

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



Determinación de los Valores Séricos de Calcio, Fósforo Inorgánico
y Magnesio en 50 Vacas de Agostadero durante el Invierno.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

FELIX GERARDO GUERRERO LOPEZ

GUADALAJARA, JALISCO, 1975

Con gran cariño y admiración a mis padres:

FELIX Y ANA MARIA

A mis queridos hermanos:

SOCORRO

ROSALINDA

MA. DEL PILAR

JULIA

Con cariño a:

AURORA

Con respeto al Dr. RAMON FERNANDEZ DE CEBALLOS.

Con estimación al M. V. Z. JAVIER RIVERA HERNANDEZ.

*Con agradecimiento al M. V. Z. GUSTAVO LASTRA DURAN
Por su valiosa cooperación para la realización de este
trabajo.*

A todos mis maestros.

*A mis compañeros de la 5a. generación, de quienes
siempre tengo gratos recuerdos.*

INDICE GENERAL

	Página
INTRODUCCION	1
MATERIAL Y METODOS	14
RESULTADOS	24
DISCUSION	27
CONCLUSIONES	32
SUMARIO	34
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	35

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

En el estado de Durango la actividad ganadera ocupa un lugar preponderante. Tiene en su haber una cuenca lechera, que juntamente con el estado de Coahuila forman la Cuenca Lechera de la Laguna.

El resto de la ganadería en Durango es de agostadero, o sea en forma extensiva. Las razas que predominan son: Angus, Hereford y Cebú. La mayoría del ganado es el nativo de la región cruzado con estas razas. Los tipos de zacates que predominan en el estado son: zacate navajita, cola de zorra y buffel.

La alimentación en los animales de agostadero es un problema muy serio, ya que las condiciones climatológicas determinan tres periodos en el año, que son muy marcados:

1. Una estación de precipitación pluvial.
2. Una época de invierno, con características de heladas que van en detrimento del zacate, que lo quema empobreciendo sus cualidades nutritivas.
3. Una época de estiaje, la cual se caracteriza por una elevada temperatura y una muy escasa precipitación pluvial.

Aunándose a un empobrecimiento de minerales en los pastos como lo reporta el laboratorio de Patología Animal dependiente de la Secretaría de Agricultura y Ganadería en Gómez Palacio, Durango, en el cual se han encontrado las deficiencias minerales en el ganado.

El objetivo de este trabajo es determinar los niveles séricos de calcio, fósforo inorgánico y magnesio durante la estación de invierno.

Desde el punto de vista clínico, los diagnósticos de deficiencias minerales (calcio, fósforo y magnesio) en la región han sido diagnosticadas frecuentemente y además, hay poco o ningún interés por parte de los ganaderos en reformar la dieta alimenticia de sus animales con suplementos mineralizados. Me incliné a desarrollar este trabajo con el fin de lograr una mayor sensibilización por parte de los ganaderos de la región y lograr de esta manera la introducción de los suplementos mineralizados a la ganadería regional para su mejoramiento.

CALCIO EN LOS TEJIDOS.

Cuantitativamente es el que más se encuentra en el cuerpo animal. En el hueso es el elemento principal y representa el 99%. El calcio se ha encontrado en el hueso en una relación de 2:1, con relación al fósforo.

El calcio se ha encontrado en 99% en el hueso y 1% distribuido en varios tejidos. En el ganado de carne (joven) tiene 1.6% más que en el adulto, según Smith y sus colaboradores, aunque el contenido de calcio en el hueso se incrementa con la edad, (el grado de acabado y el nivel de elementos minerales afectan considerablemente estos valores).

En los tejidos la presencia de calcio es esencial para la actividad del sistema enzimático, incluyendo la responsabilidad contractil del músculo. El Ton Calcio es uno de los iones (calcio, sodio, magnesio, hidrógeno) que están relacionados con el mantenimiento de la irritabilidad muscular.

A. EFECTOS DE LA EDAD.

Hansard, y colaboradores, usando técnicas isotópicas reportaron que la absorción de calcio en el ganado decrece con la edad; disminuyendo de un 99% en ganado joven y un 23% en ganado de 12 a 15 años de edad.

Stillings y colaboradores han demostrado que la retención del calcio es mayor en animales que consumen forrajes ricos en nitrógeno, en comparación a los que sean bajos en nitrógeno aunque la toma de calcio sea menor. El suplemento de la vitamina D mejoró la absorción y retención cuando los forrajes son -

bajos en nitrógeno.

Los granos, por lo general, se cree que facilitan la absorción de calcio [según Kendall y colaboradores] en ganado lechero aunque hay una evidencia contradictoria.

La vitamina D, es considerada como la más importante función en la regulación de la absorción del calcio.

B. FUNCIONES CONOCIDAS.

La participación del calcio en la formación del hueso del feto en útero es cuantitativa y en su función más importante.

En los tejidos la presencia de calcio es esencial para la actividad del sistema enzimático, incluyendo la responsabilidad contractil del músculo. Si el ión calcio en la sangre y otros tejidos blandos baja bruscamente, resulta una tetania. En la tetania, el músculo da más estímulo de lo normal y las contracciones pueden aparecer como temblor. Esto puede ser demostrado en el laboratorio con un músculo aislado. El incremento de calcio en el tejido y por otro lado en la respiración y la falla cardíaca.

