ-GT) IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

La γ-glutamyl transferasa (γ-GT) cataliza la transferencia de un grupo γ-glutamilo de la γ-glutamyl-p-nitroanilida al dipéptido aceptor glicilglicina, según la siguiente reacción:


 La velocidad de formación del ácido 5-amino-2-nitrobenzoico, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de γ-glutamyl transferasa (γ-GT) en la muestra ensayada<sup>1,2</sup>.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

La γ-glutamyl transferasa (γ-GT) es una enzima que se encuentra presente en casi todos los tejidos del organismo, siendo particularmente alta en hígado, páncreas, riñón y próstata.

 La determinación de los niveles de γ-glutamyl transferasa (γ-GT) es el método más útil para el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades hepato biliares como obstrucción hepática, cirrosis o tumores hepáticos<sup>1,2,5,6</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

R 1	TRIS pH 8,6	100 mmol/L
Tampón	Glicilglicina	100 mmol/L
R 2	L-γ-glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida	3 mmol/L
Substrato		

**PREPARACIÓN**

Reactivo de trabajo (RT)

Mezclar:

4 vol. (R1) Tampón + 1 vol. de (R2) Substrato.

Estabilidad: 2 meses a 2-8°C o 1 semana a temperatura ambiente.

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 405  $\geq$  1,20.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Baño termostatable a 25°C, 30°C ó 37°C ( $\pm$  0,1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

**MUESTRAS**

 Suero<sup>1</sup>. γ-GT es estable hasta 3 días a 2-8°C, 8 horas a 15-25°C y 1 mes a -20°C.

**PROCEDIMIENTO**

- Condiciones del ensayo:
  - Longitud de onda: ..... 405 nm
  - Cubeta: ..... 1 cm paso de luz
  - Temperatura constante: ..... 25°C / 30°C / 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
- Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1,0
Muestra (μL)	100

- Mezclar, incubar 1 minuto.
- Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular el promedio de la diferencia de absorbancia por minuto ( $\Delta A/\text{min}$ ).

**CÁLCULOS**
 $\Delta A/\text{min} \times 1190 = \text{U/L de } \gamma\text{-GT}$ 

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 μmol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

**Factores de conversión de temperaturas**

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,37	1,79
30°C	0,73	1,00	1,30
37°C	0,56	0,77	1,00

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>**

	25°C	30°C	37°C
Mujeres	4-18 U/L	5-25 U/L	7-32 U/L
Hombres	6-28 U/L	8-38 U/L	11-50 U/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO**

Rango de medida: Desde el límite de detección 2 U/L hasta el límite de linealidad 300 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (U/L)	38,3	190	40,1	198
SD	0,39	0,53	0,82	2,30
CV (%)	1,03	0,28	2,05	1,16

 Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,0008  $\Delta A/\text{min}$ .

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (γ) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 100 muestras fueron los siguientes:

Coeficiente de regresión (r): 0,99990.

 Ecuación de la recta de regresión:  $y = 1,334x - 1,493$ .

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

 No utilizar plasma. Los anticoagulantes inhiben al enzima. La hemólisis elevada interfiere en el ensayo<sup>1</sup>. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la γ-GT<sup>3,4</sup>.

**NOTAS**
**SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**
**BIBLIOGRAFÍA**

- Gendler S. γ-GT. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1120-1123.
- Persijn J P et al. J Clin Chem Clin Biochem 1976; (14) 9: 421-427.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PRESENTACIÓN**

Ref: 41290		R1: 1 x 60 mL
		R2: 1 x 15 mL
Ref: 41292	Cont.	R1: 1 x 240 mL
		R2: 1 x 60 mL
Ref: 41293		R1: 1 x 480 mL
		R2: 1 x 120 mL

## XV. APÉNDICE



**Procedimiento SAS para estadística  
descriptiva, análisis de varianza y modelos  
de regresión lineal simple y múltiple de  
diferentes analitos bioquímicos**

