

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



Análisis Cuantitativo del Calcio Plasmático Circulante en Bovinos Lecheros de la Raza Holstein Fresian con Retención Placentaria

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

Antonio Salvador Ruvalcaba R.

GUADALAJARA, JALISCO, Febrero 1992

BIBLIOTECA CENTRAL

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

"ANALISIS CUANTITATIVO DEL CALCIO PLASMATICO CIRCULANTE EN BOVINOS LECHEROS DE LA RAZA HOLSTEIN FRESIAN CON RETENCION PLACENTARIA"

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A
ANTONIO SALVADOR RUVALCABA R.

DIRECTOR: M.V.Z. ABEL BUENROSTRO SILVA
ASESOR: M.V.Z. SILVIA RUVALCABA BARRERA

GUADALAJARA, JAL. FEBRERO 1992

D E D I C A T O R I A

A DIOS POR DARME LA OPORTUNIDAD
DE SUPERACION Y SERVICIO A LOS-
DEMAS.

A MI ESPOSA REBECA Y A MI
HIJO CHAVITA POR SU COMPA
ÑIA Y TERNURA.

A MIS PADRES DE QUIEN HE RECI -
BIDO SU SACRIFICIO, CONFIANZA -
Y GENEROSIDAD CON AMOR Y GRATI-
TUD.

A MI ASESOR: M.V.Z. ABEL-
BUENROSTRO SILVA POR SU -
VALIOSA Y DESINTERESADA -
COLABORACION.

A LOS MIEMBROS DE MI JURADO: Q.F.B. C. YOLANDA PARTIDA O.
M.V.Z. LUIS R. BOURGUETTS L.
M.V.Z. SILVIA RUVALCABA B.

A MI ALMA MATER QUE ENTRAÑABLEMENTE LLEVO.

A MI FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA -
CUYO NOMBRE LLEVO EN ALTO.

A MIS MAESTROS POR SU VALIOSO CONSEJO, MI ADMIRACION Y-
RESPECTO.

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS DE LA XXVII GENERACION.

AGRADEZCO A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE DE ALGUNA U OTRA FORMA PARTICIPARON EN MI REALIZACION PROFESIONAL.

GRACIAS.

C O N T E N I D O

	PAGINA
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
JUSTIFICACION.....	6
HIPOTESIS.....	7
OBJETIVOS.....	8
MATERIAL Y METODO.....	9
RESULTADOS.....	15
DISCUSION.....	19
CONCLUSIONES.....	20
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	21

R E S U M E N

Se cuantificaron niveles de Ca sérico en vacas Holstein Fresian de Tercer parto para asociarlo con retención-placentaria.

Se formaron 2 grupos:

Problema: 25 vacas con retención placentaria

Testigo : 25 vacas sin retención placentaria.

Se obtuvieron muestras de sangre por punción yugular, se dejó coagular y se separaron 2 ml. de suero sanguíneo por centrifugación, la técnica de laboratorio utilizada fue la de Ferro-Ham. (6).

Los resultados fueron los siguientes:

En el grupo problema se obtuvo una media de 9.39 mg. de Ca por 100 ml. de sangre, con una desviación estándar de 0.73 y el grupo testigo una media de 9.66 mg. de Ca por 100 ml. de sangre y una desviación estándar de 0.33.

Se realizó un análisis estadístico a través de un t de Student, no encontrándose significancia estadística.-(p 0.01).

Según los resultados aquí obtenidos podemos aseverar que el proceso de retención placentaria puede ocurrir aunque los niveles de calcio sérico se presenten dentro de los límites normales.

I N T R O D U C C I O N

El tipo de placentación en los bovinos, está clasificado como epitelio corial o cotiledonaria; estando la -- sangre fetal separada por el endotelio capilar, tejido conectivo, la capa celular endotelial del útero y una capa de células trofoblásticas. (10).

El desprendimiento normal de las membranas fetales después del parto, es un proceso fisiológico que se manifiesta con dos condiciones: la primera actividad del miometrio y la segunda desprendimiento de la vellosidad de la cripta materna. Nils Bjorkman and Persollen, expresan su punto de vista en el sentido de que cuando el aporte sanguíneo disminuye a nivel caruncular los vasos sanguíneos se colapsan y el proceso de liberación normal puede ocurrir. (12).

De Bath y E.N. Dickinson; mencionan que la placenta puede ser normalmente liberada 12 horas postparto. (5).