La cantidad normal de calcio en el tejido, tiene efectos inhibitorios en la irritabilidad del músculo. La concentración normal de calcio en la sangre es de 9 a 12 miligramos por cada 100 c.c. de sangre.

C. DEFICIENCIA DE CALCIO.

Esto generalmente asume a que la salida del calcio es durante los periodos de una dieta inadecuada o una insuficiencia

en la absorción del hueso en el tiempo que este lo necesite.

Animales (particularmente adultos lactando), pueden desarrollar osteoporosis, una condición en la cual los huesos se vuelven delgados, quebradizos y bajos de ceniza en su totalidad.

Tales síntomas han sido reportados en ganado lechero. Esta condición trae como consecuencia marcha lenta, cojera moderada y fracturas en los huesos. Algunos cambios se presentan cuando la deficiencia de calcio se prolonga. Se presentan síntomas incluyendo una depresión en el consumo de alimento, reducción de peso y producción láctea (Underwood). Otros datos como los relacionados con el desarrollo y la reproducción son escasos y hasta incompletos. La inadecuada mineralización del hueso ha resultado en una malformación del mismo.

D. REQUERIMIENTOS DE CALCIO.

Smith y colaboradores han discutido los requerimientos de calcio en el ganado que afectan las necesidades del mismo. En las vacas afecta la pelvis, rompiéndola debido a la baja ración de calcio. La acción de calcio está íntimamente ligada con el fósforo y otros minerales y muy particularmente con la vitamina D. Los niveles de calcio se expresan por medio de porcentajes en la ración e influyen en la ganancia de peso, así como en la producción de leche tomando en cuenta la edad del animal, la solubilidad y digestibilidad del calcio, en las cantidades de grasa, en la dieta y la especie del animal.

Ganado de Carne

Ternera en engorda

0.37 - 0.20%

[arriba de 450 Kgs]

Novillos 0.25 - 0.29%

Hembras cubiertas 0.16%

Lactancia temprana 0.24%

F O S F O R O.

A. OCURRENCIA EN LOS TEJIDOS.

El fósforo está ampliamente distribuido en los tejidos - tanto de los animales como de las plantas y se encuentra en - una relación más o menos constante de 2:1, calcio: fósforo. - La cantidad de fósforo en los huesos de los animales jóvenes, será menor que en los adultos en virtud de que sus huesos no están completamente mineralizados. Cerca de un 75-80% del total de fósforo se encuentra en el esqueleto y los dientes. El total de fósforo en la sangre es aproximadamente de 35-45 mg%; mucho del cual se encuentra en los glóbulos rojos. En rumiantes el nivel inorgánico de fósforo de suero o plasma es por lo general en un orden de 4 a 9 Mg%.

El fósforo se encuentra en un nivel aproximado de 0.08% en músculo liso y 0.21% en el músculo del esqueleto. Los tejidos del cerebro pueden tener 0.24 a 0.44% (en ganado) y el hígado cerca de 0.28%.

B. FUNCIONES CONOCIDAS.

De un punto de vista metabólico, el fósforo es probablemente el más versátil de los nutrientes minerales. Además de la importante ayuda a los tejidos del esqueleto, el fósforo ocupa un papel muy importante en los varios aspectos del metabolismo. Los carbohidratos tales como la glucosa, se absorben a través de la mucosa intestinal como compuesto fosforilado. Los fosfolípidos se cree son los principales agentes por los cuales los -

ácidos grasos son transportados a través del organismo. El fósforo también se encuentra en los ácidos nucleicos presentes en las células. Otras funciones quizá de menos importancia son - aquellas como la actividad de resorte y la formación de colecciones solubles con cationes. Obviamente, el fósforo está considerado como un elemento de las funciones vitales de la vida. La información indica una aparente absorción en el intestino delgado; con relación a las becerras hay una aparente secreción en el omaso y el intestino delgado pero poca en el estómago. Las vacas adultas secretan grandes cantidades en el estómago y las becerras en el intestino delgado, también se encontró una pequeña excreción neta en el intestino grueso de las vacas.

La verdadera digestibilidad del fósforo es por lo general muy alta, siendo ésta en un orden de 70-80% para la mayoría de las fuentes inorgánicas. Siendo éste el caso y como la mayor parte del fósforo excretado es por el excremento y de continuar así una cantidad muy substancial de la excreción neta debe ocurrir en el tracto gastrointestinal. Los experimentos arriba mencionados, no demuestran esto; sin embargo puede ser que la mayor parte del fósforo endógeno es excretado por la parte superior del intestino delgado y no es reabsorbido en la misma extensión que el fósforo dietético.

Esto puede ocurrir por ejemplo si compuestos insolubles se forman en la bilis.

C. DEFICIENCIA DE FOSFORO.

La mayoría de los forrajes que consumen los rumiantes son

muy limitados en su contenido de fósforo. Consecuentemente el fósforo por lo general, es uno de los más limitados nutrientes minerales para rumiantes en muchas ocasiones.

Otro resultado de la deficiencia de fósforo es la rigidez de las articulaciones. La cojera se puede desarrollar y las fracturas pueden ocurrir. En la necropsia los cartílagos de las articulaciones aparecen gastados.

La anorexia (disminución de apetito) es el primer síntoma clínico. La mayoría de los animales desarrollan pica (apetito desmedido). En este caso ellos mastican y comen materiales que no están considerados como alimentos, tales como: piedra, madera, suciedad, hueso o pelo.