Procedimiento SAS para estadística descriptiva de diferentes analitos bioquímicos y análisis de varianza para comparación por grupos de producción

```
*****
*
*                               Autor: M. en C. Arturo César García Casillas                               *
*****
DM 'LOG; CLEAR';
DM 'OUTPUT; CLEAR';
OPTIONS NO DATE NO CENTER NO NUMBER NO LABEL ls = 80 ps = 60;
PROC IMPORT OUT = WORK.PERFIL
DATA FILE = "C:\Users\M. en C. García\Desktop\TIZAYUCA.xls"
DBMS = EXCEL 2000 REPLACE;
SHEET = PERFIL;
GET NAMES = YES;
DATA TIZAYUCA;
SET PERFIL;
RUN;
PROC UNIVARIATE;
VAR GRASA PROTEÍNA GRASA_PROTEÍNA K+ Na+ Mg2+ PO4-3 Cl- CO2 Ca2+ GLU urea COL TAG PROT-T γ-
GT ALB AGNE β-HBA HCO3- A_GAP GLOB; HISTOGRAM/cfill = gray NORMAL;
RUN;
PROC CORR;
VAR K+ Na+ Mg2+ PO4-3 Cl- CO2 Ca2+ GLU UREA COL TAG PROT-T γ-GT ALB AGNE β-HBA HCO3- A_GAP
GLOB;
RUN;
PROC SORT;
BY VACA_GRUPO;
PROC ANOVA;
CLASS VACA_GRUPO VACA_REPETICIÓN K+ Na+ Mg2+ PO4-3 Cl- CO2 Ca2+ GLU urea COL TAG PROT-T γ-GT
ALB AGNE β-HBA HCO3- A_GAP GLOB;
MODEL K+ Na+ Mg2+ PO4-3 Cl- CO2 Ca2+ GLU urea COL TAG PROT-T γ-GT ALB AGNE β-HBA HCO3- A_GAP
GLOB = VACA_GRUPO;
MEANS VACA_GRUPO/Tukey lines Duncan Scheffe ALPHA = 0.05;
RUN;
PROC SORT;
BY ESTABLO_GRUPO;
PROC ANOVA;
CLASS ESTABLO_GRUPO ESTABLO_REPETICIÓN K+ Na+ Mg2+ PO4-3 Cl- CO2 Ca2+ GLU urea COL TAG PROT-
T γ-GT ALB AGNE β-HBA HCO3- A_GAP GLOB;
MODEL K+ Na+ Mg2+ PO4-3 Cl- CO2 Ca2+ GLU urea COL TAG PROT-T γ-GT ALB AGNE β-HBA HCO3- A_GAP
GLOB = ESTABLO_GRUPO;
MEANS ESTABLO_GRUPO/Tukey lines Duncan Scheffe ALPHA = 0.05;
RUN;
QUIT;
```

Procedimiento SAS para modelos de regresión lineal simple y múltiple de diferentes analitos bioquímicos y sus ajustes por la producción de grasa y proteína de leche

```

*****
*
*                               Autor: M. en C. Arturo César García Casillas                               *
*****
DM 'LOG; CLEAR';
DM 'OUTPUT; CLEAR';
OPTIONS NO DATE NO CENTER NO NUMBER NO LABEL ls=80 ps=60;
PROC IMPORT OUT = WORK. LECHE
DATA FILE = "C:\Users\M. en C. García\Desktop\TIZAYUCA.xls"
DBMS = EXCEL 2000 REPLACE;
SHEET = LECHE;
GET NAMES = YES;
DATA TIZAYUCA;
SET LECHE;
RUN;
PROC UNIVARIATE;
VAR GRASA PROTEÍNA GRASA_PROTEÍNA K+ Na+ Mg2+ PO4-3 Cl- CO2 Ca2+ GLU urea COL TAG PROT-T γ-
GT ALB AGNE β-HBA HCO3- A_GAP GLOB; HISTOGRAM/cfill = gray NORMAL;
RUN;
PROC STEPWISE;
MODEL GRASA = K+ Na+ Mg2+ PO4-3 Cl- CO2 Ca2+ GLU urea COL TAG PROT-T γ-GT ALB AGNE β-HBA HCO3-
A_GAP GLOB/stepwise;
MODEL PROTEÍNA = K+ Na+ Mg2+ PO4-3 Cl- CO2 Ca2+ GLU urea TAG PROT-T γ-GT ALB AGNE β-HBA HCO3-
A_GAP GLOB/stepwise;
MODEL GRASA_PROTEÍNA = Na+ Mg2+ PO4-3 CO2 Ca2+ GLU urea COL TAG PROT-T γ-GT ALB AGNE β-HBA
HCO3- A_GAP GLOB/stepwise;
RUN;
PROC REG;
MODEL GRASA = COL/DW CLM CLI;
OUTPUT OUT = regre1simple r = residual1 predicted = previsto1;
PROC GPLOT DATA = TIZAYUCA;
Title "GRASA by COL";
axis1 order = 1 to 6 by 0.50 minor = none;
axis2 order = 1 to 10 by 1 minor = none;
symbol1 i = rl v = dot c = black r = 1; symbol2 i = rl v = dot c = red;
plot GRASA*COL/vaxis = axis1 haxis = axis2;
*Normalidad de los residuales;
PROC UNIVARIATE NORMAL DATA = regre1simple;
VAR residual1; HISTOGRAM/cfill = gray normal; Title "Normalidad residuales GRASA by COL";
/*Homocedasticidad: residuales VS previstos*/
PROC REG DATA = regre1simple; MODEL residual1 = previsto1;
RUN;
PROC REG;
MODEL GRASA = β-HBA/DW CLM CLI;
OUTPUT OUT = regre2simple r = residual2 predicted = previsto2;
PROC GPLOT DATA = TIZAYUCA;
Title "GRASA by β-HBA";
axis1 order = 1 to 6 by 0.50 minor = none;
axis2 order = 0.1 to 1.4 by 0.1 minor = none;
symbol1 i = rl v = dot c = black r = 1; symbol2 i = rl v = dot c = red;
plot GRASA* β-HBA/vaxis=axis1 haxis=axis2;
*Normalidad de los residuales;
PROC UNIVARIATE NORMAL DATA = regre2simple;

