



**Universidad Nacional de Lomas de Zamora**  
INVESTIGACIONES

**FORTALECIMIENTO PARA LA EJECUCIÓN DE PROYECTOS  
DE INVESTIGACIÓN**

**INFORME FINAL**

**Denominación del proyecto:**

*PA-1 Memorandum 1542/8 FEPI 2  
Estudio de la función inmune de los neutrófilos de potrillos y caballos  
adultos con infecciones respiratorias, ambos como modelo de  
inmunodeficiencias  
Efectos de una dieta basada en levadura sobre la función inmune de  
equinos adultos en entrenamiento*

**Director del Proyecto:**

*Profesor Diez Roberto Alejandro*

**Equipo de investigación:**

*Doctor Roberto A. Diez, Profesor Titular, Fac. Medicina, UBA – Ing. Zoot.  
Paz Sergio, Docente FCA, UNLZ – Ing. Zoot. Pellegrini Ariel, Auxiliar  
Docente, FCA, UNLZ – Asesor en Técnicas a desarrollar: Bioquímica  
María Cecilia Fornari – Asistencia Médica Veterinaria: Med. Vet. Santiago  
Tapia, Cabaña La República, ACCC.*

**Facultad:**

*Ciencias Agrarias*



# CAPITULO I

## Resumen

---

En el presente trabajo se evaluó el estallido respiratorio de neutrófilos sanguíneos de equinos adultos, mediante la técnica de citometría de flujo, con los objetivos de: 1- Observar su comportamiento en caballos con moco como modelo de patología respiratoria, y 2- Estudiar la los efectos de la suplementación dietaria con Levadura de Cerveza sobre la funcionalidad fagocítica de caballos en entrenamiento.

Para el objetivo 1, se compararon cinco caballos con moco con caballos sanos tomados como control. En el objetivo 2 se determinaron dos tratamientos y un tercer grupo control (CAMPO) que no recibió suplementación alimenticia y tampoco entrenaba. El grupo 1 (LEVADURA) recibió una ración de 3 kg de grano de avena y 4,5 kg de fardo de alfalfa más 350 gr de levadura; al grupo 2 (CONVENCIONAL) se le suministró sólo la ración tradicional compuesta por 3 kg de avena y 4,5 kg de fardo de alfalfa. Se realizaron tres muestras; al inicio del ensayo (BASAL), a los sesenta días (D60) y a los 120 días (D120). Hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los valores medios del estallido respiratorio de equinos con moco ( $105 \pm 35$ ) y de equinos sanos tomados como control ( $518 \pm 112$ ).

En el experimento 2 hubo diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre la muestra basal ( $483 \pm 37$ ) y D120 ( $548 \pm 28$ ) del estallido respiratorio del grupo 1 (LEVADURA). También encontramos diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) al día ciento veinte de comenzado el ensayo (D120) entre el grupo LEVADURA ( $548 \pm 28$ ) y los grupos CONVENCIONAL ( $411 \pm 3.5$ ) y CAMPO ( $402 \pm 0$ ).

Los animales con patologías respiratorias infecciosas tuvieron menor estallido respiratorio que los del grupo sano considerado como control, aunque se desconoce si este hallazgo es causa o consecuencia de la presente patología. El suplemento con levadura de cerveza induce una diferencia significativa en la capacidad oxidativa de los neutrófilos con respecto a la dieta convencional o a la alimentación espontánea en campo.



## CAPITULO II

### Introducción

Las patologías infecciosas representan, sin lugar a dudas, algunos de los factores relevantes que inciden en la producción y el rendimiento de los equinos deportivos. Como en cualquier huésped, estas patologías resultan del balance entre su capacidad de resistencia y la virulencia de los distintos agentes etiológicos. Para algunos de ellos se dispone de vacunas específicas, pero en la mayoría de los casos no es así.

Pese a la importancia económica de la producción equina en la Argentina, y en especial en la Provincia de Buenos Aires, el conocimiento del sistema inmune de estos animales es muy fragmentario. Se acepta que la inmunodeficiencia es uno de los factores predisponentes más importantes para que los equinos desarrollen infecciones como septicemia o inmunodeficiencia franca (en el caso de los potrillos que no reciben calostro en las primeras horas de vida o lo ingieren en forma deficiente) o infecciones respiratorias (con su secuela de bajo rendimiento y eventualmente mortalidad) en los adultos.

Del mismo modo, el ejercicio ha sido reconocido como un factor predisponente que como tal puede alterar significativamente la respuesta inmune (Hines *et al.*, 1996). El esfuerzo fisiológico propio de la actividad afecta la funcionalidad de los mecanismos de defensa, aumentando la susceptibilidad a enfermedades, tanto durante el entrenamiento como antes y después de la competencia. En humanos, se ha descrito mayor incidencia de infecciones del tracto respiratorio tras la participación en eventos que constituyen ejercicios exhaustivos (Peters, 1997; Nieman, 1998).

Hasta el presente no se han desarrollado en nuestro medio estudios de la funcionalidad de los fagocitos en condiciones de normalidad o sometidos a factores tales como el entrenamiento intenso en el equino deportivo; el único antecedente es una evaluación preliminar realizada por nuestro grupo y presentada en la reunión anual de la Sociedad Argentina de Inmunología (Paz *et al.*, 1995). Paralelamente a nuestros estudios (iniciados con un proyecto diseñado en 1997), un grupo europeo (Raidal *et al.*, 1998) publicó la primera evaluación de estallido respiratorio de neutrófilos sanguíneos y macrófagos alveolares en equinos, con una metodología parecida. El ensayo consiste en la oxidación intracelular (por acción de los metabolitos del oxígeno) de un sustrato no fluorescente, capaz de difundir por la membrana intacta de la célula, que, en el espacio intracelular se transforma en una sustancia con fluorescencia muy intensa (fluorocromo), cuantificable en un citómetro de flujo.

Recientemente, se han realizado intentos en humanos para disminuir los efectos del entrenamiento intenso del ejercicio sobre la base de la nutrición (Nieman, 1998; Ozkan *et al.*, 1993). En ellos se propone que una alimentación balanceada es un requisito fundamental para evitar patologías relacionadas con el sistema inmune, donde



el aporte proteico de la dieta es considerado como vital en la relación nutrición-inmunología. Los efectos de una alimentación de baja calidad (carencia de aminoácidos esenciales) podrían reflejarse alterando la resistencia a las enfermedades infecciosas. La levadura de cerveza deshidratada presenta *a priori* una serie de cualidades en cuanto a la digestibilidad (NRC, 1989) y tenor de aminoácidos esenciales, que hace presuponer que podría resultar como un importante aporte de proteínas de calidad.

Tomando como punto de partida nuestro trabajo y el de otros autores (Johannisson, 1995), nos propusimos el estudio exhaustivo de la función de los fagocitos equinos en caballos adultos, como forma de evaluar su participación en la fisiopatología de las infecciones que afectan a los caballos y, eventualmente, proponer alternativas de corrección cuando éstas estén disponibles y su costo se justifique con relación al valor económico de los animales.

Sobre la base de esto, los objetivos de nuestra investigación fueron:

1. Medir y comparar el estallido respiratorio de neutrófilos sanguíneos de equinos (adultos y potrillos) con moco, como indicador de infección respiratoria, y de equinos (adultos y potrillos) sanos, tomados como control.
2. Evaluar posibles modificaciones en la actividad fagocítica de neutrófilos sanguíneos de equinos en entrenamiento, utilizando una dieta suplementada con Levadura de Cerveza Deshidratada como aditivo proteico de alto valor biológico, respecto de la dieta tradicional (grano de avena y fardo).

## **GRADO DE CUMPLIMIENTO**

Globalmente, el estudio se cumplió en su mayoría, alcanzándose los resultados previstos en lo referido a estallido respiratorio de equinos adultos y, parcialmente, en el referido a potrillos (ya que durante el período apoyado por el FEPI no pudieron ser reclutados, aunque existe información al respecto, obtenida por nuestro grupo en un estudio previo, financiado en forma incompleta por la CIC). La valoración de la dieta se pudo cumplir, aunque con adaptaciones en cuanto al lugar de reclutamiento. En el curso del estudio se presentaron las siguientes dificultades:

- a- Las raciones suministradas se adaptaron a las nuevas condiciones del lugar de reclutamiento de los animales (cambiaron los haras inicialmente previstos). Es de destacar que los caballos reclutados son proporcionados en forma voluntaria por sus dueños, ya que no existió una partida específica para comprarlos, y, por lo tanto, las decisiones acerca de incorporación de animales o facilitación de instalaciones en muchos casos se deciden en función de criterios adicionales y no exclusivamente científicos. De hecho, deseamos expresar nuestra gratitud a la Cabaña de caballos criollos “La República” (Luján, Provincia de Buenos Aires) que nos permitieron trabajar con sus animales, sin percibir por ello un beneficio económico.
- b- No se determinó la expresión de antígenos de membrana, dado que el aporte económico privado, previsto para la compra de los anticuerpos monoclonales, finalmente no se concretó, aparentemente por el difícil contexto productivo.



- c- Los ensayos de quimiotaxis no se pudieron valorar, debido a la agregación de las células. Aunque el motivo de este problema técnico no es claro, probablemente se deba, al menos parcialmente, al estado de activación de las mismas durante la separación.
- d- Los potrillos reclutados en la cabaña finalmente participante presentaron un escaso grado de mansedumbre en la manga de trabajo, lo cual dificultó la toma de muestra. Es de recordar que inicialmente se planteó estudiar animales de sangre pura de carrera (acostumbrados al contacto continuo con humanos desde el nacimiento), pero finalmente se estudiaron animales de raza criolla (criados a campo, con escaso contacto con humanos hasta los 2 ó 3 años de vida). Como resultado de esta tarea, las muestras obtenidas presentaron hemólisis total o parcial. Ante el peligro de lesiones en los animales, se decidió postergar esta parte del estudio hasta contar con condiciones apropiadas de trabajo en instalaciones *ad hoc*, por ejemplo en la propia Facultad.

## **HIPÓTESIS**

1. En el curso de infecciones respiratorias agudas en equinos existe una deficiente actividad efectora de los neutrófilos sanguíneos, medible como incompetencia para efectuar el estallido respiratorio y la consecuente generación de radicales derivados del oxígeno, y por ende, una menor oxidación de dihidrorodamina en citometría de flujo.
2. La administración de raciones suplementadas con Levadura de Cerveza Deshidratada, a equinos deportivos en entrenamiento para eventos de resistencia, aumentará la respuesta efectora de sus neutrófilos, medida como estallido respiratorio, con respecto a la de los equinos que sólo reciben dieta convencional (avena y fardo).

## **LIMITACIONES Y ALCANCES DEL PROYECTO**

El desarrollo de infecciones es una importante causa de morbimortalidad entre los equinos en establecimientos dedicados a su crianza y explotación económica. En general, poco se conoce de los mecanismos que determinan la mayor o menor susceptibilidad de los mismos a los diversos agentes infecciosos y de las formas de mejorar su resistencia. Por extrapolación de lo (poco) que se conoce al respecto en humanos, en este proyecto se valoró una función crítica en la capacidad de defensa del organismo (la actividad oxidativa de los neutrófilos) y su relación con la dieta. Este proyecto y sus eventuales continuaciones apuntan a optimizar la producción de un recurso agrario de importancia actual y futura.



## CAPITULO III

# Materiales y Métodos

### **UNIDADES DE ANÁLISIS**

#### **OBJETIVO 1**

Fueron utilizados cinco (5) caballos adultos, entre siete y doce años, tres castrados y dos hembras, todos con moco (MOCO) como modelo de infección respiratoria.

Los caballos clínicamente sanos tomados como control (CONTROL) fueron los mismos que para el inicio del obj. 2 (BASAL).

#### **OBJETIVO 2**

Para este estudio se utilizaron diecisiete (17) yeguas adultas, un macho y un caballo castrado (entre 6 y 11 años) de raza criolla, pertenecientes a la Cabaña de caballos criollos “La República”. Todos los animales estaban clínicamente sanos al inicio del estudio.

### **SELECCIÓN DE LA MUESTRA**

Se obtuvo sangre venosa de yugular externa por punción, tanto al inicio del estudio (Basal) luego de sesenta días (D60) y una última muestra al día ciento veinte (D120) de comenzado los tratamientos. Unos 5 ml se colocaron en un tubo con heparina como anticoagulante, y en un segundo tubo se colocaron 10 ml de sangre entera para obtención de suero. Las muestras fueron inmediatamente transportadas a los distintos laboratorios, con refrigerantes, llegando antes de las 3 horas post-extracción.

El ensayo del estallido respiratorio se realizó en el Laboratorio de Inmunofarmacología de la Facultad de Medicina de la UBA. Una parte de las muestras fue remitida al laboratorio de análisis clínicos para su respectivo estudio.

### **PARÁMETROS FÍSICOS**

Peso al inicio y curva ponderal a lo largo del período de estudio. Los animales fueron pesados en una balanza mecánica provista en las instalaciones de la Cabaña La República.



## **OBSERVACIÓN CLÍNICA**

### **DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS**

Se determinaron en un autoanalizador (Hitachi 705, Boehringer-Roche) y contador hematológico (Coulter T540) las siguientes determinaciones, utilizando estándares internos comerciales:

Hemograma completo, incluyendo recuento de leucocitos y fórmula mediante analizador automático.

Proteínas totales, Urea, Creatinina, Colesterol, Transaminasas (TGP y TGO), Gamma-glutamil transpeptidasa (GGT), Fosfatasa alcalina, Bilirrubina (total y directa), Calcio, Fósforo.

### **CITÓMETRO DE FLUJO**

La medición se realizó en un citómetro FACS<sup>NR</sup> (Becton Dickinson, San Jose, California, EEUU) adecuando las condiciones de adquisición a la población a estudiar.