Como resultado de la pica el ganado consume restos de animales muertos cuando los encuentra y a veces se envenena con *Clostridium Botulinum*. Deficiencias menos drásticas se caracterizan por una apariencia indiferente y el pelo irzuto; aunque esto no siempre se debe a una deficiencia de fósforo, pero es muy parecida y una prueba es que los animales enfermos no se cuidan ni se lamen su pelo como los animales que están sanos. En los animales jóvenes los dientes y los huesos estarán menos densos y menos mineralizados.

La fertilidad está propensa a disminuir en las hembras. Dos casos recientes sobre este particular deben ser mencionados: ambos de estos casos demuestran que la fertilidad en las vacas de ordeña fue muy reducida cuando están deficientes en fósforo.

D. REQUERIMIENTOS DE FOSFORO.

El suplemento del fósforo resulta muy eficaz en la pronta recuperación de los niveles de fósforo en la sangre y el restablecimiento normal de la fertilidad.

Es de interés hacer notar que en cada de estos problemas ocurrieron en lugares donde intensas prácticas agrícolas fueron llevadas a cabo resultando aparentemente en la depleción de alimentar con fósforo, produciendo tejidos de planta con insuficiente fósforo para abastecer las cantidades necesarias para animales de alta producción.

En animales jóvenes una deficiencia de fósforo y vitamina D, traerá como consecuencia el raquitismo.

Ganado de engorda (% de dieta).

Becerras de engorda	0.28 a 180 kgs. y 0.20 a 450 Kgs.
Beceros de un año de engorda	de 0.20 a 0.21%
Novillas en crecimiento	de 0.15 a 0.21%
Vacas maduras	0.15%
Toros	0.15 a 0.21%

M A G N E S I O.

Es un elemento muy parecido al calcio, tanto en sus reacciones químicas como en sus funciones biológicas.

A. DISTRIBUCION EN LOS TEJIDOS.

El magnesio está ampliamente distribuido en los tejidos de las plantas y del animal representando cerca de 0.5 al 0.7% de ceniza de hueso, aunque el 70% del total del magnesio está presente en el esqueleto de los rumiantes. La relación calcio: magnesio es cerca de 55 a 1. El magnesio del suero se encuentra en un orden de 1.8 a 3 mgs. por cada 100 cc. de sangre. - El músculo contractil tiene relativamente altas concentraciones en el ganado, cerca de 190 mgs., de magnesio por cada Kg. de tejido. Hay cerca de 100 mgs., en tejido nervioso. En bovinos y ovinos la leche contiene cerca de 125 a 175 mgs. por Kg.

El magnesio juega un papel muy importante en la catalisis intercelular y en la oxidación fosforolítica de la mitocondria celular.

Con respecto al fósforo, se encuentra que el magnesio del suero se reduce cuando los niveles son altos en la dieta del fósforo y bajos en calcio en los alimentos. Esto ha sido reportado; que el magnesio del suero decrece más en raciones bajas de magnesio cuando el fósforo inorgánico reemplaza al fósforo orgánico en suplementos.

Carle y Van't Klooster sugirieron que la absorción de magnesio decrece en altas concentraciones de calcio. No obstante,

Wise y colaboradores dieron la noticia de la depresión en el suero de magnesio, cuando hay altos niveles de calcio y fósforo en el alimento. La vitamina D, tiene alguna influencia en la absorción del magnesio en rumiantes.

B. EFECTOS DE LA EDAD.

Smith reportó en terneras jóvenes de 2 a 5 semanas de edad, que la absorción del magnesio en el intestino grueso de creció con la edad. En trabajos anteriores, Smith observó que la excreción fecal del magnesio aumentó un 32% (en la dieta) - cerca de las tres semanas de edad; a 86%, cerca de las 16 semanas de edad. Después de las cuales no hubo cambio notable. - La absorción neta de magnesio es por lo general en un orden de 10 a 20%, con respecto a las concentraciones fetales. Field y Suttle han demostrado que el contenido de magnesio aumenta con la edad del feto.

C. FUNCIONES DEL MAGNESIO.

La deficiencia de magnesio está relacionada con desórdenes específicos en terneros jóvenes y vacas maduras. La situación en las vacas ha sido llamada tétano de hierba, tétano de invierno y envenenamiento por pasto de trigo. Se presenta como un problema muy serio en algunas granjas durante algunas épocas o estaciones del año. El aumento del tétano de la hierba ha sido relacionado con los programas de mejoramiento de las tierras. La situación se presenta principalmente con las vacas y por lo general 2 ó 3 semanas después de parir, se ob -

serva después de que están en pastos nuevos y lozanos.

La mortalidad por el tétano de hierba es casi siempre alta y los signos clínicos varían de acuerdo con la seriedad del caso; inconciencia, pérdida del conocimiento, parálisis parcial son los principales síntomas. Espasmos tónicos y clónicos se presentan en ataques severos. Otros síntomas como disminución de la vista, demostración de miedo, inapetencia y depresión. Los niveles sanguíneos de magnesio están bajos, con la deficiencia de magnesio la solubilidad del calcio se reduce y el calcio se deposita en los tejidos blandos incluyendo los riñones.

Un tratamiento rápido a base de sales de magnesio, calcio, fósforo, así como dextrosa, administrados por vía intravenosa da muy buenos resultados, suministrando e onzas de sales de magnesio diarias por vaca, asegura una protección completa. Suministrando grandes cantidades, ocasiona una pérdida de calcio en el organismo y además es peligrosa. La aplicación de magnesio en la sangre de las vacas que pastan y en algunas pruebas efectuadas ha reducido la incidencia de tétano.