La retención de las membranas fetales es un proceso que comúnmente ocurre en el ganado lechero después del parto con más frecuencia que en otras especies animales. (12).

Algunos autores mencionan como causas de retención-placentaria la deficiencia en vitaminas y minerales. (5).

El total de calcio plasmático se encuentra en 3 componentes diferentes: 1o. Alrededor del 40% de calcio plasmático está ligado a proteínas, principalmente la albúmina. 2o. Una décima parte es difusible en forma compleja -- con aniones, citratos y fosfatos. Y 3o. La fracción restante, representa al calcio ionizado difusible que es el que ejerce efectos fisiológicos. (7).

Elementos plasmáticos (Na^+ , K^+ , Ca^{++}), influyen en la excitabilidad de los nervios y contractibilidad de los músculos. El calcio y el magnesio difusible están en plasma como iones libres y en asociación a proteínas. La absorción de calcio es estimulada por la vitamina D y se disminuye por glucocorticoides, los estrógenos tienen diferentes efectos en el metabolismo del calcio que varía de especie a especie con el estado fisiológico del animal. (15)

El 1% de calcio total se considera vital para las células y muchos procesos biológicos, actuando a nivel enzimático en el control neuromuscular, relacionado a su excitabilidad mediante el funcionamiento normal del corazón y la permeabilidad de la pared celular. (13).

El contenido de calcio en suero en la especie bovina es de 9 a 11 mg/100 ml de sangre. Su regulación está a cargo de la parathormona y la calcitonina cuando esta concentración decae se libera parathormona, dando como consecuencia que ha ya una movilización más intensa de elementos minerales al hueso, el cual actúa como almacén en el metabolismo del calcio y el fósforo. (9)

Los requerimientos diarios de calcio en el ganado vacuno lechero son de 18-24 g por día y de fósforo 18 g. La absorción de calcio se lleva a cabo en el intestino delgado se gún las necesidades del organismo. Los animales jóvenes que necesitan mayores requerimientos absorben y retienen calcio en relación directa con la ingesta sobre una amplia gama de alimentos. (3)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La retención placentaria es un proceso patológico - que afecta de diferentes maneras la productividad del ha - to, entre ellas encontramos:

- El tiempo de interparto aumentado
- La salud del animal se ve afectada algunas veces provocando la muerte.
- Aumentos de costos de producción.
- Disminución en la fertilidad.

Y no posee una etiología determinada por lo que es necesario conocer las causas y poder prevenir esta patología.

J U S T I F I C A C I O N

La retención de las membranas fetales es un proceso que comúnmente ocurre en el ganado lechero después del parto (12).

En algunas explotaciones se ha encontrado que tras la administración de gluconato de calcio antes y después del parto la presentación de retención placentaria disminuye considerablemente.

Por lo que pensamos que este proceso tiene relación con los niveles de calcio sérico.

H I P O T E S I S

La retención placentaria en bovinos lecheros de la raza Holstein Friesian podría estar asociada a niveles bajos de calcio sérico.

O B J E T I V O

GENERAL.- Cuantificación de concentración de calcio sérico y su relación con retención placentaria.

M A T E R I A L Y M E T O D O

Material biológico.- 50 vacas Holstein Fresian.

Material de laboratorio: Equipo y material comúnmente empleados en análisis clínicos.

Se formaron dos grupos con 25 vacas cada uno.

El grupo problema representado por vacas con proceso de retención placentaria proveniente de un establo ubicado al Sureste de la ciudad de Guadalajara, Jal., entre las poblaciones aledañas de Santa María Tequepexpan y Agua Blanca Mpio. de Zapopan.

El grupo testigo con partos clínicamente normales - provenientes de diferentes hatos localizados en la periferia de Guadalajara, Jal.

Se buscó uniformidad en ambos grupos en cuanto a:

- a) Consumo de minerales: (Ca, 22 g y P 20 g.)
- b) Hembras de tercer parto.
- c) Edad aproximada 5 años.
- d) Producción promedio entre 25-30 l/día.

Se obtuvieron muestras sanguíneas por punción yugular 12 horas después del parto.

Se colocaron 5 ml de sangre, se dejaron coagular a temperatura ambiente, se centrifugaron para separar el coágulo y obtener 2 ml de suero.

La prueba de laboratorio que se utilizó para la determinación del calcio plasmático o sérico fue por el Método de Ferro y Ham, (6) que a continuación se describe.

METODO COLORIMETRICO DE FERRO-HAM.