El citómetro de flujo es un instrumento capaz de analizar las células una por una, a medida que pasan en una corriente fluida a través de un rayo láser. De estas células se pueden determinar cinco parámetros. La detección de dos de ellos se basa en el cambio de las características del láser después de interactuar con las células. Las tres restantes son consecuencia de la estimulación que el láser es capaz de producir (en función de su energía) sobre fluorocromos con diferente espectro de emisión. El tamaño celular permite diferenciar e identificar subpoblaciones celulares a través de la dispersión de la luz hacia adelante (*Forward light scatter, FSC*). La complejidad del interior celular (es decir presencia de núcleo, gránulos, etc.) se evalúa mediante la dispersión lateral de la luz (*Side light scatter, SSC*), que también permite diferenciar morfológicamente subtipos celulares. La activación de hasta tres tipos de longitud de onda, correspondientes a fluorocromos diferentes, permite evaluar antígenos (de membrana o intracelulares) u otras moléculas, mediante la combinación de los mismos. Las bandas de detección se denominan como fluorescencia y un número. Por ejemplo, fluorescencia 1 registra fluorescencia verde como la fluoresceína (FITC), la fluorescencia 2 registra rojo como la ficoeritrina (PE), y fluorescencia 3 que registra naranja como la proteína clorofila peridina (PerCP). Además permite realizar histogramas de distribución de cualquiera de los parámetros registrados, con análisis de su magnitud, modo (valor de la variable expresado por el mayor número de células, eventualmente permitiendo detección de bi o plurimodalidad), informando área bajo la curva y ancho de cada parámetro. Los registros se transmiten a una computadora acoplada y se analizan mediante programas especiales. En todos los casos, nuestros resultados se analizaron con el programa *Cell Quest<sup>TM</sup>* empleando las funciones de graficación de puntos (*dot plot*) con cuadrantes para valorar expresión cualitativa o asociación, e histograma para las mediciones de intensidad de emisión y características de distribución. Esta metodología se empleó para el análisis de estudios funcionales (estallido respiratorio) de los neutrófilos de equinos.



## **DETECCIÓN DE ESTALLIDO RESPIRATORIO POR CITOMETRÍA DE FLUJO**

La detección del estallido respiratorio se realizó por citometría de flujo aprovechando la oxidación de un fluorocromo (dihidrorodamina 123, DHR-123) por los radicales generados durante el estallido respiratorio.

Se empleó un equipo (*kit*) comercial Burstest<sup>R</sup>, (ORPEGEN Pharma, Heidelberg, Alemania), utilizando como estimulante PMA (forbol 12-miristato 13-acetato) y la DHR-123 como sustrato fluorogénico.

Se mezcla la sangre entera heparinizada en un tubo de 5ml con vortex y se distribuye en alicuotas de 80  $\mu$ l para cada test. Se añade 20  $\mu$ l del estimulante PMA (1) y como control negativo (2) se empleó una muestra sin estimulante para determinar el ruido de fondo del sistema. Se incubó a 37 °C y en oscuridad, durante 10 minutos.. Luego añadimos en (1) y en (2) 20  $\mu$ l de DHR-123, mezclamos con vortex e incubamos a 37 °C y en oscuridad. Tras la estimulación, los granulocitos y monocitos producen metabolitos derivados de la reducción del oxígeno (anión superóxido, peróxido de hidrógeno) y especies relacionadas como el ácido hipocloroso. La formación de estos productos oxidantes puede ser evaluada mediante la adición y consecuente oxidación de la DHR 123 a rodamina 123. Tras 10 minutos, la reacción se detuvo mediante el agregado de 500  $\mu$ l de solución de lisis (OPTLYSE) se mezcla en vortex y se coloca 15 minutos a temperatura ambiente en oscuridad para eliminar los eritrocitos y a la vez fijar los leucocitos. Centrifugamos 5 minutos y eliminamos el sobrenadante. Inmediatamente añadimos 500  $\mu$ l de solución de lavado (ISOFLOW) y tras incubación de 10 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad, centrifugamos 5 minutos y descartamos sobrenadante.

Se realizó la adquisición de las muestras en el citómetro de flujo, utilizando los parámetros apropiados de tamaño, complejidad interna e intensidad de fluorescencia (FL1) para evaluar el producto de oxidación de la DHR-123. Durante la adquisición de datos se establece una **región** de células viables en el histograma de fluorescencia roja, delimitando de este modo las células que poseen por lo menos el mismo contenido de ADN que una célula diploide ( de este modo se eliminan los agregados). El análisis con el *software* apropiado permitió determinar el porcentaje de células que habían producido radicales libres del oxígeno, como así también, comparar el corrimiento de los picos de fluorescencia utilizando el valor de la media obtenida por lectura de 10.000 eventos totales, siendo cada evento una célula. (Rothe *et al.*, 1988, Richardson *et al.*, 1998).

## **DISEÑO METODOLÓGICO**

Se asignaron dos tratamientos y se consideró un tercer grupo (CAMPO) con animales que permanecieron durante todo el período de estudio en el campo sin alimentación diferencial. Uno de los grupos (CONVENCIONAL) fue alimentado con 3 kg de grano de avena y una penca y media de fardo de alfalfa (aprox. 4.5 kg) permaneciendo en potreros de pastizal natural durante la noche. Esta ración se ajustaba con las necesidades sugeridas por la NRC (1989) para caballos de peso promedio de 450 kg entre mantenimiento y entrenamiento. El segundo grupo (LEVADURA) recibió la



misma ración que el grupo convencional más 350 grs. de Levadura de Cerveza Deshidratada (producto facilitado por la compañía COMPAL S.A.). Las raciones fueron suministradas en dos veces al día. Todos los animales disponían en todo momento de agua a voluntad.

El período de estudio duró 120 días y se extrajeron muestras de todos los animales de cada uno de los grupos, al inicio (BASAL), a los sesenta días (D60) y a los ciento veinte días (D120).

### ***DISEÑO DE INSTRUMENTO Y/O ESTRATEGIAS DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN***

Los grupos armados al azar no pudieron ser homogéneos en cuanto al número de animales (mismo número por grupo) debido a que los animales se encontraban en distintos lugares dentro del campo y estaba a cargo de distintos operarios. En base a esto y al número de caballos que disponía cada uno del personal a cargo se determinaron los tratamientos.

### ***MÉTODOS DE ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN OBTENIDA***

Se utilizaron los programas Stat-Primer y Excel (del paquete Office '97) para el procesamiento matemático y estadístico básico de los datos (media, correlación, etc.). Los resultados fueron analizados estadísticamente por ANOVA de Muestras Apareadas o ANOVA de Grupos Independientes (de una clasificación), según correspondió, seguido de prueba de t con criterios de Bonferroni para comparaciones múltiples.

### ***PROBLEMAS PRESENTADOS EN LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO Y DISCUSIÓN DE LAS MODIFICACIONES INTRODUCIDAS***

Dado que los animales en estudio recibieron los alimentos por personal de campo con escaso entrenamiento como para cumpliren forma confiable las tareas asignadas, se decidió la continuación del trabajo con un número menor de caballos, encomendados a operarios de mayor capacitación técnica. Por lo tanto el número primario de 19 (diecinueve) individuos se redujo a 12 (diez).

## CAPITULO IV

# Resultados

### EXPERIMENTO Nº 1

La Figura 1 muestra el estallido respiratorio de neutrófilos en equinos adultos con (grupo 1) y sin (grupo 2) infección respiratoria. Existieron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el estallido respiratorio (Figura 1) y de los restantes parámetros estudiados (ver datos complementarios en ANEXOS).

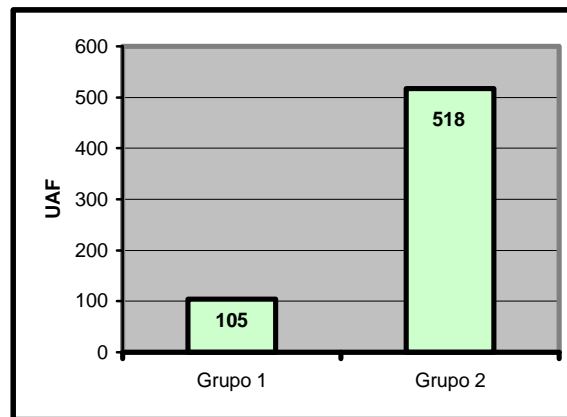


Figura 1: Valores medios del estallido respiratorio de equinos con moco (Grupo 1 = 105 +/- 35) y de equinos sanos tomados como control (Grupo 2 = 518 +/- 112). Hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los grupos.

### EXPERIMENTO Nº 2

En las siguientes tablas se muestran los resultados del estallido respiratorio medido en UAF (unidades arbitrarias de fluorescencia). En la tabla Nº 1 se exponen los valores que se analizaron por el método estadístico ANOVA DE GRUPOS INDEPENDIENTES mientras que en la tabla Nº 2 los valores de los grupos analizados por ANOVA APAREADO.

TABLA N° 1

| GRUPO MUESTRA | LEVADURA |       |      | CONVENCIONAL |       |      | CAMPO |       |      |
|---------------|----------|-------|------|--------------|-------|------|-------|-------|------|
|               | N        | Media | EE   | N            | Media | EE   | N     | Media | EE   |
| <b>BASAL</b>  | 10       | 532.0 | 27.0 | 5            | 437.8 | 57.0 | 4     | 581.2 | 63.8 |
| <b>D60</b>    | 10       | 545.4 | 21.5 | 5            | 476.4 | 17.2 | 4     | 555.2 | 43.4 |
| <b>D120</b>   | 5        | 547.8 | 28.2 | 5            | 411.2 | 3.5  | 2     | 402.0 | 0.0  |

Encontramos diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) al día ciento veinte de comenzado el ensayo (D120) entre el grupo 1 (LEVADURA) y los grupos 2 y 3 (CONVENCIONAL y CAMPO respectivamente). Los grupos 2 y 3 mostraron valores similares en la tercera extracción y por lo tanto no hubo diferencias significativas.

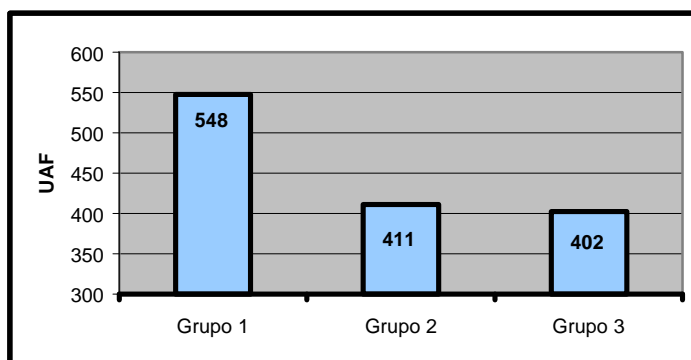


Figura 2: Estallido respiratorio a los ciento veinte días de comenzado los tratamientos (D120) de los tres grupos. Grupo 1 = 548 $\pm$ 28; Grupo 2 = 411 $\pm$ 3.5 y Grupo 3 = 402 $\pm$ 0

TABLA N° 2.

| GRUPO MUESTRA | LEVADURA |       |      | CONVENCIONAL |       |      | CAMPO |       |       |
|---------------|----------|-------|------|--------------|-------|------|-------|-------|-------|
|               | N        | Media | EE   | N            | Media | EE   | N     | Media | EE    |
| <b>BASAL</b>  | 5        | 482.8 | 36.7 | 3            | 385.0 | 85.6 | 2     | 615.0 | 127.0 |
| <b>D60</b>    | 5        | 509.4 | 28.7 | 3            | 487.0 | 17.3 | 2     | 565.0 | 89.0  |
| <b>D120</b>   | 5        | 547.8 | 28.2 | 3            | 406.3 | 2.9  | 2     | 402.0 | 50.0  |

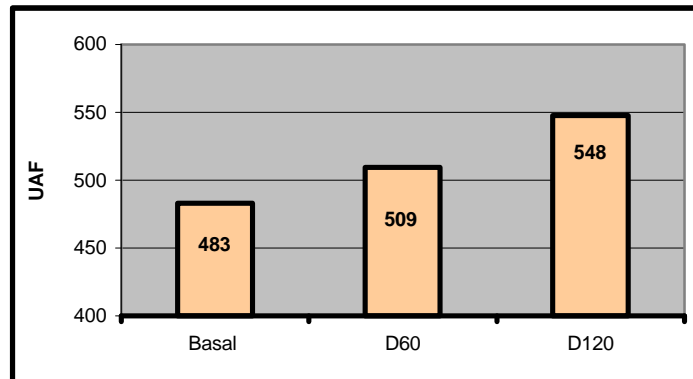


Figura 3: Estallido respiratorio del grupo 1 (LEVADURA). Diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre la muestra basal ( $483 \pm 37$ ) y D120 ( $548 \pm 28$ )

**Aclaración:** Todos los resultados obtenidos durante la realización del proyecto, tanto los análisis de los laboratorios como los análisis estadísticos, se exponen de manera completa como información complementaria en los Anexos correspondientes.



## CAPITULO V

# Discusión

---

Entre todas las enfermedades infecciosas que afectan a los equinos, las del tipo respiratorias, son evidentemente, la mayor amenaza (Mayr, 1987). Numerosos patógenos, incluidos virus, bacterias, parásitos y hongos, invaden el tracto respiratorio causando signos similares de enfermedad. Investigaciones establecen que influenza y herpes-virus son los responsables más frecuentes (Powell, 1975). En un relevamiento del trabajo realizado por Morley (2000) se determinó que en el 83% de los equinos con infecciones del tracto respiratorio superior hubo presencia de descarga nasal mucopurulenta.

La función fagocítica (medida a través del estallido respiratorio) de neutrófilos sanguíneos fue medida a través del citómetro de flujo. Esta técnica considerada la de mayor sensibilidad para cuantificar el estallido respiratorio intracelular, tanto de monocitos como de neutrófilos (van Eeden, 1999) ya había sido utilizada por nuestro grupo (Paz, et al, 1995) arrojando resultados similares. Por lo tanto, de nuestra experiencia y la compartida por Raidal (1998) estaría caracterizada la evaluación del estallido respiratorio de fagocitos sanguíneos equinos por la técnica de citometría de flujo.

Los animales con patologías respiratorias infecciosas tuvieron menor estallido respiratorio ( $p < 0.05$ ) que los del grupo sano considerado como control. Aunque se desconoce si este hallazgo es causa o consecuencia de la presente patología, es posible que los equinos enfermos reaccionen con menor eficacia ante infecciones secundarias por patógenos oportunistas. Aunque su significado es controvertido, algunos autores (Yager, 1986; Hietala, 1987) sugieren que las fallas en la función de los neutrófilos no comprometen la patogenésis de las neumonías por *C. equi* en equinos. Para sostener esta posición, Yager (1986) demostró que a pesar de existir una disminución en la capacidad bactericida oxígeno-dependiente en potrillos con neumonías, la misma no fue suficiente para comprometer críticamente a los animales, debido a la existencia en los neutrófilos de un conjunto de mecanismos bactericidas adicionales contra *Corynebacterium equi* (neumonía). Esperamos en futuros estudios caracterizar hasta qué punto esta función es relevante. De todos modos, por similitud con otros modelos (especialmente en humanos), cualquier deficiencia en mecanismos efectores microbicidas reduce la capacidad global de resistencia y la redundancia de los mismos es una medida de seguridad que con frecuencia es sobrepasada en la realidad por agentes más virulentos o por cofactores adicionales, como el estrés agudo o crónico, etc.