El complejo problema de la hierba de tetania en las vacas maduras es que el forraje en que estos animales se encuentran pastando generalmente, está considerado como el indicado en contenido de magnesio. Por lo tanto, tal situación no está considerada como una deficiencia de magnesio. Tampoco el magnesio en los forrajes no está disponible para los rumiantes u otros factores presentes que intervengan en su absorción.

El uso de magnesio en forrajes de alto contenido de nitrógeno es menor y la deficiencia a menudo está relacionado con infecciones gastro-intestinales. Las hormonas así como otros minerales, pueden influir en la seriedad de los síntomas así como las necesidades del magnesio. Los síntomas de una deficiencia de magnesio tienen características de tipo epiléptico, y cuando se presentan las convulsiones por lo general, están presionadas por algún estimulante cercano. Los grados de magnesio en la sangre están muy bajos; en la necropsia las lesiones abarcan hepatitis, nefritis, e intensas hemorragias (especialmente en la cavidad de la pleura, y los tejidos cardiovascular). Los depósitos de calcio en los tejidos blandos, están localizados en el corazón y las arterias.

D. REQUERIMIENTOS DE MAGNESIO.

Las necesidades de magnesio para los terneros se estiman aproximadamente en 0.6 gramos por cada 100 libras de peso, cuando el alimento sea la causa. En el ganado adulto aproximadamente 0.4 gramos por cada 100 libras de peso.

REACTIVOS PARA DETERMINAR CALCIO.

Hidróxido de potasio [reactivo A] 4 ml.
 Indicador de calcio col. azul [reactivo B] 2 gotas.
 Estandarizado [reactivo C]
 Calcio standard 10 mg. [reactivo D].
 1 ml. = 0.1 mg.

REACTIVOS PARA FOSFORO.

Agua destilada 0.01 ml.
 Solución standard 4 ml. de fósforo.
 Concentración 8 ml.

REACTIVO PARA MAGNESIO.

Solución patrón de magnesio.
 Solución de alcohol plivinílico al 0.1% p/v.
 Solución de amarillo titan al 0.1% p/v.
 Solución de hidróxido de sodio al 7.5% p/v.

B. M E T O D O S

Cal-Pak un método rápido titrimétrico para determinar el calcio.

En un frasco de Erlenmeyer de 12.5 ml. con una pipeta de un mililitro, añade 4 mililitros de suero a un reactivo A (AN - K O H) y 25 ml., de agua destilada y mezcla. Añade 2 gotas de reactivo B (Col. azul indicador) y se gradúa inmediatamente con el reactivo C (solución E D T A), diluirlo hasta que desaparez-

ca el color verde, amarillo y queda el color definitivo que es el azul violeta.

a). Determinación del fósforo inorgánico del suero.

1. Preparación de una curva standard y en blanco: Una curva standard debe estar dispuesta con cada lote nuevo de reactivo, debe repetirse, cuando los standards lo aprueben o lo controlen así lo indiquen.

Marque 5 tubos de ensayo "RB" a 4, 6 y 8 usando pipetas volumétricas y prepare trabajando como a continuación se detalla:

Concentración RB	2	4	6	8 mg. %	
Agua destilada	4.0	3.0	2.0	1.0	0.0 ml.
Standard	0.0	1.0	2.0	3.0	4.0 ml.

Ahora cada tubo contiene 4.0 ml. de equivalente standard que equivale a 0, 2, 4, 6 y 8 mg. % de fósforo: si se cubre o se refrigeran los standard diluidos permanecen estables un mes. Incluya los controles o verifique los standard con cada grupo de desconocidos. Nosotros recomendamos el uso de 4 mg. standard como una revisión standard. Determine los valores de control establecido que deben de estar de acuerdo dentro de $\pm 5\%$ del valor establecido.

2. Reaccionen el color:

a. En un tubo marcado de 19 x 1.50 mm de Hycel, exactamente ponga con una pipeta de 0.2 ml. de suero limpio, no hemo

lizado trabajando normalmente o en controlar directamente al fondo del vaso. Use 0.2 ml., en pipeta para llegar.

b. Agregue 6.0 ml. de fósforo Hycel directamente - dentro del fondo de cada vaso. Inmediatamente después de cada adición agite los contenidos ya sea por medio de la mano o - con un batidor mecánico. El sacudimiento debe ser suficiente- mente para asegurar una mezcla completa.

c. El vaso debe estar en una posición recta. Permi- ta que los tubos estén a la temperatura ambiente del cuarto - por 30 minutos, mientras que el color se cambie de ese perlo- do.

b). Lecturas bajo el espectrofotómetro.

1. Borre de los tubos las huellas de la agitación. Lea la densidad óptica del standard y desconocidos contra lo blanco - (RB) a 650 m.p.

2. Para formar la curva standard en el espacio de densi- dad óptica del standard contra la concentración en el papel - gráfico regular o el porcentaje de transmisión contra la con- centración en un papel semi-logarítmico.

3. Lea las concentraciones desconocidas de la curva stan- dard.

c). Medición del magnesio del suero por el méto- do de Lake; del magnesio amarillo titan.