CALCIO Método de Ferro - Ham.

REACTIVOS Y PATRONES.

CALCIO PATRON 1 ml = 0.1 mg Ca (10 mg%).

Reactivo No. 1 SIGMA No. 64182

CLORANILATO DE SODIO

Reactivo No. 2 SIGMA No. 64181

ALCOHOL ISOPROPILICO AL 25%

Reactivo No. 3 SIGMA No. 64179

EDTA SAL TETRASODICA AL 5% (p/v).

Reactivo No. 4 SIGMA No. 64178.

Los reactivos 1,3 y 4 son estables indefinidamente a la temperatura ambiente. El cloranilato de sodio en solución es estable a temperatura ambiente por tres o cuatro meses. Bajo refrigeración su estabilidad es por un año. -- Añadir 75 ml. de agua destilada a la botella que contiene la sal. Si se forman cristales por la refrigeración, tómese el sobrenadante ó filtre el reactivo.

METODO COLORIMETRICO DE FERRO - HAM.

Este procedimiento que puede efectuarse en aproximadamente una hora, es útil para la determinación de Calcio en concentraciones de 40 a 400 ppm en diversas sustancias.

FUNDAMENTO DEL MÉTODO. El calcio se precipita cuantitativamente como cloranilato que se disuelve en EDTA-No. 4, liberando cloranilato de sodio. El color producido por el cloranilato de sodio es directamente proporcional a la cantidad exacta de calcio se calcula por la ley de Beer ó para mayor exactitud leyendo en una curva trazada por el patrón.

PROCEDIMIENTO.

- 1.- Problema. Pipetear 2 ml de suero ó plasma en un tubo de centrifuga de 12 ml de paredes gruesas ó en un tubo de ensaye pequeño.
- 2.- Patrón. Dentro de un segundo tubo pipetear 2 ml de patrón (1 ml = 0.1 mg de calcio).
- 3.- Agregar a todos los tubos 1 ml de Reactivo No. 2 Los tubos que contienen proteína deben agitarse constantemente por rotación para disolver el precipitado de proteínas.
- 4.- Dejar reposar los tubos por lo menos 30 minutos.
- 5.- Centrifugar a 1800 rpm durante 10 minutos. Decantar el sobrenadante y dejar escurrir los tubos 2 ó 3 minutos sobre papel filtro.
- 6.- Secar la boca del tubo con papel filtro ó gasa.
- 7.- Lavar el precipitado con 6 ó 7 ml. de Reactivo No. 3 usando un chorro fino para levantar el precipitado -- que debe quedar suspendido en el reactivo.

- 8.- Centrifugar y dejar escurrir como en el Paso No. 5. - El sobrenadante puede ser turbio debido a la presencia de proteínas, lo que no afecta los resultados.
- 9.- Añadir al precipitado 0.1 ml (2 gotas) de agua destilada a los precipitados empacados.
- 10.- Pegando vigorosamente el fondo del tubo contra la palma de la mano para desbaratar el paquete del precipitado y suspender en el agua.
- 11.- Añadir a todos los tubos 6 ml de Reactivo No. 4. SI SE VA A USAR EL FOTOMETRO LEITZ AÑADIR 3 ML.
- 12.- Tapar los tubos y agitar por inversión varias veces - hasta la disolución total del precipitado. Evitando la formación de espuma.
- 13.- Leer a 520 nm, ajustando el aparato a 100% de transmisión con un blanco de agua destilada. Puede leerse inmediatamente ó hasta 5 días.
- 14.- Para lograr mayor exactitud use la misma cubeta para todas las lecturas, escurriéndola bien y secándola -- sobre gasa ó papel filtro al final de cada lectura.

CALCULOS:

$$\frac{\text{DENSIDAD OPTICA DEL PROBLEMA}}{\text{DENSIDAD OPTICA DEL PATRON.}} \times 10 = \text{mg\% de Ca.}$$

Se efectuó un análisis estadístico por medio de una -
t de Student para encontrar la significancia estadística --
entre ambos grupos.

Cuando los dos grupos son del mismo tamaño se emplea-
la siguiente fórmula. (14).

$$t = \frac{\frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}}}{1}$$

R E S U L T A D O S

En el grupo problema se encontraron valores entre 7.8 y 10.3 mg de Ca en 100 ml de sangre. Con una media de 9.39 y una desviación estandar de 0.73 (cuadro No. 1).