En la segunda parte del estudio evaluamos el efecto de la suplementación con Levadura de Cerveza en caballos en entrenamiento, un sistema complejo que incluye la relación entre la alimentación, el entrenamiento y la actividad de los neutrófilos de



caballos en preparación para eventos de resistencia. La levadura de cerveza es un suplemento alimenticio caracterizado por tener alto contenido en proteínas y aminoácidos esenciales para el caballo, como la lisina, y sus efectos en equinos y sobre todo en caballos en crecimiento son bien conocidos (NRC 1989; INRA 1993; Frappe 1992). Aunque la levadura de cerveza contiene otros aminoácidos o precursores, tal como la glutamina, que ha sido involucrado en la regulación funcional del sistema inmune (Castell, 1997; Castell, 1998), en una búsqueda bibliográfica en la base de datos MEDLINE (de la Biblioteca Nacional de Medicina, del gobierno norteamericano) no hemos encontrado artículos de revistas con referato que relacionen este alimento con infecciones ni con los distintos mecanismos del sistema inmune en los equinos.

Los resultados obtenidos muestran que:

- El entrenamiento intenso es capaz de afectar negativamente el estallido respiratorio de los neutrófilos en equinos aparentemente sanos; y
- El suplemento con levadura de cerveza induce una diferencia significativa en la capacidad oxidativa de los neutrófilos con respecto a la dieta convencional o a la alimentación espontánea en campo.

Reconocidos los efectos adversos del ejercicio intenso sobre los mecanismos de defensa, perjudicando al menos temporariamente la actividad fagocítica (Wong, et a 1992) era esperable que el estallido respiratorio de los grupos que entrenaban (grupo 1 y 2) descendiera. Esto ocurrió aunque sin diferencias significativas entre la muestra D60 y D120 del grupo 2. Entre otras posibilidades, es posible que el ejercicio que realizaban los caballos de nuestro estudio no fue tan intenso como para perjudicar la actividad neutrofílica de los mismos durante todo el período de entrenamiento. Por el contrario, resultó significativo el progresivo aumento del estallido respiratorio registrado entre las muestras BASAL y D120 dentro del grupo tratado con suplemento de levadura.

¿Cuál es el significado de este hallazgo? Probablemente es beneficioso para los caballos mantener una adecuada función oxidativa en sus leucocitos, ya que la misma debería contribuir a su inmunocompetencia. Sin embargo, la valoración exacta de su impacto clínica está aún por documentarse.

Visto desde una perspectiva más básica, el hallazgo tiene varias facetas interesantes y abre perspectivas en varios frentes. En primer lugar, genera un modelo de inmunodeficiencia reversible y regulable, fácilmente estudiable. En segundo lugar, dado el complejo carácter de la levadura de cerveza, deja planteado el interrogante de cuál o cuáles son los componentes relevantes presentes en la misma. Como ya se ha mencionado, en la mayoría de los textos de nutrición el énfasis se coloca en el tipo de proteínas y los aminoácidos que contiene, lo cual, teniendo en cuenta la abundante bibliografía asociando desnutrición, especialmente proteica, con inmunocompetencia, parece razonable. En este sentido, habría que desarrollar estudios complementarios con dietas de igual valor calórico pero diferente contenido proteico y valorar inmunocompetencia y algunos de los mediadores relevantes, empezando probablemente por la leptina.

Alternativamente, otros componentes pueden ser igualmente importantes. Merece destacarse el rol del cromo bajo la forma de compuestos orgánicos. El cromo trivalente ha sido estudiado como un importante cofactor de la acción de la insulina,



aparentemente como resultado de formar un complejo ternario con insulina y su receptor, de forma de aumentar la señalización del mismo. Dado que la fosforilación de tirosina en diversas proteínas gatillada por el receptor de insulina juega un rol regulatorio en diferentes leucocitos (incluyendo los neutrófilos), no sería extraño que tal rol contribuyera a los hallazgos que hemos encontrado. Una hipótesis que sería interesante verificar en estudios futuros, el entrenamiento constituiría un estímulo estresante prolongado/crónico, condición que frecuentemente se asocia a niveles prolongados de exposición a corticoides endógenos y concomitante resistencia a la acción de la insulina. Si el agregado de cromo in vivo aumentara la señalización por el receptor de insulina como hace in vitro, debería esperarse una mejoría de varias funciones insulino dependientes, incluyendo el estallido respiratorio. Es característico que en diabetes la función oxidativa de los leucocitos está inhibida frente a varias señales que normalmente deberían gatillarla, contribuyendo en parte a la inmunodeficiencia característica de la diabetes.

### **LIMITACIONES Y ALCANCES DE LAS CONCLUSIONES**

El presente trabajo fue realizado respetando las actividades tradicionales que desempeña comúnmente el establecimiento (alimentación, entrenamiento, etc.) por lo tanto, este tipo de ensayos a campo tienen la ventaja de ser muy representativos de la realidad. Por otro lado, hubiese sido conveniente disponer de más animales y sobre todo de que en cada grupo el número de caballos hubiera sido igual o similar.

### **SUGERENCIAS PARA TRABAJOS FUTUROS**

Ver fin de Discusión.



## CAPITULO VI

### Conclusiones

- La citometría de flujo es una herramienta válida para la evaluación la capacidad fagocítica de los neutrófilos equinos.
- Los caballos con moco tienen en promedio un menor estallido respiratorio comparado con animales sanos tomados como control. Aunque no se pudo determinar si tal resultado es causa o consecuencia de tal infección.
- Los equinos sometidos a entrenamiento, fueron parcialmente capaces de mantener sus mecanismos de defensa no específicos, medidos por estallido respiratorio de neutrófilos sanguíneos.
- Los caballos alimentados con levadura de cerveza tuvieron una mayor respuesta en su estallido respiratorio que los caballos alimentados con ración tradicional (grano de avena y fardo de alfalfa).



## CAPITULO VII

### Bibliografía Consultada

- AUER D. E.; NG J. C.; SEAWRIGHT, A. A. Superoxide production by stimulated equine polymorphonuclear leukocytes-inhibition by anti-inflammatory drugs. *J Vet Pharmacol Ther* 1998, 13:59-66.
- BALLART I. J.; ESTEVEZ M. E.; DIEZ R. A.; SEN L. 1987. Comparison Of Candida Killing Activity Measured By Chemiluminescence And Cytomorphological Methods In Human Phagocytes. *J Immunol Meth*; 97:263-268.
- BÖYUM A. 1968. Isolation Of Mononuclear Cells And Granulocytes From Human Blood. *Scand. J. Clin. Invest*; 21 (Suppl 97):77-85.
- CASTELL L. M.; NEWSHOLME, E. A. 1997. The effects of oral glutamine supplementation on athletes after prolonged, exhaustive exercise. *Nutrition*;13(7-8):738-42.
- CASTELL L. M.; NEWSHOLME, E. A.. Glutamine and effects of exhaustive exercise upon the immune response. *Can J Physiol Pharmacol*; 76(5):524-32.
- CHENOWETH De, ROWE JG; HUGLI, T. 1979. A Modified Method For Chemotaxis Under Agarose. *J. Immunol. Meth.*; 25:337-353.
- FOERSTER, R. J.; WOLF, G. 1990. Phagocytosis of opsonized fluorescent microspheres by equine polymorphonuclear leukocytes. *Zentralbl Veterinarmed [B]*, 37:481-490.
- FRAPE, D. 1992. Nutrición y alimentación del caballo. Traducido al español. Ed. ACRIBIA SA, Zaragoza, España.
- GEFFNER, Jr.; TREVANI, As; SCHATNER M.; MALCHIODI, E.; LOPEZ, Dh.; LAZZARI, M.; ISTURIZ M., 1993. Activation Of Human Neutrophils And Monocytes Induced By Immune Complexes Prepared With Cationized Antibodies Or Antigens. *Clin. Immunol. Immunophatol.*; 69: 9-15.
- GLANTZ, Sa. 1987. Primer Of Biostatistics. Mac Graw Hill Books Co., New York;1-352.
- JOHANNISSON, A.; GRONDAHL, G.; DEMMERS, S.; JENSEN-WAERN, M.1995. Flow-cytometric studies of the phagocytic capacities of equine neutrophils. *Acta Vet Scand*, 36:553-562.
- HINES, et al 1996. Exercise and immunity: a revieq with emphasis on the horse. *J Vet Intrn Med*; 10(5):280-9.



- HINTZ, H. F. 1994. Nutrition and equine performance. *J Nut*; 124(12 Suppl):2723S-2729S.
- INRA, 1993. Alimentación de los caballos. Traducido al español en Barcelona, España. AEDOS EDITORIAL SA.
- MAYR, A. 1987. [Respiratory infections diseases in horses]. *Tierarztl Prax Suppl*, 2:1-4.
- MORLEY, P. S. et al., 2000. Descriptive epidemiologic study of disease associated with influenza virus infections during three epidemics in horses. *J Am Vet Med Assoc*; 216(4):535-44.
- NIEMAN, D. C. 1998. Exercise and resistance to infection. *Can J Physiol Pharmacol*; 76(5):573-80.
- NRC. 1989. Nutrient Requirements of Horses. Fifth Revised Edition, National Academy Press.
- OZKAN, et al 1993. Nutrition, immunity and infections: T lymphocyte subpopulations in protein-energy malnutrition. *J Trop Pediatr*; 39(4):257-60.
- PAZ, S.; FORNARI, M. C.; GUEREÑO, M.; TA, M.; SILAF, R.; LAROTONDA, G., DIEZ, R. A. 1995. Estudio de fagocitos en equinos adultos. *Medicina (Buenos Aires)*;55:579.
- PETERS, E. M. 1997. Exercise, immunology and upper respiratory tract infections. *Int J Sports Med* 18 Suppl 1:S69-77
- PHYLLIS LOSE, M. 1986. La salud de su caballo. Editorial Hemisferio Sur., p74.
- PITTIS, Mg; SEN, L.; DIEZ, Ra.; ESTÉVEZ, Me. 1993. Study Of Phagolysosome Fusion Of Human Monocytes By A Cytomorphological Method. *Comunicaciones Biológicas*; 11:55-65.
- PORTER, W. P.; HINS DILL, R.; FAIRBROTHER, A.; OLSON, L. J.; JAEGER, J.; YUILL, T.; BISGAARD, S.; HUNTER, W. G.; NOLAN, K. 1984. Toxicant-disease-environment interactions associated with suppression of immune system, growth, and reproduction. *Science*. 1;224(4652):1014-7
- POWELL, D. G. 1975. Equine infections respiratory disease. Review. *Vet Rec*; 96(2):30-4.
- RAIDAL, S. L.; BAILEY, G. D.; LOVE, D. N. 1998. Flow cytometric determination of oxidative burst activity of equine peripheral blood and bronchoalveolar lavage-derived leucocyte. *Vet J*; 156(2):117-126
- RAIDAL, S. L. et al., 2000. Effects of single bouts of moderate and high intensity exercise and training on equine peripheral blood neutrophil functions. *Res Vet Sci*; 68(2):141-6.
- RICHARDSON, M. P.; AYLIFFE, M. J.; HELBERT, M.; DAVIES, E. G. 1998. A simple flow cytometry assay using dihydrorhodamine for the measurement of the neutrophil respiratory burst in whole blood: comparison with the quantitative nitrobluetetrazolium test. *J Immunol Methods*, 219:187-193.



- ROSSDALE, M. A.; RICKETTS, S. W. 1979. Medicina Práctica en el haras. Editorial Hemisferio Sur S.A., p 344.
- SPIERS S.; MAY, S. A.; BENNETT, D.; EDWARDS, G. B.1994. Cellular sources of proteolytic enzymes in equine joints. *Equine Vet J* , 26:43-47.
- TIZARD, Ian. 1994. Inmunología Veterinaria. Traducción: Q.F.B. Sergio Alfredo Cortés Pérez. Cuarta Edición. Distrito Federal. México. InterAmericana. McGraw-Hill.
- VUORTE, J. 1996. Standarization Of Flow Cytometry Assay For Phagocyte Respiratory Burst Activity. Et Al. *Scand. J. Immunol.* 43,329-334.
- WONG, C. W.; SMITH, S. E.; THONG, Y.H.; OPDEBEECK, J. P.; THORNTON, J. R. 1992. Effects of exercise stress on various immune functions in horses. *Am J Vet Res* ;53(8):1414-7.
- YAGER, A.J. et al., 1986. In vitro bactericidal efficacy of equine polymorphonuclear leukocytes agaisnst *Corynebacterium equi*. *Am J Vet Res*; 47(2):438-440.



## CAPITULO VIII

# Productos

---

### **TRANSFERENCIA AL ÁMBITO ACADÉMICO**

La temática desarrollada por el presente trabajo resulta una herramienta importante en el desarrollo eficiente del sistema productivo equino, lo que sin duda condice con los contenidos programáticos de la asignatura. Asimismo, desde el primer cuatrimestre de 2000 se incluyó la información obtenida en las clases dictadas por los profesores de la materia. A su vez la búsqueda bibliográfica realizada a lo largo del proyecto permitió ampliar con material de importante valor científico e información actualizada la información disponible hasta el momento por la cátedra.

### **ARTÍCULO DE DIVULGACIÓN**

Resultados preliminares presentados para su publicación ante la Secretaría de Ciencia y Postgrado de la UNLZ.

**Función inmune de equinos deportivos: efectos de una dieta suplementada con levadura de cerveza (comunicación de resultados preliminares).**

Paz S., Pellegrini A. G, Fornari M. C., Diez R. A.