Fundamento. El suero se diluye con agua destilada, se añe

de solución de amarillo titan y se alcaliniza con hidróxido de sodio. Se emplea alcohol polivinílico como estabilizador del color; también facilita su aparición, al igual que la globulina gamma del suero. Sin embargo, si se añade a soluciones problemas que ya contienen proteínas, no aumenta el color. El color resultante se compara con una serie de soluciones patrón en el colorímetro.

El contenido de magnesio de los glóbulos rojos es mayor que el del suero, por lo tanto, es indispensable evitar la hemólisis al obtener sangre para este análisis.

Se preparará la siguiente serie de tubos:

	Problema ml.	Patrón 1. ml	Patron Blanco 2. ml.	ml.
Agua destilada	2.8	2.0	1.0	3.0
Solución patrón de magnesio	-	1.0	2.0	-
Sol. de alcohol polivinílico al 0.1 por 100 p/v	0.5	0.5	0.5	0.5
Sol. de amarillo titan al 0.1 por 100 p/v	0.5	0.5	0.5	0.5
Sol. de hidróxi do de sodio al 7.5 por 100 p/v	1.0	1.0	1.0	1.0

Se mezcla después de añadir cada reactivo. A los cinco minutos se leen las densidades ópticas del problema y de los pa-

trones contra el blanco a una longitud de onda de 540 milímetros.

C A L C U L O S.

Con el patrón 1.

$$\frac{\text{D.O. del problema}}{\text{D.O. del patrón}} \times 0.005 \times \frac{100 \text{ ml}}{2.0 \text{ ml}} = \text{mg por } 100 \text{ ml.}$$

$$\frac{\text{D.O. del problema}}{\text{D.O. del patrón}} \times 2.5 = \text{mg por } 100 \text{ ml.}$$

Con el patrón 2

$$\frac{\text{D.O. del problema}}{\text{mg por } 100 \text{ ml}} \times 0.01 \text{ mg} \times \frac{100 \text{ ml}}{0.2 \text{ ml}} =$$

$$\frac{\text{D.O. del problema}}{\text{D.O. del patrón}} \times 5.0 = \text{mg por } 100 \text{ ml.}$$

Cifras normales. De 1.9 a 3 mg. por 100 ml. (de 1.6 a 2.5 mg. por litro) (habitualmente de 1.9 a 2.5 mg. por 100 ml. o de 1.6 a 2.1 meq. por litro).

Reactivos.

Solución patrón concentrada de magnesio. Se disuelven - 8.358 g. de cloruro de magnesio puro ($\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) o 8.8178 g. - de acetato de magnesio ($\text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$) en agua destilada y se afora a un litro. Esta solución puede conservarse indefinidamente a temperatura ambiente en un frasco de polietileno.

Solución patrón diluida de magnesio. Se lleva 1.0 ml. de la solución patrón concentrada de magnesio a 200 ml. con agua destilada. [contiene 0.005 mg. de magnesio por ml]. Esta solución se conserva cerca de un mes si se guarda en frasco de polietileno.

Solución de alcohol polivinílico al 0.1 por 100 p/v. Se disuelve 1.0 g. de alcohol polivinílico en 950 ml. de agua destilada, calentando ligeramente. Se enfría y se lleva a un litro con agua destilada. Se guarda en frasco de polietileno.

Solución concentrada de amarillo titán al 0.01 por 100 p/v. se preparará en seguida antes del uso llevando 2.0 ml de la solución concentrada a 100 ml. con agua destilada.

Solución de hidróxido de sodio al 7.5 p/v. Se disuelven 15 g. de hidróxido de sodio puro en agua destilada y se afora a 200 ml. Se guarda en un frasco de polietileno hermético.

Medición del magnesio (método fluorométrico de Schachter).

Fundamento. La intensidad de la fluorescencia del complejo formado por el magnesio y la 8 hidroxiquinolina depende del pH; es mínima a pH bajo [3.5] y considerable a pH de 6.5, otros cationes, como el calcio y el cinc, forman también complejos fluorescentes con la 8-hidroxiquinolina, pero esta particularidad no varía con el pH. Es posible medir el magnesio a través del aumento de fluorescencia del complejo que forma con la 8-hidroxiquinolina, al pasar de pH 3.5 a pH 6.5.

M E T O D O.

1. Se prepara el reactivo uno en seguida antes del uso mez

clando dos volúmenes de amortiguador de pH 3.5, dos volúmenes de 8-hidroxiquinolina, 30 volúmenes de alcohol etílico y 5 volúmenes de agua libre de iones.

2. Se prepara el reactivo 2 en forma similar, pero se utilizan amortiguador de pH 6.5 en lugar de pH 3.5.

3. Se preparan cuatro tubos de centrifuga provistos de tapones de vidrio. Se rotulan "problema 3.5", "patrón 3.5", "problema 6.5" y "patrón 6.5".

4. En cada tubo "problema" se pipetea 0.1 ml. de suero, y en cada tubo patrón, 0.1 ml. de solución patrón de magnesio.

5. Se añaden 3.9 ml. de reactivo 1 al "problema 3.5" y al "patrón 3.5"; se agita bien durante dos minutos. En forma similar se añaden 3.9 ml. de reactivo 2 al "problema 6.5" y al "patrón 6.5" y se agita.