En el grupo testigo se obtuvieron valores entre 8.9 y 10.2 mg de Ca en 100 ml de sangre. Con una media de 9.66 y una desviación estándar de 0.33 (Cuadro No. 1).

Los promedios de Ca sérico en los grupos de estudio no variaron considerablemente. (Gráfica No. 1).

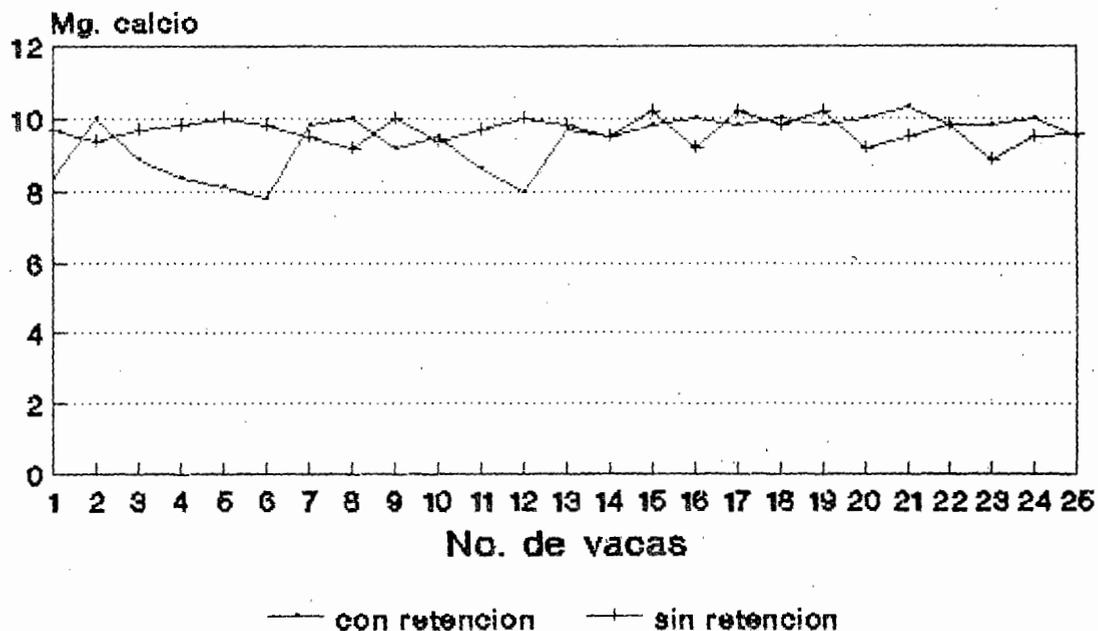
Como resultado del análisis estadístico se encontró que el valor promedio entre ambos grupos no varía significativamente.

REPRESENTACION NUMERICA COMPARATIVA DE LOS 2 GRUPOS DE VACAS.

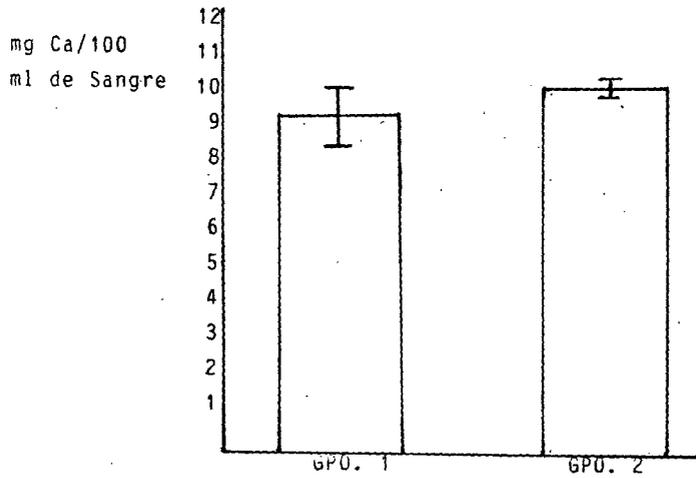
1er. gpo. vacas con re- tención pla- centaria.	mg.de Ca Sé rico/100 ml de sangre.	2do. gpo. vacas sin re- tención.	mg. de Ca sé rico/100 ml de sangre.
No. de vacas		No. de vacas.	
1	8.4	1	9.7
2	10.0	2	9.4
3	8.9	3	9.7
4	8.4	4	9.8
5	8.1	5	10.0
6	7.8	6	9.8
7	9.8	7	9.5
8	10.0	8	9.2
9	9.2	9	10.0
10	9.5	10	9.4
11	8.6	11	9.7
12	8.0	12	10.0
13	9.7	13	9.8
14	9.5	14	9.5
15	9.8	15	10.2
16	10.0	16	9.2
17	9.8	17	10.2
18	10.0	18	9.8
19	9.8	19	10.2
20	10.0	20	9.2
21	10.3	21	9.5
22	9.8	22	9.8
23	9.8	23	8.9
24	10.0	24	9.5
25	9.5	25	9.6