### **DESARROLLO TECNOLÓGICO**

Para este ensayo debimos adaptar a células equinas, una técnica de gran utilidad y sensibilidad en la evaluación de la funcionalidad de leucocitos humanos, la citometría de flujo, considerada actualmente el estándar de valoración. De esta manera, continuamos determinando un “rango de referencia” iniciado por nuestro grupo en trabajos anteriores, siendo los primeros valores de estallido respiratorio de neutrófilos sanguíneos equinos medidos por citometría de flujo en este medio (en Argentina).



## CAPITULO IX

# Otras Actividades

### **1. FORMACIÓN DE RECURSOS HUMANOS**

El proyecto permitió entrenar a los ejecutores de la UNLZ en técnicas inmunológicas actualizadas (como citometría de flujo o manejo de células aisladas y purificadas), eventualmente aplicables a cualquier otro proyecto de investigación.

De los ejecutores:

- Logística de las muestras
- Entrenamiento de obtención de sangre
- Aprendizaje (práctico-teórico) de las distintas técnicas
- Obtención de los fagocitos
- Ensayo de estallido respiratorio

Se realizaron reuniones a modo de seminario en forma conjunta con el Director cuyos objetivos fueron:

- Analizar los datos preliminares obtenidos
- Exposición de trabajos presentados recientemente (obtenidos por revisiones bibliográficas) a cargo de cada integrante del proyecto.
- Discusión de los mismos.
- Consultas sobre los talleres prácticos. Comentarios y dificultades encontradas.

La Bioquímica María Cecilia Fornari, becaria de investigación de la UBA, finalizó su tesis doctoral con estas técnicas en el Laboratorio de Inmunofarmacología.



## **2. ASISTENCIA DE MIEMBROS DEL EQUIPO DE INVESTIGACIÓN A CURSOS, CONGRESOS, JORNADAS, CONFERENCIAS, ETC., EN RELACIÓN CON LA TEMÁTICA DEL PROYECTO**

### **INGENIERO SERGIO PAZ**

Categorización IV según la Comisión Regional de Categorizaciones

Participante en carácter de Consultor del **foro de Internet *Universal Horse.com.ar***

Dictado del curso **“Nutrición del equino atleta”** en las Jornadas de Actualización de la Práctica Equina, Grupo Forjar, Mayo de 1999

Dictado en conferencia de resultados del trabajo de investigación: **“Evaluación comparativa de dietas para equinos: Yeguas madres último tercio de gestación; Yeguas madres primer tercio de lactancia; Potrillos en crecimiento; Caballos adultos en Training”**. Servicio de Veterinaria y Remonta – E. N. Uruguay.

### **INGENIERO ARIEL PELLEGRINI**

Dictado en conferencia de resultados del trabajo de investigación: **“Evaluación comparativa de dietas para equinos: Yeguas madres último tercio de gestación; Yeguas madres primer tercio de lactancia; Potrillos en crecimiento; Caballos adultos en Training”**. Servicio de Veterinaria y Remonta – E. N. Uruguay.

Curso de Post-grado: **“Agroecosistemas: Sistemas de control a corto y largo plazo en la producción animal”**. FCA, UNLZ, Carga horaria: 80 horas. Evaluación final aprobada (puntaje: 8).

### **BIOQUÍMICA MARÍA CECILIA FORNARI**

#### **Cursos dictados**

Disertante en el Curso de Formación de Médicos Especialistas en Alergia e Inmunología. Hospital Vicente López. Tema: **"Polimorfonucleares neutrófilos. Características estructurales y funcionales. Técnicas de estudio"**. Agosto de 1999.

Disertante en el Curso de Formación de Médicos Especialistas en Alergia e Inmunología. Hospital Vicente López. Tema: **"Defectos funcionales de los polimorfonucleares. Síndrome séptico"**. Agosto de 1999.

Disertante en el Curso de Actualización en Reumatología del Hospital General de Agudos Dr. Cosme Argerich. Tema: **Laboratorio de Citometría de Flujo**. Mayo de 1999.



Disertante en el Curso de Actualización en Reumatología del Hospital General de Agudos Dr. Cosme Argerich. Tema: Fagocitos. Estructura, Función y Patologías. Junio de 1999.

### **Publicaciones**

Pistillo N, Cárdenas AA, Repetto M, Fornari MC, Guereño MT, Diez RA. Sobrevivan o no, los pacientes sépticos presentan elevados niveles de mieloperoxidasa sérica. XXIII Jornadas Anuales de la Sociedad Argentina de Terapia Intensiva. 11 al 14 de Septiembre. San Luis, 1999.

Pistillo N, Fornari MC, Cárdenas AA, Guereño MT, Repetto M, Diez RA. Estallido respiratorio de leucocitos sanguíneos y de mini-BAL en pacientes sépticos con distrés respiratorio agudo. XLV Reunión Científica Anual de la SAIC. Mar del Plata. Noviembre de 1999.

Guereño MT, Fornari MC, Livio DL, Diez RA. En defensa de la aminofilina. Medicina (Buenos Aires) 59:409-410, 1999.

### **Asistencias**

Miembro Titular de la XLIV Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica. Mar del Plata, de 26 al 29 de Noviembre 1999.

Miembro Titular de la XLVII Reunión Anual de la SAFE. Mar del Plata, de 26 al 29 de Noviembre 1999.

Miembro Titular de las Segundas Jornadas Científicas Grupo Rioplatense de Citometría de Flujo. Buenos Aires, 30 de Octubre de 1999.

## **3. CARRERAS DE POSTGRADO**

### **ING. SERGIO PAZ**

Finalizó sus estudios de postgrado aprobando la tesis final con el título de Magister en Ciencia, Tecnología y Sociedad en la Universidad Nacional de Quilmes. Marzo de 2000.

Inició el programa de Doctorado en la misma universidad en septiembre de 2000.

### **ING. ARIEL PELLEGRINI**

Cursando el Doctorado en Ciencia Animal dictado por la Universidad Politécnica de Valencia (UPV - España) en la Facultad de Ciencias Agrarias (UNLZ).

“Formulación y Fabricación de Piensos”. Asignatura perteneciente al programa de doctorado UPV. Profesor: Dra. Concepción Cervera.



Curso de Inglés (aprobado). Asignatura perteneciente al programa de doctorado UPV. Profesor: Dr. Carlos Eddi, Ph D.

### **BIOQUÍMICA MARÍA CECILIA FORNARI**

Doctora de la Universidad de Buenos Aires. Calificación: sobresaliente, Diciembre 1999.

### **4. VINCULACIÓN CON OTRAS INSTITUCIONES**

Laboratorio de Inmunofarmacología e Inmología Clínica, Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la UBA - Cátedra de Bovinotecnia y Equinotecnia, Facultad de Ciencias Agrarias, UNLZ.

Cátedra de Bovinotecnia y Equinotecnia, FCA, UNLZ – Cabaña de caballos criollos “La República”.

Cátedra de Bovinotecnia y Equinotecnia, FCA, UNLZ – Asociación Criadores de Caballos Criollos.



## CAPITULO X

# Evaluación del Equipo de Investigación

---

### ***INTEGRANTE: INGENIERO SERGIO PAZ***

**Evaluación:** 10 puntos

**Fundamentación:**

El Ingeniero Sergio Paz ha desempeñado correctamente las tareas a su cargo, quedando bajo su responsabilidad la selección de los equinos que participaron de este proyecto, como así también la elección del lugar para el reclutamiento de animales, cumpliendo con las mejores condiciones para el óptimo desarrollo de los ensayos. Asimismo fue el encargado de la obtención y la logística de las muestras.

Ha participado en los talleres de entrenamiento y aprendizaje (práctico y teórico) de las distintas técnicas (Obtención de los fagocitos, Ensayo de estallido respiratorio por citometría de flujo). Ha cumplido con la búsqueda bibliográfica (Bibliotecas: Sociedad Rural Argentina, Facultad de Veterinaria UBA, Facultad de Ciencias Agrarias UNLZ y por Medline, biblioteca virtual de medicina en Internet) y revisión de la misma, asistiendo a los seminarios realizados.

### ***INTEGRANTE: ARIEL PELLEGRINI***

**Evaluación:** 10 puntos

**Fundamentación:**

El Ingeniero Ariel Pellegrini desempeñó correctamente las tareas asignadas, habiendo participado en el reclutamiento y selección de los animales, la obtención de las muestras y en la formulación de las raciones para los equinos.

Asistió a los talleres de entrenamiento y aprendizaje (práctico y teórico) de las distintas técnicas (Obtención de los fagocitos, Ensayo de estallido respiratorio por citometría de flujo), integrándose con facilidad y entusiasmo al grupo de trabajo.

Ha cumplido con la búsqueda bibliográfica (Bibliotecas: Sociedad Rural Argentina, Facultad de Veterinaria UBA, Facultad de Ciencias Agrarias UNLZ y por Medline, biblioteca virtual de medicina en Internet) y revisión de la misma, asistiendo a los seminarios realizados.



## CAPITULO XI

### Anexos

---

Los parámetros bioquímicos y físicos estudiados fueron pensados desde el punto de vista de indicadores específicos de salud, sobre todo teniendo en cuenta su correlación con alteraciones nutricionales.

#### **OBSERVACIÓN CLÍNICA DIARIA**

##### **ACTITUD**

La actitud de la totalidad de los equinos que participaron de este ensayo fue óptima y constante en cuanto a la disposición a la ración y en cuanto a las condiciones habituales de comportamiento (movilidad, estado general), no encontrando en ningún momento del ensayo algún animal con comportamiento anómalo.

##### **TEMPERATURA**

Se utilizó este parámetro por ser el primer indicador de alerta en problemas relacionados con la salud, siendo normal para todos los equinos de ambos grupos de estudio, durante todo el ensayo.

##### **PESO**

Se compararon las diferencias de peso de cada grupo, no encontrando diferencias significativas durante los distintos tiempos de tratamiento (Basal, D60 y D120). Solo se encontraron diferencias significativas al comparar los resultados del G1 vs G2 y G1 vs G3 en la pesada correspondiente al día 60 de tratamiento. Posiblemente debido a diferencias no medidas en los entrenamientos. Sin embargo, los valores siempre estuvieron dentro de los valores normales y esperados tanto por nosotros como para el personal de la cabaña.

##### **PROTEÍNAS TOTALES**

El análisis de las proteínas totales de todos los grupos estudiados no arrojó diferencias significativas, manteniendo todos los equinos el nivel proteico de comienzo del ensayo.

La evaluación de funcionamiento hepático fue realizada con indicadores



específicos como los son las enzimas TGO, TGP, GGT y la Bilirubina.

Todos los parámetros estudiados, mostraron que el tratamiento no provocó trastornos hepáticos, sino por el contrario resultó favorable al compararlo cualitativamente con la ración del grupo control.

### **TGO (Enzima transaminasa glutámico oxalacética)**

En el grupo 1, se encontró un aumento significativo del nivel de esta enzima ( $p < 0.005$ ), en las muestras del día 60 y 120 respecto al valor basal.

En los equinos del grupo 2 sólo se encontraron diferencias al evaluar el valor del día 120 respecto del basal.

Al evaluar el grupo 3, las diferencias entre los tiempos de extracción no mostraron variación estadísticamente significativa entre ellos. En ambos casos suponemos que tales diferencias se deben al comienzo de los respectivos tratamientos.

Entre los grupos no se registraron diferencias significativas entre ellos.

Cabe destacar que el dato obtenido en la extracción inicial se encontraba elevado (en todos los equinos) puesto estos animales recibieron tratamiento antiparasitario con órgano-fosforados, posible factor causante de este efecto.

Esta enzima presenta una elevada actividad en el músculo esquelético y cardiaco y en segundo lugar, en el hígado, resultando un indicador sensible en patologías musculares. Contrariamente no puede ser tomada *per se* como indicadora de falla hepática.

Sin embargo hallazgos de aumentos de valor de hasta tres veces los normales deben considerarse como “leves”, y recién superada esa escala podrán ser tenidos en cuenta como “incrementos importantes”.

De este hecho se desprende la relatividad de los valores que, si bien denotan diferencias significativas en el análisis estadístico, plantean interrogantes desde el punto de su significación absoluta.

### **TGP (Enzima transaminasa glutámico pirúvica) – GGT (Enzima gamma glutamil traspeptidasa)**

La evaluación de las diferencias de las distintas enzimas entre los grupos no arrojó resultados con significancia estadística.

### **BILIRRUBINA**

#### **Bilirrubina total:**

Al evaluar las diferencias entre los grupos no existe variación estadísticamente significativa entre ellos, excepto en el grupo 3 que presentó diferencias significativa de la muestra del día 60 que bajo respecto a la basal.



### **Bilirrubina directa:**

La bilirrubina directa se comportó del mismo modo que la BT

### **UREA**

Relacionamos este parámetro con la digestibilidad relativa del componente proteico en la ración, como así también como indicador de función renal.

La evaluación de las diferencias entre los grupos control no arroja resultados estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ). Al evaluar cada grupo sólo se encuentra variación significativa entre la muestra del día 60 y la del día 120 ( $p = 0.038$ ) en el grupo 1.

### **CREATININA**

Evaluamos este parámetro como factor indicador de la ausencia de toxicidad renal de los alimentos que componen la ración. Entre los grupos los resultados dan cuenta de la buena adaptabilidad de los equinos a ambos elementos. La evaluación de las diferencias entre los grupos no arrojó diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ). Al evaluar los grupos durante el desarrollo del tratamiento se encontraron diferencias significativas entre la muestra basal y la del día 120; la del día 60 y la del día 120 tanto en el grupo 1 como en el 2.

### **CALCIO Y FÓSFORO**

Al no poder obtener una muestra de orina de todos los equinos que intervinieron en este protocolo resulta de poca utilidad la evaluación de estos parámetros. De todos modos no se encontraron diferencias significativas entre los grupos durante todo el ensayo en los valores séricos

### **LEUCOCITOS**

Este parámetro es un indicador temprano de alerta en procesos infecciosos.

La evaluación de las diferencias del valor absoluto entre los distintos grupos no arrojó resultados estadísticamente significativos. Cuando evaluamos los valores porcentuales de la fórmula leucocitaria encontramos que si bien entre los tres grupos no se encontraron diferencias significativas durante todo el tratamiento, al evaluar cada grupo respecto del basal encontramos diferencias estadísticamente significativas a saber: en el grupo 1 tanto la muestra del día 60 como la del día 120 resultaron significativamente menores respecto al basal. Situación similar se encontró en los grupos 2 y 3.