6. Se centrifuga a 2800 rpm. durante 20 minutos.

7. Se decantan los líquidos sobrenadantes transparentes en cubas de fluorómetro rotulados en forma correspondiente. Se establece el blanco del fluorómetro con la cubeta especial (modelo Turner 110) y se lee la fluorescencia de cada cuba en 10 x, utilizando el filtro número 110-813 (47 B) del lado derecho (longitud de onda de activación, 430 milimicras) y el filtro número 110-818 (2A-12) del lado izquierdo (longitud de onda de fluorescencia 535 milimicras).

Cálculo. Si Δ es el incremento de la fluorescencia de pH 3.5, a pH 3.5 a pH 6.5 tenemos:

$$\frac{\Delta \text{ Problema}}{\Delta \text{ Patrón}} \times 2.0 = \text{mg. por 100 ml. de suero.}$$

$$\frac{\Delta \text{ Problema}}{\Delta \text{ Patrón}} \times 1.65 = \text{miliequivalentes de Mg. por litro.}$$

Reactivos.

Agua. Es preferible el agua libre de iones (contrariamente a otras técnicas fluorométricas). Debe emplearse un agua cuidadosamente destilada, teniendo la precaución de someter a la misma prueba que el suero, cantidades de 0.1 ml. de agua y medir el aumento de fluorescencia que pueda presentarse. Cualquier aumento que se observe debe restarse de los aumentos del problema y del patrón.

Alcohol etílico. Alcohol etílico absoluto, químicamente puro.

Solución de 8-hidroxiquinolina. Se disuelven 5.0 g de 8-hidroxiquinolina químicamente pura en 100 ml. de alcohol etílico absoluto. La estabilidad de esta solución es variable, y lo mejor es guardarla en un frasco oscuro en el refrigerador, no más de 2 días.

Amortiguador de pH 3.5 (acetato 2.0 M.) Se mezclan 11.5 ml. de ácido acético glacial químicamente puro con 70 ml., de agua libre de iones. Se lleva el pH 3.5 añadiendo NaOH 2N. (suelen necesitarse unos 10 ml.) y se verifica con el potenciómetro. Si se ha "pasado" del pH correcto, se añade un poco de ácido acético y finalmente se afora a 100 ml., con agua libre-

de iones.

Amortiguador de pH 6.5 [acetato 2.0 M.]. Se disuelven -
27.2 g. de acetato de sodio cristalina químicamente puro -
[NaC₂H₃O 2.3 H₂O] en 70 ml. de agua libre de iones. Se lleva
el pH a 6.5 añadiendo gota a gota ácido acético glacial [suele
bastar 1.0 ml. o menos]. Puesto que el pH de este amortiguador
tiene una influencia notable sobre la fluorescencia máxima, de
be ser exacto con una aproximación de más o menos 0.1.

Solución patrón de magnesio (2 mg. por 100 ml.). Se di-
suelven 176.4 mg. de acetato de magnesio químicamente puro Mg
(C₂H₃O₂) (2.4H₂O), proveniente de un frasco nuevo, en agua des-
tilada libre de iones, en un matraz volumétrico de un litro, y
se afora. Se guarda en un frasco de polietileno limpio y seco.

NOTA: puesto que los pH de los amortiguadores en especial
el segundo, modifican profundamente la fluorescencia
obtenida, el incremento observado en la solución
patrón difiere ligeramente con distintos lotes de
amortiguadores.

RESULTADOS DE LAS CONCENTRACIONES DE MINERALES EN SUERO
DE BOVINOS.

Las cantidades de calcio, fósforo y magnesio están dadas
en Mgs/100 c.c. de sangre.

NO.	EDAD	CALCIO	FOSFORO	MAGNESIO
1	3 años	9.6	2.0	1.7
2	3 años	9.1	2.4	2.4
3	3 años	9.8	2.6	1.9
4	3 años	9.0	2.4	1.6
5	2 años	9.7	2.6	2.3
6	2 años	8.8	1.8	2.7
7	2 años	9.0	2.5	1.8
8	2 años	9.4	2.4	2.1
9	2 años	9.0	2.4	1.6
10.	3 años	9.0	2.4	1.7
11.	3 años	8.9	2.2	2.2
12.	3 años	9.0	2.2	2.7
13.	4 años	9.2	2.6	1.8
14.	2 años	8.95	2.2	1.6
15.	2 años	9.6	2.6	2.3
16.	2 años	9.7	2.6	2.1
17.	2 años	8.8	2.5	1.7
18.	2 años	9.6	2.6	2.2
19.	4 años	8.6	2.0	2.7
20.	2 años	9.7	2.6	1.8
21.	4 años	9.3	3.1	2.4
22.	4 años	9.1	2.4	2.5

NO.	EDAD	CALCIO	FOSFORO	MAGNESIO
23	2 años	9.1	2.4	2.4
24	4 años	8.75	2.0	1.9
25	4 años	9.3	3.2	1.6
26	2 años	9.1	2.4	1.7
27	4 años	9.0	2.0	2.1
28	2 años	9.75	2.6	2.2
29	3 años	9.0	2.4	2.1
30	2 años	9.0	2.2	2.1
31	3 años	9.0	2.2	1.9
32	2 años	9.75	2.6	1.7
33	2 años	8.8	2.0	1.9
34	2 años	9.8	2.6	2.5
35	2 años	9.1	2.4	1.8
36	2 años	9.0	2.4	1.7
37	2 años	9.15	2.4	2.1
38	2 años	9.6	2.65	1.6
39	2 años	9.5	2.65	2.5
40	2 años	9.5	2.4	1.5
41	2 años	8.0	1.4	1.6
42	2 años	9.0	2.2	2.4
43	2 años	8.75	1.8	2.6
44	2 años	9.15	2.4	2.1
45	4 años	8.5	2.0	1.7
46	2 años	9.6	2.4	2.2
47	2 años	8.0	1.4	1.6
48	3 años	9.3	2.6	2.5

NO.	EDAD	CALCIO	FOSFORO	MAGNESIO
49	2 años	9.5	2.4	1.9
50	4 años	9.1	2.2	1.7

D I S C U S I O N.