Cuadro No. 1

Concentración de Calcio en Sangre mg/100 ml



COMPARACION DE LA CONCENTRACION
PROMEDIO DE Ca. SERICO



GPO. 1 - CON RETENCION.

GPO. 2 - SIN RETENCION.

ESCALA 1:1.5

D I S C U S I O N

En el presente trabajo de investigación los datos - numéricos y gráficos obtenidos de niveles de calcio plasmático circulante explican para ambos grupos (con o sin retención placentaria) que el calcio plasmático como factor de deficiencia no produce retención placentaria, por lo tanto se considera como etiología multifactorial.

Algunos investigadores (Loss y Dufty) hacen mención que contracciones uterinas inefectivas pueden ser causa de que no se expulsan las membranas fetales, a esto se incluyen factores de hipocalcemia.

Autores como Arthur, Robert y Colb: mencionan que el proceso de retención placentaria tiene múltiples etiologías como son: falta de minerales, estrés, infecciones - fungosas (*Aspegillus*) bacterianas y virales.

C O N C L U S I O N

El proceso de retención placentaria puede ocurrir - aunque los niveles de calcio plasmático circulante se encuentren dentro de sus límites normales de (9-11 mg/100 ml de sangre).

Se sugiere se sigan realizando estudios para encontrar causas reales de la retención placentaria.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- AMAYNORD L.: Nutrición Animal 6, Th. ed. ed. Interamericana. México D.F. 1983 PP. 221.
- 2.- BATH O.L., DICKINSON F.H, APPLEMAN R.D.
Ganado Lechero Principios, prácticos, problemas y beneficios. 2 th ed. Ed. Interamericana, México O.F. -- 1982. PP 404.
- 3.- BLOOD D.C. HENDERSON J.A. Medicina Veterinaria 6th ed. Editorial Oceano México D.F. 1983 PP. 957.
- 4.- BONE JOSEF. Fisiología y Anatomía Animal 1ra. ed. Editorial El Manual Moderno México D.F. 1983. PP 153.
- 5.- DONALD., BATHL., D, HINSON. Ganado Lechero (Principios, Prácticas, problemas y beneficios) Vol. 2 Ed. Interamericana México D.F. 1987 PP 404.
- 6.- FERRO P.V. And Ham. A.B. (Calcio) Método Ferro Ham.- Am. J. Cline path 28: 208 (1957).

- 7.- FINCHER M.G. Retained Placenta J.A. U.M.A. U.S.A. - -
4: 395 (1982).
- 8.- GOODMAN GILMAN ALFRED. Las Bases Farmacológicas de la
Terapéutica, 6th ed. Editorial Médica Panamericana; -
México D.F. 1982 PP 1486.
- 9.- KOLB ERICH, Fisiología Veterinaria Vol. 1 1974, PP -
138 Vol. 2 1979 PP 776-777 Editorial ACRIBIA ZARAGOZA
ESPAÑA.
- 10.- LOSS V.S. OUFY J.H. Manual de Obstetricia Bovina 1ra.
ed. Editorial C.E.C.S.A. México D.F. 1986. PP 61.
- 11.- MERCK M.S.D - AGVET. El Manual Merck de Veterinaria
2 th ed. U.S.A. México D.F. 1981 PP 1042
- 12.- N. LS BJORKMAN AND PERSOLLEN Delivery Of Placenta Ac-
ta Veterinaria Escandinavica Stocolmo. 1978 PP 348.
- 13.- RUSOFFL. C., The Role of Milk in Modern Nutrition --
Journal of Dairy Science. 70: 2 (1987).
- 14.- WAYNE, W. DANIEL Bioestadística 3ra ed. Editorial --
LIMUSA MEXICO D.F. 1987 PP 187.

- 15.- WILKINSON M.P. Patología Clínica Veterinaria
Primera Edición Editorial UTEHA México D.F.
1980 PP. 35-37