Los indicadores hematológicos estudiados (**G. rojos, Hto, Hb**) son de utilidad puesto que pueden ser modificados por diversos factores, entre ellos la nutrición y en especial por el contenido digestible de las proteínas en la ración.



## **GLÓBULOS ROJOS**

El número de glóbulos rojos no se modificó significativamente ( $p < 0.05$ ) en ninguno de los 3 grupos evaluados.

## **HEMATOCRITO**

El hematocrito del grupo 2 demuestra un descenso significativo al día 120.

## **HEMOGLOBINA**

La hemoglobina mantiene similar patrón que el parámetro de glóbulos rojos.



## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS TGO

|                                   |         |         | N       | Media | DE     | EE     |       | p < 0.05 |        |    |
|-----------------------------------|---------|---------|---------|-------|--------|--------|-------|----------|--------|----|
| <b>ANOVA DE UNA CLASIFICACIÓN</b> | Grupo 1 | 1       | Basal   | 10    | 351,4  | 120,92 | 38,24 | 0,008    | 1 vs 2 | sí |
|                                   |         | 2       | D60     | 10    | 508,1  | 126,51 | 40,01 |          | 1 vs 3 | sí |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 550,8  | 112,75 | 50,42 |          | 2 vs 3 | no |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 5     | 294    | 105,9  | 47,36 | 0,002    | 1 vs 2 | no |
|                                   |         | 2       | D60     | 5     | 409,6  | 98,61  | 44,1  |          | 1 vs 3 | sí |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 544,4  | 36,75  | 16,44 |          | 2 vs 3 | no |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 4     | 328,5  | 124,97 | 62,49 | 0,256    |        |    |
|                                   |         | 2       | D60     | 4     | 379,25 | 56,4   | 28,2  |          |        |    |
|                                   |         | 3       | D120    | 2     | 472    | 21,21  | 15    |          |        |    |
|                                   | Basal   | 1       | Grupo 1 | 10    | 351,4  | 120,92 | 38,24 | 0,681    |        |    |
|                                   |         | 2       | Grupo 2 | 5     | 294    | 105,9  | 47,36 |          |        |    |
|                                   |         | 3       | Grupo 3 | 4     | 329,5  | 124,97 | 62,49 |          |        |    |
|                                   | Día 60  | 1       | Grupo 1 | 10    | 507,2  | 126,71 | 40,07 | 0,113    |        |    |
|                                   |         | 2       | Grupo 2 | 5     | 409,6  | 98,01  | 44,1  |          |        |    |
|                                   |         | 3       | Grupo 3 | 4     | 379,25 | 56,4   | 28,2  |          |        |    |
| Día 120                           | 1       | Grupo 1 | 5       | 550,8 | 112,75 | 50,42  | 0,494 |          |        |    |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 544,4 | 36,75  | 16,44  |       |          |        |    |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 2       | 472   | 21,21  | 15     |       |          |        |    |
| <b>ANOVA APAREADO</b>             | Grupo 1 | 1       | Basal   | 5     | 283,4  | 91,44  | 40,89 | 0,003    | 1 vs 2 | sí |
|                                   |         | 2       | D60     | 5     | 449    | 64,36  | 28,78 |          | 1 vs 3 | sí |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 550,8  | 112,75 | 50,42 |          | 2 vs 3 | no |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 3     | 281    | 83,86  | 48,42 | 0,003    | 1 vs 2 | sí |
|                                   |         | 2       | D60     | 3     | 469,67 | 66,01  | 38,11 |          | 1 vs 3 | sí |
|                                   |         | 3       | D120    | 3     | 523,33 | 43     | 24,83 |          | 2 vs 3 | no |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 2     | 242,5  | 116,67 | 82,5  | 0,078    |        |    |
|                                   |         | 2       | D60     | 2     | 389,5  | 68,59  | 48,5  |          |        |    |
|                                   |         | 2       | D120    | 2     | 472    | 21,21  | 15    |          |        |    |



## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS TGP

|                                   |         |         | N       | Media | DE    | EE    |       |       |
|-----------------------------------|---------|---------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <b>ANOVA DE UNA CLASIFICACIÓN</b> | Grupo 1 | 1       | Basal   | 10    | 36    | 11,71 | 3,7   | 0,772 |
|                                   |         | 2       | D60     | 10    | 50,6  | 68,84 | 21,77 |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 40,8  | 22,1  | 9,88  |       |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 5     | 42,6  | 19,86 | 8,88  | 0,207 |
|                                   |         | 2       | D60     | 5     | 26,2  | 9,31  | 4,16  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 28    | 13,89 | 6,21  |       |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 4     | 34,25 | 13,35 | 6,68  | 0,2   |
|                                   |         | 2       | D60     | 4     | 23,25 | 4,5   | 2,25  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 2     | 41,5  | 16,26 | 11,5  |       |
|                                   | Basal   | 1       | Grupo 1 | 10    | 36    | 11,71 | 3,7   | 0,636 |
|                                   |         | 2       | Grupo 2 | 5     | 42,6  | 19,86 | 8,88  |       |
|                                   |         | 3       | Grupo 3 | 4     | 34,25 | 13,35 | 6,68  |       |
|                                   | Día 60  | 1       | Grupo 1 | 10    | 50,6  | 68,84 | 21,77 | 0,568 |
|                                   |         | 2       | Grupo 2 | 5     | 26,2  | 9,31  | 4,16  |       |
|                                   |         | 3       | Grupo 3 | 4     | 23,25 | 4,5   | 2,25  |       |
| Día 120                           | 1       | Grupo 1 | 5       | 41    | 22,03 | 9,85  | 0,495 |       |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 28    | 13,89 | 6,21  |       |       |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 2       | 41,5  | 16,26 | 11,5  |       |       |
| <b>ANOVA APAREADO</b>             | Grupo 1 | 1       | Basal   | 5     | 33,2  | 7,69  | 3,44  | 0,139 |
|                                   |         | 2       | D60     | 5     | 23,6  | 4,04  | 1,81  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 40,8  | 22,1  | 9,88  |       |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 3     | 47    | 17,78 | 10,26 | 0,384 |
|                                   |         | 2       | D60     | 3     | 31,67 | 5,03  | 2,91  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 3     | 33,67 | 11,55 | 6,67  |       |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 2     | 37    | 19,8  | 14    | 0,505 |
|                                   |         | 2       | D60     | 2     | 24    | 4,24  | 3     |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 2     | 41,5  | 14,26 | 11,5  |       |



## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS: HEMATOCRITO

|                                   |         |         |         | N     | Media | DE    | EE    | p     | p < 0.05 |    |
|-----------------------------------|---------|---------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|----|
| <b>ANOVA DE UNA CLASIFICACIÓN</b> | Grupo 1 | 1       | Basal   | 10    | 40,12 | 8,35  | 2,64  | 0,075 |          |    |
|                                   |         | 2       | D60     | 10    | 35,74 | 3,32  | 1,05  |       |          |    |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 32,66 | 3,61  | 1,62  |       |          |    |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 5     | 36,84 | 3,23  | 1,44  | 0,019 | 1 vs 2   | no |
|                                   |         | 2       | D60     | 5     | 35,44 | 2,57  | 1,15  |       | 1 vs 3   | sí |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 31,75 | 1,18  | 0,53  |       | 2 vs 3   | no |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 4     | 35,03 | 3,88  | 1,94  | 0,407 |          |    |
|                                   |         | 2       | D60     | 4     | 34,05 | 3,64  | 1,82  |       |          |    |
|                                   |         | 3       | D120    | 2     | 30,75 | 0,35  | 0,25  |       |          |    |
|                                   | Basal   | 1       | Grupo 1 | 10    | 40,05 | 8,27  | 2,61  | 0,406 |          |    |
|                                   |         | 2       | Grupo 2 | 5     | 36,84 | 3,23  | 1,44  |       |          |    |
|                                   |         | 3       | Grupo 3 | 4     | 35,03 | 3,88  | 1,94  |       |          |    |
| Día 60                            | 1       | Grupo 1 | 10      | 35,74 | 3,32  | 1,05  | 0,676 |       |          |    |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 35,44 | 2,57  | 1,15  |       |       |          |    |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 4       | 34,05 | 3,64  | 1,82  |       |       |          |    |
| Día 120                           | 1       | Grupo 1 | 5       | 32,66 | 3,61  | 1,62  | 0,659 |       |          |    |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 31,74 | 1,18  | 0,53  |       |       |          |    |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 2       | 30,75 | 0,35  | 0,25  |       |       |          |    |
| <b>ANOVA APAREADO</b>             | Grupo 1 | 1       | Basal   | 5     | 40,52 | 10,68 | 4,77  | 0,268 |          |    |
|                                   |         | 2       | D60     | 5     | 36    | 4,82  | 2,16  |       |          |    |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 32,66 | 3,61  | 1,62  |       |          |    |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 3     | 35,03 | 3,7   | 1,56  | 0,007 | 1 vs 2   | no |
|                                   |         | 2       | D60     | 3     | 37,2  | 1,21  | 0,7   |       | 1 vs 3   | no |
|                                   |         | 3       | D120    | 3     | 32,13 | 0,95  | 0,55  |       | 2 vs 3   | sí |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 2     | 33,2  | 2,26  | 1,6   | 0,742 |          |    |
|                                   |         | 2       | D60     | 2     | 32,95 | 4,17  | 2,95  |       |          |    |
|                                   |         | 3       | D120    | 2     | 30,75 | 0,35  | 0,25  |       |          |    |



## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS: LEUCOCITOS

|                                   |         |         | N       | Media | DE    | EE   |       |       |
|-----------------------------------|---------|---------|---------|-------|-------|------|-------|-------|
| <b>ANOVA DE UNA CLASIFICACIÓN</b> | Grupo 1 | 1       | Basal   | 10    | 10,36 | 1,82 | 0,58  | 0,301 |
|                                   |         | 2       | D60     | 10    | 10,36 | 1,81 | 0,57  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 11,92 | 2,51 | 1,12  |       |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 5     | 9,88  | 0,65 | 0,29  | 0,493 |
|                                   |         | 2       | D60     | 5     | 9,16  | 1,4  | 0,63  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 10,12 | 1,62 | 0,72  |       |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 4     | 12,4  | 2,84 | 1,42  | 0,365 |
|                                   |         | 2       | D60     | 4     | 11,5  | 2,06 | 1,03  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 2     | 9,05  | 2,9  | 2,05  |       |
|                                   | Basal   | 1       | Grupo 1 | 10    | 10,36 | 1,82 | 0,58  | 0,131 |
|                                   |         | 2       | Grupo 2 | 5     | 9,88  | 0,65 | 0,29  |       |
|                                   |         | 3       | Grupo 3 | 4     | 12,4  | 2,84 | 1,42  |       |
| Día 60                            | 1       | Grupo 1 | 10      | 10,36 | 1,81  | 0,57 | 0,173 |       |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 9,16  | 1,4   | 0,63 |       |       |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 4       | 11,5  | 2,06  | 1,03 |       |       |
| Día 120                           | 1       | Grupo 1 | 5       | 11,76 | 2,77  | 1,24 | 0,358 |       |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 10,12 | 1,62  | 0,72 |       |       |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 2       | 9,05  | 2,9   | 2,05 |       |       |
| <b>ANOVA APAREADO</b>             | Grupo 1 | 1       | Basal   | 5     | 9,78  | 1,38 | 0,62  | 0,065 |
|                                   |         | 2       | D60     | 5     | 10    | 1,64 | 0,73  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 11,92 | 2,51 | 1,12  |       |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 3     | 10,27 | 0,51 | 0,3   | 0,812 |
|                                   |         | 2       | D60     | 3     | 9,93  | 1,29 | 0,74  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 3     | 9,6   | 1,15 | 0,67  |       |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 2     | 10,1  | 1,41 | 1     | 0,606 |
|                                   |         | 2       | D60     | 2     | 10,15 | 0,78 | 0,55  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 2     | 9,05  | 2,9  | 2,05  |       |



## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS: PESO

|                                   |         |         |         |       |       |       |       | N     | Media | DE     | EE      |  |  | p < 0.05 |  |
|-----------------------------------|---------|---------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|---------|--|--|----------|--|
| <b>ANOVA DE UNA CLASIFICACIÓN</b> | Grupo 1 | 1       | Basal   | 10    | 425   | 21,49 | 6,8   | 0,341 |       |        |         |  |  |          |  |
|                                   |         | 2       | D60     | 10    | 415,1 | 26,07 | 8,24  |       |       |        |         |  |  |          |  |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 402,8 | 39,01 | 17,45 |       |       |        |         |  |  |          |  |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 5     | 457,6 | 39,1  | 17,49 | 0,828 |       |        |         |  |  |          |  |
|                                   |         | 2       | D60     | 5     | 471,4 | 30,68 | 13,72 |       |       |        |         |  |  |          |  |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 462,8 | 36,36 | 16,26 |       |       |        |         |  |  |          |  |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 4     | 449,5 | 10,85 | 5,42  | 0,326 |       |        |         |  |  |          |  |
|                                   |         | 2       | D60     | 4     | 460   | 17,91 | 8,95  |       |       |        |         |  |  |          |  |
|                                   |         | 3       | D120    | 2     | 469   | 11,31 | 8     |       |       |        |         |  |  |          |  |
|                                   | Basal   | 1       | Grupo 1 | 10    | 425   | 21,49 | 6,8   | 0,066 |       |        |         |  |  |          |  |
|                                   |         | 2       | Grupo 2 | 5     | 457,6 | 39,1  | 17,49 |       |       |        |         |  |  |          |  |
|                                   |         | 3       | Grupo 3 | 4     | 452   | 13,39 | 6,7   |       |       |        |         |  |  |          |  |
| Día 60                            | 1       | Grupo 1 | 10      | 415,1 | 26,07 | 8,24  | 0,002 |       |       | 1 vs 2 | sí      |  |  |          |  |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 471,4 | 30,68 | 13,72 |       |       |       | 1 vs 3 | sí      |  |  |          |  |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 4       | 460   | 17,91 | 8,95  |       |       |       | 2 vs 3 | no      |  |  |          |  |
| Día 120                           | 1       | Grupo 1 | 5       | 402,8 | 39,01 | 17,45 | 0,047 |       |       | 1 vs 2 | no      |  |  |          |  |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 462,8 | 36,36 | 16,26 |       |       |       | 1 vs 3 | no test |  |  |          |  |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 2       | 469   | 11,31 | 8     |       |       |       | 2 vs 3 | no test |  |  |          |  |

|                       |         |   |       |   |        |       |       |       |  |  |  |  |
|-----------------------|---------|---|-------|---|--------|-------|-------|-------|--|--|--|--|
| <b>ANOVA APAREADO</b> | Grupo 1 | 1 | Basal | 5 | 422    | 12,73 | 5,69  | 0,323 |  |  |  |  |
|                       |         | 2 | D60   | 5 | 411    | 17,78 | 7,95  |       |  |  |  |  |
|                       |         | 3 | D120  | 5 | 402,8  | 39,01 | 17,45 |       |  |  |  |  |
|                       | Grupo 2 | 1 | Basal | 3 | 483,33 | 23,63 | 13,64 | 0,838 |  |  |  |  |
|                       |         | 2 | D60   | 3 | 481,33 | 30,99 | 17,89 |       |  |  |  |  |
|                       |         | 3 | D120  | 3 | 484,67 | 21,22 | 12,25 |       |  |  |  |  |
|                       | Grupo 3 | 1 | Basal | 2 | 457,5  | 3,54  | 2,5   | 0,633 |  |  |  |  |
|                       |         | 2 | D60   | 2 | 450    | 22,63 | 16    |       |  |  |  |  |
|                       |         | 3 | D120  | 2 | 469    | 11,31 | 8     |       |  |  |  |  |



## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS: CALCIO

|                                   |         |         | N       | Media | DE    | EE   |       | p < 0.05 |        |         |
|-----------------------------------|---------|---------|---------|-------|-------|------|-------|----------|--------|---------|
| <b>ANOVA DE UNA CLASIFICACIÓN</b> | Grupo 1 | 1       | Basal   | 10    | 8,26  | 1,39 | 0,44  | 0        | 1 vs 2 | sí      |
|                                   |         | 2       | D60     | 10    | 10,86 | 0,63 | 0,2   |          | 1 vs 3 | sí      |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 11,58 | 1,34 | 0,6   |          | 2 vs 3 | no      |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 5     | 7,93  | 1,6  | 0,72  | 0        | 1 vs 2 | sí      |
|                                   |         | 2       | D60     | 5     | 11,08 | 0,69 | 0,31  |          | 1 vs 3 | sí      |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 10,96 | 0,79 | 0,35  |          | 2 vs 3 | no      |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 4     | 7,59  | 1,77 | 0,88  | 0,03     | 1 vs 2 | no      |
|                                   |         | 2       | D60     | 4     | 10,32 | 0,82 | 0,41  |          | 1 vs 3 | no test |
|                                   |         | 3       | D120    | 2     | 10,7  | 0,28 | 0,2   |          | 2 vs 3 | no test |
|                                   | Basal   | 1       | Grupo 1 | 10    | 8,26  | 1,39 | 0,44  | 0,75     |        |         |
|                                   |         | 2       | Grupo 2 | 5     | 7,93  | 1,6  | 0,72  |          |        |         |
|                                   |         | 3       | Grupo 3 | 4     | 7,59  | 1,77 | 0,88  |          |        |         |
| Día 60                            | 1       | Grupo 1 | 10      | 10,86 | 0,63  | 0,2  | 0,269 |          |        |         |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 11,08 | 0,69  | 0,31 |       |          |        |         |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 4       | 10,32 | 0,82  | 0,41 |       |          |        |         |
| Día 120                           | 1       | Grupo 1 | 5       | 11,58 | 1,34  | 0,6  | 0,524 |          |        |         |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 10,96 | 0,79  | 0,35 |       |          |        |         |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 2       | 10,7  | 0,28  | 0,2  |       |          |        |         |
| <b>ANOVA APAREADO</b>             | Grupo 1 | 1       | Basal   | 5     | 8,27  | 1,1  | 0,49  | 0        | 1 vs 2 | sí      |
|                                   |         | 2       | D60     | 5     | 10,87 | 0,67 | 0,3   |          | 1 vs 3 | sí      |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 11,58 | 1,34 | 0,6   |          | 2 vs 3 | no      |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 3     | 8,03  | 2,19 | 1,26  | 0,069    |        |         |
|                                   |         | 2       | D60     | 3     | 10,78 | 0,24 | 0,14  |          |        |         |
|                                   |         | 3       | D120    | 3     | 11,2  | 1    | 0,58  |          |        |         |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 2     | 6,5   | 2,14 | 1,51  | 0,079    |        |         |
|                                   |         | 2       | D60     | 2     | 10,05 | 0,96 | 0,68  |          |        |         |
|                                   |         | 3       | D120    | 2     | 10,7  | 0,28 | 0,2   |          |        |         |



## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS: FÓSFORO

|                                   |         | N       | Media   | DE   | EE   |      |       |       |
|-----------------------------------|---------|---------|---------|------|------|------|-------|-------|
| <b>ANOVA DE UNA CLASIFICACIÓN</b> | Grupo 1 | 1       | Basal   | 10   | 3,86 | 0,83 | 0,26  | 0,734 |
|                                   |         | 2       | D60     | 10   | 3,81 | 0,53 | 0,17  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 5    | 4,09 | 0,49 | 0,22  |       |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 5    | 3,46 | 0,91 | 0,41  | 0,432 |
|                                   |         | 2       | D60     | 5    | 3,56 | 0,49 | 0,22  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 5    | 4,03 | 0,67 | 0,3   |       |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 4    | 3,86 | 0,85 | 0,43  | 0,898 |
|                                   |         | 2       | D60     | 4    | 3,6  | 0,89 | 0,44  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 2    | 3,82 | 0,41 | 0,29  |       |
|                                   | Basal   | 1       | Grupo 1 | 10   | 3,88 | 0,82 | 0,26  | 0,67  |
|                                   |         | 2       | Grupo 2 | 5    | 3,46 | 0,91 | 0,41  |       |
|                                   |         | 3       | Grupo 3 | 4    | 3,61 | 1,02 | 0,51  |       |
| Día 60                            | 1       | Grupo 1 | 10      | 3,81 | 0,53 | 0,17 | 0,718 |       |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 3,56 | 0,49 | 0,22 |       |       |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 4       | 3,6  | 0,89 | 0,44 |       |       |
| Día 120                           | 1       | Grupo 1 | 5       | 4,09 | 0,48 | 0,22 | 0,85  |       |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 4,03 | 0,67 | 0,3  |       |       |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 2       | 3,82 | 0,41 | 0,29 |       |       |
| <b>ANOVA APAREADO</b>             | Grupo 1 | 1       | Basal   | 5    | 4,12 | 1,1  | 0,49  | 0,564 |
|                                   |         | 2       | D60     | 5    | 3,62 | 0,31 | 0,14  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 5    | 4,09 | 0,48 | 0,22  |       |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 3    | 3,77 | 1,08 | 0,62  | 0,961 |
|                                   |         | 2       | D60     | 3    | 3,76 | 0,46 | 0,27  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 3    | 3,61 | 0,36 | 0,21  |       |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 2    | 4,34 | 0,8  | 0,57  | 0,89  |
|                                   |         | 2       | D60     | 2    | 3,81 | 1,45 | 1,02  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 2    | 3,82 | 0,41 | 0,29  |       |



## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS: LINFOCITOS

|                                   |         |         |         | N    | Media | DE   | EE    |       | p < 0.05 |    |
|-----------------------------------|---------|---------|---------|------|-------|------|-------|-------|----------|----|
| <b>ANOVA DE UNA CLASIFICACIÓN</b> | Grupo 1 | 1       | Basal   | 10   | 5,02  | 0,96 | 0,3   | 0     | 1 vs 2   | sí |
|                                   |         | 2       | D60     | 10   | 2,8   | 0,3  | 0,1   |       | 1 vs 3   | sí |
|                                   |         | 3       | D120    | 5    | 2,68  | 0,73 | 0,33  |       | 2 vs 3   | no |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 5    | 5,1   | 0,61 | 0,27  | 0     | 1 vs 2   | sí |
|                                   |         | 2       | D60     | 5    | 2,98  | 0,58 | 0,26  |       | 1 vs 3   | sí |
|                                   |         | 3       | D120    | 5    | 3,2   | 0,22 | 0,1   |       | 2 vs 3   | no |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 4    | 6,33  | 1,28 | 0,64  | 0,003 | 1 vs 2   | sí |
|                                   |         | 2       | D60     | 4    | 3,25  | 0,58 | 0,29  |       | 1 vs 3   | sí |
|                                   |         | 3       | D120    | 2    | 2,55  | 0,21 | 0,15  |       | 2 vs 3   | no |
|                                   | Basal   | 1       | Grupo 1 | 10   | 5,02  | 0,96 | 0,3   | 0,089 |          |    |
|                                   |         | 2       | Grupo 2 | 5    | 5,1   | 0,61 | 0,27  |       |          |    |
|                                   |         | 3       | Grupo 3 | 4    | 6,33  | 1,28 | 0,64  |       |          |    |
| Día 60                            | 1       | Grupo 1 | 10      | 2,8  | 0,3   | 0,1  | 0,255 |       |          |    |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 2,98 | 0,58  | 0,26 |       |       |          |    |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 4       | 3,25 | 0,58  | 0,29 |       |       |          |    |
| Día 120                           | 1       | Grupo 1 | 5       | 2,68 | 0,73  | 0,33 | 0,228 |       |          |    |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 3,2  | 0,22  | 0,1  |       |       |          |    |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 2       | 2,55 | 0,21  | 0,15 |       |       |          |    |
| <b>ANOVA APAREADO</b>             | Grupo 1 | 1       | Basal   | 5    | 4,7   | 0,93 | 0,42  | 0,005 | 1 vs 2   | sí |
|                                   |         | 2       | D60     | 5    | 2,8   | 0,25 | 0,11  |       | 1 vs 3   | sí |
|                                   |         | 3       | D120    | 5    | 2,68  | 0,73 | 0,33  |       | 2 vs 3   | no |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 3    | 5,4   | 0,46 | 0,26  | 0,014 | 1 vs 2   | sí |
|                                   |         | 2       | D60     | 3    | 3,17  | 0,7  | 0,41  |       | 1 vs 3   | sí |
|                                   |         | 3       | D120    | 3    | 3,17  | 0,31 | 0,18  |       | 2 vs 3   | no |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 2    | 5,65  | 0,49 | 0,35  | 0,008 | 1 vs 2   | sí |
|                                   |         | 2       | D60     | 2    | 3,05  | 0,07 | 0,05  |       | 1 vs 3   | sí |
|                                   |         | 3       | D120    | 2    | 2,55  | 0,21 | 0,15  |       | 2 vs 3   | no |



## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS: PLAQUETAS

|                                   |         |         |         | N      | Media  | DE     | EE     |       |  |
|-----------------------------------|---------|---------|---------|--------|--------|--------|--------|-------|--|
| <b>ANOVA DE UNA CLASIFICACIÓN</b> | Grupo 1 | 1       | Basal   | 10     | 1007   | 444,72 | 140,63 | 0,35  |  |
|                                   |         | 2       | D60     | 10     | 959,1  | 420,1  | 132,85 |       |  |
|                                   |         | 3       | D120    | 5      | 1321,2 | 272,38 | 255,97 |       |  |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 5      | 1080,8 | 483,47 | 216,21 | 0,398 |  |
|                                   |         | 2       | D60     | 5      | 851,6  | 307,72 | 137,61 |       |  |
|                                   |         | 3       | D120    | 5      | 776,2  | 225,62 | 100,9  |       |  |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 4      | 852,75 | 472,5  | 236,25 | 0,669 |  |
|                                   |         | 2       | D60     | 4      | 872    | 413,37 | 206,68 |       |  |
|                                   |         | 3       | D120    | 2      | 549    | 335,17 | 237    |       |  |
|                                   | Basal   | 1       | Grupo 1 | 10     | 1007   | 444,72 | 140,63 | 0,758 |  |
|                                   |         | 2       | Grupo 2 | 5      | 1080,8 | 483,47 | 216,21 |       |  |
|                                   |         | 3       | Grupo 3 | 4      | 852,75 | 472,5  | 236,25 |       |  |
| Día 60                            | 1       | Grupo 1 | 10      | 959,1  | 420,1  | 132,85 | 0,863  |       |  |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 851,6  | 307,72 | 137,61 |        |       |  |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 4       | 874,5  | 409,45 | 204,73 |        |       |  |
| Día 120                           | 1       | Grupo 1 | 5       | 1321,2 | 575,38 | 255,97 | 0,089  |       |  |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 776,2  | 225,62 | 100,9  |        |       |  |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 2       | 549    | 335,17 | 237    |        |       |  |
| <b>ANOVA APAREADO</b>             | Grupo 1 | 1       | Basal   | 5      | 1265,8 | 515,08 | 230,35 | 0,495 |  |
|                                   |         | 2       | D60     | 5      | 1193,4 | 503,78 | 225,3  |       |  |
|                                   |         | 3       | D120    | 5      | 1321,2 | 572,38 | 255,97 |       |  |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 3      | 798,33 | 410,08 | 236,76 | 0,659 |  |
|                                   |         | 2       | D60     | 3      | 654,33 | 194,68 | 112,4  |       |  |
|                                   |         | 3       | D120    | 3      | 693,33 | 209,38 | 120,89 |       |  |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 2      | 481    | 254,56 | 180    | 0,572 |  |
|                                   |         | 2       | D60     | 2      | 539    | 217,79 | 154    |       |  |
|                                   |         | 3       | D120    | 2      | 549    | 335,17 | 237    |       |  |



## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS: HEMOGLOBINA

|                                   |         |         |         | N     | Media | DE   | EE    |       |
|-----------------------------------|---------|---------|---------|-------|-------|------|-------|-------|
| <b>ANOVA DE UNA CLASIFICACIÓN</b> | Grupo 1 | 1       | Basal   | 10    | 14,54 | 2,94 | 0,93  | 0,578 |
|                                   |         | 2       | D60     | 10    | 13,67 | 0,69 | 0,22  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 13,64 | 1,47 | 0,66  |       |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 5     | 13,66 | 1,28 | 0,57  | 0,352 |
|                                   |         | 2       | D60     | 5     | 12,98 | 1,41 | 0,63  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 12,58 | 0,54 | 0,24  |       |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 4     | 12,73 | 1,73 | 0,86  | 0,558 |
|                                   |         | 2       | D60     | 4     | 13,17 | 1,26 | 0,63  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 2     | 11,8  | 0,42 | 0,3   |       |
|                                   | Basal   | 1       | Grupo 1 | 10    | 14,54 | 2,94 | 0,93  | 0,447 |
|                                   |         | 2       | Grupo 2 | 5     | 13,66 | 1,28 | 0,57  |       |
|                                   |         | 3       | Grupo 3 | 4     | 12,73 | 1,73 | 0,86  |       |
| Día 60                            | 1       | Grupo 1 | 10      | 13,67 | 0,69  | 0,22 | 0,447 |       |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 12,98 | 1,41  | 0,63 |       |       |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 4       | 13,17 | 1,26  | 0,63 |       |       |
| Día 120                           | 1       | Grupo 1 | 5       | 13,64 | 1,47  | 0,66 | 0,133 |       |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 12,58 | 0,54  | 0,24 |       |       |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 2       | 11,8  | 0,42  | 0,3  |       |       |
| <b>ANOVA APAREADO</b>             | Grupo 1 | 1       | Basal   | 5     | 14,9  | 3,8  | 1,7   | 0,654 |
|                                   |         | 2       | D60     | 5     | 13,32 | 0,63 | 0,28  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 15,44 | 3,88 | 1,73  |       |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 3     | 12,8  | 0,44 | 0,25  | 0,867 |
|                                   |         | 2       | D60     | 3     | 12,97 | 1,97 | 1,14  |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 3     | 12,5  | 0,26 | 0,15  |       |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 2     | 11,65 | 1,2  | 0,85  | 0,601 |
|                                   |         | 2       | D60     | 2     | 12,6  | 0,57 | 0,4   |       |
|                                   |         | 3       | D120    | 2     | 11,8  | 0,42 | 0,3   |       |



## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS: GLÓBULOS ROJOS

|                                   |         |         | N       | Media | DE   | EE   | p     | p < 0.05 |         |
|-----------------------------------|---------|---------|---------|-------|------|------|-------|----------|---------|
| <b>ANOVA DE UNA CLASIFICACIÓN</b> | Grupo 1 | 1       | Basal   | 10    | 8,04 | 1,43 | 0,45  | 0,033    | no test |
|                                   |         | 2       | D60     | 10    | 7,03 | 0,26 | 0,08  |          |         |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 6,77 | 0,65 | 0,29  |          |         |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 5     | 7,25 | 0,77 | 0,34  | 0,206    |         |
|                                   |         | 2       | D60     | 5     | 6,87 | 0,83 | 0,37  |          |         |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 6,43 | 0,33 | 0,15  |          |         |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 4     | 6,85 | 0,88 | 0,44  | 0,476    |         |
|                                   |         | 2       | D60     | 4     | 6,84 | 0,69 | 0,34  |          |         |
|                                   |         | 3       | D120    | 2     | 6,09 | 0,21 | 0,15  |          |         |
|                                   | Basal   | 1       | Grupo 1 | 10    | 7,84 | 1,49 | 0,47  | 0,376    |         |
|                                   |         | 2       | Grupo 2 | 5     | 7,25 | 0,77 | 0,34  |          |         |
|                                   |         | 3       | Grupo 3 | 4     | 6,85 | 0,88 | 0,44  |          |         |
|                                   | Día 60  | 1       | Grupo 1 | 10    | 7,03 | 0,26 | 0,08  | 0,799    |         |
|                                   |         | 2       | Grupo 2 | 5     | 6,87 | 0,83 | 0,37  |          |         |
|                                   |         | 3       | Grupo 3 | 4     | 6,84 | 0,69 | 0,34  |          |         |
| Día 120                           | 1       | Grupo 1 | 5       | 6,77  | 0,65 | 0,29 | 0,272 |          |         |
|                                   | 2       | Grupo 2 | 5       | 6,44  | 0,33 | 0,15 |       |          |         |
|                                   | 3       | Grupo 3 | 2       | 6,09  | 0,21 | 0,15 |       |          |         |
| <b>ANOVA APAREADO</b>             | Grupo 1 | 1       | Basal   | 5     | 8,02 | 1,91 | 0,86  | 0,294    |         |
|                                   |         | 2       | D60     | 5     | 6,86 | 0,2  | 0,09  |          |         |
|                                   |         | 3       | D120    | 5     | 6,77 | 0,65 | 0,29  |          |         |
|                                   | Grupo 2 | 1       | Basal   | 3     | 6,76 | 0,47 | 0,27  | 0,538    |         |
|                                   |         | 2       | D60     | 3     | 6,9  | 1,16 | 0,67  |          |         |
|                                   |         | 3       | D120    | 3     | 6,39 | 0,29 | 0,16  |          |         |
|                                   | Grupo 3 | 1       | Basal   | 2     | 6,32 | 0,71 | 0,5   | 0,84     |         |
|                                   |         | 2       | D60     | 2     | 6,48 | 0,54 | 0,38  |          |         |
|                                   |         | 3       | D120    | 2     | 6,09 | 0,21 | 0,15  |          |         |



## RESULTADOS COMPLEMENTARIOS

### ANIMALES CON MOCO

| Mtra     | Sexo | Edad | ER     | Leuco  | G Rojos | Hemog  | Hto   | Plaq   | Linfo | Linfo  | Prot tot |
|----------|------|------|--------|--------|---------|--------|-------|--------|-------|--------|----------|
|          |      | años | UAF    | mil/mm | mill/mm | grs/dl | %     | mil/mm | %     | mil/mm | gr/l     |
| 1        | M    | 12   | 122    | 5,5    | 4,86    | 8,3    | 24,4  | 227    | 54,1  | 3      | 5,8      |
| 2        | H    | 9    | 87     | 3,7    | 6,54    | 11,6   | 31,1  | 698    | 62    | 2,3    | 5,99     |
| 3        | M    | 7    | 152    | 3,9    | 7,15    | 12,6   | 35,5  | 504    | 45    | 1,8    | 6,55     |
| 4        | M    | 11   | 59     | 2,9    | 7,56    | 14     | 37,5  | 378    | 50,2  | 1,4    | 6,19     |
| 5        | H    | 7    | 104    | 2      | 2,7     | 4,3    | 12,2  | 444    | 74,9  | 1,5    | 6,13     |
| PROMEDIO |      | 9,20 | 104,80 | 3,60   | 5,76    | 10,16  | 28,14 | 450,20 | 57,24 | 2,00   | 6,13     |
| DS       |      | 2,28 | 35,14  | 1,30   | 2,00    | 3,89   | 10,23 | 172,75 | 11,66 | 0,66   | 0,28     |



## RESULTADOS COMPLEMENTARIOS

### RESULTADOS DEL ESTALLIDO RESPIRATORIO

| Estallido Respiratorio |          |        |       |       |
|------------------------|----------|--------|-------|-------|
| ID                     | Basal    | D60    | D120  |       |
| Grupo 1                | 431      | 495    | 513   | 584   |
|                        | 424      | 590    | 612   |       |
|                        | 220      | 412    | 452   | 508   |
|                        | 250      | 548    | 580   |       |
|                        | 506      | 415    | 512   | 500   |
|                        | 625      | 624    | 650   |       |
|                        | 434      | 614    | 612   | 642   |
|                        | 550      | 478    | 458   | 505   |
|                        | 382      | 647    | 563   |       |
|                        | 24       | 497    | 502   |       |
|                        | Promedio | 532,0  | 545,4 | 547,8 |
|                        | DS       | 85,40  | 68,09 | 63,02 |
| Grupo 2                | 35       | 518    | 516   | 405   |
|                        | 580      | 225    | 456   | 402   |
|                        | 758      | 412    | 489   | 412   |
|                        | 541      | 523    | 420   |       |
|                        | 577      | 511    | 501   |       |
|                        | 425      |        |       | 415   |
|                        | 669      |        |       | 422   |
|                        | Promedio | 437,8  | 476,4 | 411,2 |
|                        | DS       | 127,47 | 38,50 | 7,98  |
| Grupo 3                | 219      | 488    | 476   | 402   |
|                        | 502      | 625    | 602   |       |
|                        | 633      | 742    | 654   | 402   |
|                        | 163      | 470    | 489   |       |
|                        | Promedio | 581,3  | 555,3 | 402,0 |
|                        | DS       | 127,58 | 86,81 | 0,00  |



## RESULTADOS COMPLEMENTARIOS

### HEMO

| ID   | Hto   |       |       | Leucocitos |       |       | Glóbulos Rojos |       |       | Hemoglobina |       |       | Plaquetas   |        |        | Linfocitos |       |       | Linfocitos  |      |      |    |    |
|------|-------|-------|-------|------------|-------|-------|----------------|-------|-------|-------------|-------|-------|-------------|--------|--------|------------|-------|-------|-------------|------|------|----|----|
|      | %     |       |       | mil / mm3  |       |       | mill / l       |       |       | g / dl      |       |       | miles / mm3 |        |        | %          |       |       | miles / mm3 |      |      |    |    |
|      | M1    | M2    | M3    | M1         | M2    | M3    | M1             | M2    | M3    | M1          | M2    | M3    | M1          | M2     | M3     | M1         | M2    | M3    | M1          | M2   | M3   | M1 | M2 |
| 431  | 56,2  | 37,5  | 29,1  | 7,6        | 8     | 12,2  | 10,93          | 6,68  | 6,17  | 21          | 12,8  | 12,3  | 1604        | 1075   | 1162   | 45,6       | 25,8  | 27    | 3,4         | 2,8  | 3,3  |    |    |
| 424  | 37,6  | 34,1  |       | 11,7       | 8,4   |       | 7,4            | 7,04  |       | 13,5        | 14,1  |       | 841         | 835    |        | 36         | 26,1  |       | 4,2         | 2,2  |      |    |    |
| 220  | 31,8  | 33,7  | 29,5  | 10,7       | 9,8   | 10,5  | 6,52           | 7,13  | 6,32  | 11,6        | 14    | 12,9  | 1129        | 1236   | 1393   | 51,5       | 28,3  | 32,2  | 5,5         | 2,8  | 3,4  |    |    |
| 250  | 48,7  | 36,2  |       | 13,3       | 12,1  |       | 9,12           | 7,29  |       | 17          | 14    |       | 703         | 685    |        | 44,6       | 23,6  |       | 6           | 2,8  |      |    |    |
| 506  | 43,5  | 43,8  | 31,8  | 9,2        | 8,9   | 8,8   | 8,42           | 6,97  | 6,45  | 15,3        | 13,3  | 12,9  | 1000        | 1056   | 1132   | 48,2       | 27,9  | 27,9  | 4,4         | 2,5  | 2,4  |    |    |
| 625  | 44,2  | 37    |       | 10,5       | 9,9   |       | 8,5            | 7,5   |       | 15,9        | 14,6  |       | 867         | 747    |        | 55         | 30,7  |       | 5,8         | 3    |      |    |    |
| 434  | 29,4  | 32,3  | 36,6  | 10,8       | 11,7  | 15,5  | 6,08           | 6,83  | 7,6   | 11,8        | 13,9  | 16    | 1952        | 1992   | 2236   | 41,7       | 23,1  | 17,4  | 4,5         | 2,7  | 2,7  |    |    |
| 550  | 41,7  | 32,7  | 36,3  | 10,6       | 11,6  | 12,6  | 8,14           | 6,67  | 7,33  | 14,8        | 12,6  | 14,1  | 644         | 608    | 683    | 53,5       | 27,4  | 13    | 5,7         | 3,2  | 1,6  |    |    |
| 382  | 34,1  | 34,5  |       | 7,5        | 13,6  |       | 6,77           | 6,98  |       | 12,4        | 13    |       | 737         | 732    |        | 58,6       | 20,4  |       | 4,4         | 2,8  |      |    |    |
| 24   | 34    | 35,6  |       | 11,7       | 9,6   |       | 6,56           | 7,19  |       | 12,1        | 14,4  |       | 593         | 625    |        | 53,8       | 33,8  |       | 6,3         | 3,2  |      |    |    |
| Prom | 40,12 | 35,74 | 32,66 | 10,36      | 10,36 | 11,92 | 7,844          | 7,028 | 6,774 | 14,54       | 13,67 | 13,64 | 1007        | 959,1  | 1321,2 | 48,85      | 26,71 | 23,5  | 5,02        | 2,8  | 2,68 |    |    |
| DS   | 8,35  | 3,32  | 3,61  | 1,82       | 1,81  | 2,51  | 1,49           | 0,26  | 0,65  | 2,94        | 0,69  | 1,47  | 444,72      | 420,10 | 572,38 | 6,92       | 3,86  | 7,98  | 0,96        | 0,30 | 0,73 |    |    |
| 35   | 37,4  | 38,3  | 33,1  | 9,7        | 10,3  | 10,5  | 7,28           | 7,84  | 6,72  | 13,3        | 14,3  | 12,8  | 789         | 844    | 859    | 50,5       | 29,8  | 29,4  | 4,9         | 3,1  | 3,1  |    |    |
| 580  | 35,6  | 37,4  | 32,1  | 10,7       | 11    | 8,3   | 6,62           | 7,25  | 6,19  | 12,5        | 13,9  | 12,3  | 393         | 455    | 458    | 51,1       | 35,8  | 35,6  | 5,5         | 3,9  | 2,9  |    |    |
| 541  | 40,7  | 33,1  |       | 9,2        | 7,9   |       | 8,21           | 7,03  |       | 15,5        | 13,3  |       | 1494        | 1222   |        | 46,2       | 31,1  |       | 4,2         | 2,5  |      |    |    |
| 577  | 38,4  | 32,5  |       | 9,4        | 8,1   |       | 7,78           | 6,64  |       | 14,4        | 12,7  |       | 1515        | 1073   |        | 54,5       | 36,5  |       | 5,1         | 2,9  |      |    |    |
| 758  | 32,1  | 35,9  | 31,2  | 10,4       | 8,5   | 10    | 6,37           | 5,61  | 6,27  | 12,6        | 10,7  | 12,4  | 1213        | 664    | 763    | 56         | 29,8  | 35,2  | 5,8         | 2,5  | 3,5  |    |    |
| 425  |       |       | 30    |            |       | 9,2   |                |       | 6,15  |             |       | 12    |             |        | 721    |            |       | 35,9  |             |      | 3,3  |    |    |
| 669  |       |       | 32,3  |            |       | 12,6  |                |       | 6,86  |             |       | 13,4  |             |        | 1080   |            |       | 25,7  |             |      | 3,2  |    |    |
| Prom | 36,84 | 35,44 | 31,74 | 9,88       | 9,16  | 10,12 | 7,252          | 6,874 | 6,438 | 13,66       | 12,98 | 12,58 | 1080,8      | 851,6  | 776,2  | 51,66      | 32,6  | 32,36 | 5,1         | 2,98 | 3,2  |    |    |
| DS   | 3,23  | 2,57  | 1,18  | 0,65       | 1,40  | 1,62  | 0,77           | 0,83  | 0,33  | 1,28        | 1,41  | 0,54  | 483,47      | 307,72 | 225,62 | 3,82       | 3,29  | 4,59  | 0,61        | 0,58 | 0,22 |    |    |
| 219  | 31,6  | 35,9  | 31    | 11,1       | 10,7  | 11,1  | 5,82           | 6,86  | 5,95  | 10,8        | 13    | 11,5  | 301         | 385    | 312    | 54,4       | 28,1  | 24,7  | 6           | 3,1  | 2,7  |    |    |
| 502  | 40,5  | 38,1  |       | 14         | 11,3  |       | 7,98           | 7,75  |       | 15          | 15    |       | 1063        | 1309   |        | 41,5       | 25,3  |       | 5,8         | 2,8  |      |    |    |
| 633  | 34,8  | 30    | 30,5  | 9,1        | 9,6   | 7     | 6,82           | 6,1   | 6,24  | 12,5        | 12,2  | 12,1  | 661         | 693    | 786    | 58,3       | 31    | 35,1  | 5,3         | 3    | 2,4  |    |    |
| 163  | 33,2  | 32,2  |       | 15,4       | 14,4  |       | 6,76           | 6,66  |       | 12,6        | 12,5  |       | 1386        | 1101   |        | 53,3       | 28,4  |       | 8,2         | 4,1  |      |    |    |
| Prom | 35,03 | 34,05 | 30,75 | 12,40      | 11,50 | 9,05  | 6,85           | 6,84  | 6,10  | 12,73       | 13,18 | 11,80 | 852,75      | 872,00 | 549,00 | 51,88      | 28,20 | 29,90 | 6,33        | 3,25 | 2,55 |    |    |
| DS   | 3,88  | 3,64  | 0,35  | 2,84       | 2,06  | 2,90  | 0,88           | 0,69  | 0,21  | 1,73        | 1,26  | 0,42  | 472,50      | 413,37 | 335,17 | 7,24       | 2,33  | 7,35  | 1,28        | 0,58 | 0,21 |    |    |