Se escogieron 50 bovinos al azar, entre 2 y 4 años de edad. Sin tomar en cuenta el estado de gestación.

Según Church y colaboradores, los valores séricos normales son:

Calcio de 9 a 12 mgs. por 100 cc. de suero.

Fósforo inorgánico de 4 a 9 mgs. por 100 cc. de suero.

Magnesio de 1.8 a 3 mgs. por 100 cc. de suero.

De los bovinos escogidos se obtuvo suero sanguíneo, del cual:

El 22% estuvieron inferiores a los niveles normales de calcio.

El 32% estuvieron más bajo de los niveles normales de magnesio.

El 100% estuvieron abajo de los niveles normales de fósforo.

Encontramos que un 10% de los sueros de los bovinos estuvieron por debajo de los niveles normales de calcio y fósforo.

Encontramos que hay un 10% de los sueros de los bovinos muestreados que estuvieron inferiores de lo normal en las concentraciones de calcio, fósforo y magnesio.

Tenemos un 24% de los sueros con niveles abajo de lo normal de fósforo y magnesio.

Bodstet y colaboradores en una investigación de sueros sanguíneos en ganado con parésia en el primer período puerpue-

ral. I. Estudio sobre el contenido de calcio, fósforo inorgánico en el suero de ganado con paresía.

Los estudios se realizaron sobre 111 vacas que quedaron tiradas en la primera etapa del periodo puerperal, y sobre 41 vacas con ningún síntoma de paresía como testigos.

De las 111 afectadas se observaron que antes de dar el primer tratamiento, las 83 vacas se pueden clasificar en 4 tipos: por el contenido mineral de muestras sanguíneas pretratamiento; 50 vacas con calcio y fósforo muy reducidos; 9 con calcio un poco bajo y fósforo normal; 9 con calcio muy reducido y fósforo normal y 15 con calcio un poco bajo y fósforo muy bajo. Ocurrieron reincidencias principalmente en casos del tipo 1 (52%) y casos del tipo 4 (40%). La inyección de calcio-hipofosfato fue una manera de aumentar y mantener el fósforo, orgánico en la sangre.

Luthman J. Persoon y colaboradores, realizaron un trabajo hipomagnesemia en hatos de bovinos; en casos de tetania en invierno con algunas muertes ocurriendo durante varios años, en un hato de 50 vacas hereford. Aún suplementando la dieta con óxido de magnesio, el valor máximo renal que obtuvieron fue de 1.7 a 1.8 mgs. por 100 c.c. de sangre. La tetania hipomagnésica también ocurrió en becerros no destetados en 2 hatos; algunos murieron y los síntomas incluyeron espasmos musculares o incapacidad de levantarse. En uno de estos hatos se encontraron valores séricos de magnesio tan bajos como de 0.6 miligramos por 100 c.c. de sangre.

Molina y colaboradores realizaron un trabajo sobre vitamina A y deficiencia de fósforo como causas posibles de anestro de ganado en Guatemala. La vitamina A, fósforo y valores en muestras de suero sanguíneo de vaquillas y vacas, fueron -- comparados con los de vacas teniendo buenos records de buenas crías. Los resultados fueron: para 59 muestras de la zona de mucha altitud variaban de 3 a 12.6 mm% (promedio 5.85) en ganado en anestro; mientras que los controles promediaban 17.3; de las tierras bajas variaban de 1.68 a 5.52 mm%; (promedio - 3.82); los controles promediaban 21.8; muestras de las zonas intermedias variaban de 1.26 a 6.36 (3.63 promedio), mientras que los controles promediaban 21.65. Diferencias en valores de fósforo entre ganado de control y ganado en anestro no fueron significantes. Las variaciones se podrían explicar por deficiencia del suelo o por la alimentación con la harina del hueso.

La proteína total fue más baja en anestro que en ganado de control. Un factor nutricional es probablemente la causa.

Hofmann y colaboradores realizaron una investigación de paresia persistente en vacas, factores clínicos y químicos sanguíneos. Se examinaron del suero sanguíneo; sodio, potasio, calcio y fósforo inorgánico y se reveló una disminución significativa de fósforo inorgánico, raramente de calcio. Los otros electrolitos no se alteraron significativamente. En el área de estudio, la forma atípica de fiebre de leche, caracterizada por la incapacidad para levantarse (hipofosforemia) parece

predominar.