```

```

VAR residual2; HISTOGRAM/cfill = gray normal; Title "Normalidad residuales GRASA by  $\beta$ -HBA";
/*Homocedasticidad: residuales VS previstos*/
PROC REG DATA = regre2simple; MODEL residual2 = previsto2;
RUN;
PROC REG;
MODEL GRASA = GLU;
MODEL GRASA = TAG;
MODEL GRASA = AGNE;
RUN;
PROC REG;
MODEL PROTEÍNA = urea /DW CLM CLI;
OUTPUT OUT= regre3simple r = residual3 predicted = previsto3;
PROC GPLOT DATA = TIZAYUCA;
Title "PROTEÍNA by urea ";
axis1 order = 1.5 to 4 by 0.50 minor = none;
axis2 order = 1 to 13 by 1 minor = none;
symbol1 i = rl v = dot c = black r = 1; symbol2 i = rl v = dot c = red;
plot PROTEÍNA* urea /vaxis = axis1 haxis = axis2;
*Normalidad de los residuales;
PROC UNIVARIATE NORMAL DATA = regre3simple;
VAR residual3; HISTOGRAM/cfill = gray normal; Title "Normalidad residuales PROTEÍNA by urea";
/*Homocedasticidad: residuales VS previstos*/
PROC REG DATA = regre3simple; MODEL residual3 = previsto3;
RUN;
PROC REG;
MODEL PROTEÍNA = PROT-T/DW CLM CLI;
OUTPUT OUT = regre4simple r = residual4 predicted = previsto4;
PROC GPLOT DATA = TIZAYUCA;
Title "PROTEÍNA by PROT-T";
axis1 order = 1.5 to 4 by 0.50 minor = none;
axis2 order = 3 to 13 by 1 minor = none;
symbol1 i = rl v = dot c = black r = 1; symbol2 i = rl v = dot c = red;
plot PROTEÍNA*PROT-T/vaxis = axis1 haxis = axis2;
*Normalidad de los residuales;
PROC UNIVARIATE NORMAL DATA = regre4simple; VAR residual4; HISTOGRAM/cfill = gray normal; Title
"Normalidad residuales PROTEÍNA by PROT-T";
/*Homocedasticidad: residuales VS previstos*/
PROC REG DATA = regre4simple; MODEL residual4 = previsto4;
RUN;
PROC REG;
MODEL PROTEÍNA = TAG;
MODEL PROTEÍNA =  $\beta$ -HBA;
RUN;
PROC REG;
MODEL GRASA_PROTEÍNA = COL/DW CLM CLI;
OUTPUT OUT = regre5simple r = residual5 predicted = previsto5;
PROC GPLOT DATA = TIZAYUCA;
Title "GRASA_PROTEÍNA by COL";
axis1 order = 0.5 to 2 by 0.25 minor = none;
axis2 order = 1 to 10 by 1 minor = none;
symbol1 i = rl v = dot c = black r = 1; symbol2 i = rl v = dot c = red;
plot GRASA_PROTEÍNA*COL/vaxis = axis1 haxis = axis2;
*Normalidad de los residuales;
PROC UNIVARIATE NORMAL DATA = regre5simple;
VAR residual5; HISTOGRAM/cfill = gray normal; Title "Normalidad residuales GRASA_PROTEÍNA by COL";
/*Homocedasticidad: residuales VS previstos*/

```

```

PROC REG DATA = regre5simple; MODEL residual5 = previsto5;
RUN;
PROC REG;
MODEL GRASA_PROTEÍNA =  $\beta$ -HBA/DW CLM CLI;
OUTPUT OUT = regre6simple r = residual6 predicted = previsto6;
PROC GPLOT DATA = TIZAYUCA;
Title "GRASA_PROTEÍNA by  $\beta$ -HBA";
axis1 order = 0.5 to 2 by 0.25 minor =none;
axis2 order = 0.0 to 1.6 by 0.1 minor =none;
symbol1 i = rl v = dot c = black r = 1; symbol2 i = rl v = dot c = red;
plot GRASA_PROTEÍNA*  $\beta$ -HBA/vaxis = axis1 haxis = axis2;
*Normalidad de los residuales;
PROC UNIVARIATE NORMAL DATA = regre6simple;
VAR residual6; HISTOGRAM/cfill = gray normal; Title "Normalidad residuales GRASA_PROTEÍNA by  $\beta$ -HBA";
/*Homocedasticidad: residuales VS previstos*/
PROC REG DATA = regre6simple; MODEL residual6 = previsto6;
RUN;
PROC REG;
MODEL GRASA_PROTEÍNA = PROT-T;
MODEL GRASA_PROTEÍNA = urea;
MODEL GRASA_PROTEÍNA = GLU;
MODEL GRASA_PROTEÍNA = TAG;
MODEL GRASA_PROTEÍNA = AGNE;
RUN;
QUIT;

```