A.C. Field, realizó estudios sobre magnesio en nutrición de rumiantes, la determinación indirecta de la ingestión de magnesio, calcio y potasio por la vaca en pastoreo. Una técnica para estimar la salida de calcio, magnesio y potasio en heces y orina, fue basada en el uso de creatinina endógena y cromo sesquióxido exógeno, como marcadores. El error en excreción en orina que resultó de tomar muestras, sólo durante la ordeña varió desde 0.1 a 1.0 de la ingestión de calcio, magnesio y potasio estimado de muestras excretadas a las horas de ordeñas subestima la medida por 13 a 18%, pero esto se podría reducir aumentando el período de recolección. Ninguna de las proporciones de calcio, magnesio y potasio, a creatinina en orina o a cromo sesquióxido en heces, demostró ciclos diurnos bien definidos. Se concluyó que el error debido al muestreo de excremento a las horas de ordeña era pequeño y el error en la ingestión alimenticia introducido por ignorar que el balance era de importancia sólo para calcio.

Todd y colaboradores realizaron un estudio sobre la influencia del tipo del suelo sobre la efectividad de abonos únicos de magnesio en levantar el contenido de magnesio en pastoreo y en controlar hipomagnesemia.

Se aplicó magnesio calcinado temprano en 1961 al nivel de 5 cm. por hectárea a 3 grnajas donde el ganado había muerto de tetaría de zacate. Determinación del contenido del magnesio del herbaje y del suero sanguíneo de las vacas en pastoreo indica-

ban una respuesta satisfactoria durante 3 años y una respuesta marginal en el 4o. año en un suelo arcilloso ligero (pH 5.5); y prevención de hipomagnesemia durante un año en un suelo arcilloso mediano arc y se volvió a sembrar en el 4o. año y ocurrió un aumento marcado en el contenido de magnesio en la pastura, - aunque no se volvió a aplicar magnesio.

C O N C L U S I O N E S .

1. El 22% de los sueros presentan niveles menores de las constantes normales de calcio.

2. El 32% de los sueros, presentaron niveles inferiores a los normales de magnesio.

3. El 100% de los sueros presentaron niveles menores de lo normal de fósforo.

4. Encontramos que un 10% de los sueros de los bovinos estuvieron por debajo de los niveles normales de calcio y fósforo.

5. Encontramos que hay un 10% de los sueros de los bovinos muestreados que están inferiores de lo normal en las concentraciones de calcio, fósforo y magnesio.

6. Tenemos un 24% de los sueros con niveles abajo de los normales de fósforo y magnesio.

7. Del 22% en que estuvieron los niveles inferiores a los normales de calcio se encontraron que:

7 bovinos tenían dos años de edad.

1 bovino tenía 3 años.

3 bovinos tenían 4 años.

Es notorio que los bovinos que presentaron los niveles bajos de calcio predominaron en primer término los que tenían 2 años seguidos por los 4 años y por último los de 3 años.

8. Del 32% de los bovinos que aparecieron con lími -

tes inferiores a lo normal en sus concentraciones de magnesio nos encontramos que:

10 bovinos tenían 2 años.

3 bovinos de 3 años.

3 bovinos de 4 años.

Es notorio que los bovinos que presentaron los niveles bajos de magnesio predominaron en primer plano los que tenían 2 años, seguidos por los de 3 y 4 años de edad.

9. Del 100% de los bovinos que aparecieron con niveles menores de lo normal de fósforo se encontró que:

30 bovinos tenían 2 años.

10 bovinos tenían 3 años.

10 bovinos tenían 4 años.

Es notorio que los bovinos que presentaron niveles bajos de fósforo predominaron los que tenían 2 años seguidos en igual porcentaje por lo de 3 y 4 años.

S U M A R I O.

Para llevar a cabo la realización de este trabajo, se procedió a formar un lote de 50 vacas cuyas edades fluctuaban entre los 2 y 4 años sin tomar en consideración su estado de gestación.

Se procedió al sangrado de dichos animales mediante punción en la vena yugular y recolectando la sangre en tubos de ensayo de 10 c.c.; los cuales se trasladaron inmediatamente al Laboratorio de Diagnóstico de Patología Animal dependiente de la Secretaría de Agricultura y Ganadería de la ciudad de Gómez Palacio, Durango, para sus respectivos análisis.

Para determinar los valores séricos de calcio, se usó el método de Cal-Pak titrimétrico.

Para la determinación de los valores séricos del suero en lo respectivo a fósforo inorgánico, se utilizó la técnica de la preparación de la curva standard en blanco.

Para la determinación de los valores séricos del magnesio en el suero de las muestras se utilizó el método de Lake.

Los resultados que se obtuvieron fueron que las concentraciones de calcio en suero fluctuaban de 8.0 a 9.75 mgs. por 100 c.c. de suero. Las concentraciones de fósforo variaron de 1.4 a 3.1 mgs. por cada 100 c.c. de suero. Los resultados de magnesio fluctuaban de 1.5 a 2.7 mgs. por cada 100 c.c. de suero.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Commonwealth Bureau of Animal Health,
THE VETERINARY BULLETIN,
Farnham Royal, England: Commonwealth Agricultural
Bureaux, 1965 y 1974, Volumes 35 y 44.
2. Church, D.D. y colaboradores,
DIGESTIVE PHYSIOLOGY AND NUTRITION OF THE RUMINANT,
Volume II.
1972 Edition.
3. Gibbons, Catcott, Smith y Colaboradores,
BOVINE MEDICINE AND SURGERY.
4. Linch, Dr. M.J., Stanleis, Dr. S. R., y Spare, Dr.
P.S.,
METODOS DE LABORATORIO.
5. National Academy of Sciences,
NUTRIENT REQUIREMENTS OF DAIRY CATTLE,
4th Revised Edition, 1971.