## RESULTADOS COMPLEMENTARIOS

### BIOQUÍMICO

| Identificación |    |    |    | Peso Kg |        |        | Creat mg / dl |        |        | ProTot g / dl |        |        | Urea mg / dl |        |        | BiTot mg / dl |        |       | BDir mg / dl |        |        |      |  |
|----------------|----|----|----|---------|--------|--------|---------------|--------|--------|---------------|--------|--------|--------------|--------|--------|---------------|--------|-------|--------------|--------|--------|------|--|
| RP             | M1 | M2 | M3 | M1      | M2     | M3     | M1            | M2     | M3     | M1            | M2     | M3     | M1           | M2     | M3     | M1            | M2     | M3    | M1           | M2     | M3     |      |  |
| 431            | 1  | 8  | 9  | 432     | 422    | 445    | 1,04          | 1,08   | 1,14   | 7,5           | 7,62   | 7,37   | 40           | 42     | 36     | 0,53          | 0,47   | 0,44  | 0,18         | 0,12   | 0,1    |      |  |
| 424            | 3  | 11 |    | 448     | 445    |        | 1,12          | 1,02   |        | 6,85          | 7,18   |        | 66           | 57     |        | 0,50          | 0,5    |       | 0,16         | 0,16   |        |      |  |
| 220            | 4  | 10 | 12 | 438     | 425    | 420    | 1,08          | 1,14   | 1,5    | 6,48          | 6,79   | 7,02   | 57           | 40     | 65     | 0,48          | 0,45   | 0,43  | 0,15         | 0,12   | 0,13   |      |  |
| 250            | 5  | 2  |    | 385     | 365    |        | 1,19          | 0,93   |        | 7,07          | 6,6    |        | 43           | 47     |        | 0,43          | 0,44   |       | 0,12         | 0,11   |        |      |  |
| 506            | 7  | 14 | 1  | 420     | 382    | 340    | 1,07          | 1      | 1,27   | 6,9           | 7,12   | 6,46   | 38           | 40     | 41     | 0,45          | 0,42   | 0,66  | 0,15         | 0,10   | 0,22   |      |  |
| 625            | 8  | 13 |    | 410     | 426    |        | 1,27          | 1,04   |        | 6,98          | 6,93   |        | 47           | 49     |        | 0,47          | 0,57   |       | 0,13         | 0,19   |        |      |  |
| 434            | 9  | 4  | 7  | 410     | 420    | 410    | 1,09          | 1,03   | 1,74   | 7,02          | 7,33   | 7,82   | 52           | 43     | 81     | 0,48          | 0,47   | 0,49  | 0,14         | 0,10   | 0,11   |      |  |
| 550            | 12 | 7  | 3  | 410     | 406    | 399    | 1,05          | 1,07   | 1,71   | 7,54          | 6,99   | 7,16   | 45           | 32     | 77     | 0,51          | 0,56   | 0,88  | 0,14         | 0,16   | 0,18   |      |  |
| 382            | 14 | 15 |    | 450     | 450    |        | 1,19          | 1,19   |        | 7,19          | 7,75   |        | 41           | 44     |        | 0,45          | 0,48   |       | 0,12         | 0,10   |        |      |  |
| 24             | 10 | 12 |    | 447     | 410    |        | 0,85          | 0,94   |        | 6,98          | 7,91   |        | 42           | 36     |        | 0,44          | 0,42   |       | 0,10         | 0,12   |        |      |  |
| PROMEDIO       |    |    |    | 425,0   | 415,1  | 402,8  | 1,1           | 1,0    | 1,5    | 7,1           | 7,2    | 7,2    | 47,1         | 43,0   | 60,0   | 0,5           | 0,5    | 0,6   | 0,1          | 0,1    | 0,1    |      |  |
| DESVIO         |    |    |    | 21,49   | 26,07  | 39,01  | 0,11          | 0,08   | 0,26   | 0,31          | 0,43   | 0,50   | 8,80         | 6,98   | 20,57  | 0,03          | 0,05   | 0,19  | 0,02         | 0,03   | 0,05   |      |  |
| 35             | 2  | 9  | 11 | 465     | 466    | 475    | 1,25          | 1,14   | 1,5    | 7,47          | 7,57   | 7,75   | 39           | 52     | 55     | 0,51          | 0,42   | 0,48  | 0,16         | 0,10   | 0,16   |      |  |
| 580            | 13 | 6  | 4  | 475     | 461    | 470    | 1,03          | 0,98   | 1,48   | 7,83          | 7,42   | 7,34   | 54           | 39     | 57     | 0,43          | 0,48   | 0,79  | 0,10         | 0,13   | 0,19   |      |  |
| 541            | 18 | 19 |    | 423     | 433    |        | 1,23          | 1,49   |        | 6,75          | 7,24   |        | 44           | 47     |        | 0,54          | 0,51   |       | 0,16         | 0,14   |        |      |  |
| 577            | 19 | 1  |    | 415     | 480    |        | 1,25          | 0,93   |        | 6,7           | 6,93   |        | 46           | 48     |        | 0,58          | 0,47   |       | 0,14         | 0,13   |        |      |  |
| 758            | 21 | 5  | 10 | 510     | 517    | 509    | 0,88          | 0,88   | 1,31   | 7,19          | 7,49   | 6,97   | 48           | 45     | 59     | 0,42          | 0,46   | 0,44  | 0,09         | 0,12   | 0,11   |      |  |
| 425            |    |    | 2  |         |        | 450    |               |        | 1,58   |               |        | 7,72   |              |        | 36     |               |        | 0,85  |              |        | 0,25   |      |  |
| 669            |    |    | 5  |         |        | 410    |               |        | 1,41   |               |        | 7,24   |              |        | 62     |               |        | 0,66  |              |        | 0,22   |      |  |
| PROMEDIO       |    |    |    | 457,6   | 471,4  | 462,8  | 1,128         | 1,084  | 1,456  | 7,188         | 7,33   | 7,404  | 46,2         | 46,2   | 53,8   | 0,496         | 0,468  | 0,644 | 0,13         | 0,124  | 0,186  |      |  |
| DESVIO         |    |    |    | 39,1    | 30,681 | 36,355 | 0,1668        | 0,247  | 0,1016 | 0,48          | 0,2547 | 0,3313 | 5,4955       | 4,7645 | 10,281 | 0,0695        | 0,0327 | 0,182 | 0,0332       | 0,0152 | 0,0541 |      |  |
| 219            | 11 | 17 | 6  | 460     | 434    | 477    | 0,45          | 0,99   | 1,1    | 7,05          | 7,19   | 6,76   | 44           | 46     | 49     | 0,54          | 0,43   | 0,47  | 0,17         | 0,10   | 0,13   |      |  |
| 502            | 6  | 3  |    | 448     | 475    |        | 1,46          | 1,07   |        | 6,97          | 7,37   |        | 46           | 44     |        | 0,56          | 0,49   |       | 0,19         | 0,12   |        |      |  |
| 633            | 15 | 18 | 8  | 455     | 466    | 461    | 0,93          | 1,16   | 1,11   | 6,44          | 6,36   | 6,26   | 55           | 38     | 54     | 0,48          | 0,44   | 0,51  | 0,15         | 0,11   | 0,13   |      |  |
| 163            | 20 | 16 |    | 435     | 465    |        | 1,04          | 0,87   |        | 7,3           | 6,77   |        | 45           | 46     |        | 0,54          | 0,4    |       | 0,14         | 0,08   |        |      |  |
| PROMEDIO       |    |    |    | 449,5   | 460    | 469    | 0,97          | 1,0225 | 1,105  | 6,94          | 6,9225 | 6,51   | 47,5         | 43,5   | 51,5   | 0,53          | 0,44   | 0,49  | 0,1625       | 0,1025 | 0,13   |      |  |
| DESVIO         |    |    |    | 10,85   | 17,91  | 11,31  | 0,42          | 0,12   | 0,01   | 0,36          | 0,45   | 0,35   | 5,07         | 3,79   | 3,54   | 0,03          | 0,04   | 0,03  | 0,02         | 0,02   | 0,02   | 0,00 |  |



## RESULTADOS COMPLEMENTARIOS

### BIOQUÍMICO

| ID  | Cole<br>mg / dl |       |       | TGP<br>UI / l |       |       | TGO<br>UI / l |        |        | GGT<br>UI / l |       |       | Fal<br>UI / l |       |        | Calcio<br>mg / dl |       |       | Fosf<br>mg / dl |       |       |
|-----|-----------------|-------|-------|---------------|-------|-------|---------------|--------|--------|---------------|-------|-------|---------------|-------|--------|-------------------|-------|-------|-----------------|-------|-------|
|     | RP              | M1    | M2    | M3            | M1    | M2    | M3            | M1     | M2     | M3            | M1    | M2    | M3            | M1    | M2     | M3                | M1    | M2    | M3              | M1    | M2    |
| 431 | 85              | 125   | 113   | 25            | 20    | 21    | 350           | 492    | 460    | 32            | 34    | 33    | 778           | 808   | 641    | 8,81              | 11,05 | 11,1  | 3,75            | 4,09  | 4,08  |
| 424 | 90              | 106   |       | 32            | 32    |       | 390           | 478    |        | 34            | 29    |       | 845           | 632   |        | 8,13              | 10,38 |       | 4,09            | 4,02  |       |
| 220 | 82              | 89    | 94    | 44            | 22    | 47    | 180           | 535    | 650    | 25            | 31    | 27    | 580           | 518   | 468    | 8,6               | 10,49 | 10,4  | 3,08            | 3,46  | 4,07  |
| 250 | 92              | 85    |       | 35            | 30    |       | 367           | 467    |        | 41            | 34    |       | 885           | 661   |        | 10,6              | 10,96 |       | 3,46            | 4,23  |       |
| 506 | 95              | 87    | 92    | 37            | 21    | 25    | 200           | 374    | 412    | 33            | 27    | 22    | 591           | 539   | 476    | 7,97              | 10,24 | 10,5  | 5,19            | 3,73  | 3,36  |
| 625 | 86              | 90    |       | 65            | 50    |       | 610           | 540    |        | 35            | 30    |       | 682           | 551   |        | 8,19              | 10,36 |       | 3,03            | 3,65  |       |
| 434 | 85              | 96    | 123   | 33            | 30    | 76    | 389           | 411    | 666    | 30            | 21    | 34    | 835           | 675   | 725    | 9,42              | 11,95 | 13,5  | 3,19            | 3,54  | 4,71  |
| 550 | 74              | 81    | 91    | 27            | 25    | 35    | 298           | 433    | 566    | 34            | 23    | 29    | 531           | 553   | 614    | 6,53              | 10,63 | 12,4  | 5,39            | 3,27  | 4,24  |
| 382 | 96              | 95    |       | 36            | 31    |       | 420           | 507    |        | 29            | 26    |       | 504           | 629   |        | 5,65              | 11,95 |       | 3,72            | 3,14  |       |
| 24  | 81              | 82    |       | 26            | 245   |       | 310           | 835    |        | 33            | 25    |       | 733           | 726   |        | 8,69              | 10,55 |       | 3,89            | 4,94  |       |
| M   | 86,6            | 93,6  | 102,6 | 36,0          | 50,6  | 40,8  | 351,4         | 507,2  | 550,8  | 32,6          | 28,0  | 29,0  | 696,4         | 629,2 | 584,8  | 8,3               | 10,9  | 11,6  | 3,9             | 3,8   | 4,1   |
| DE  | 6,80            | 13,30 | 14,54 | 11,71         | 68,84 | 22,10 | 120,92        | 126,71 | 112,75 | 4,20          | 4,40  | 4,85  | 139,08        | 92,42 | 110,85 | 1,39              | 0,63  | 1,34  | 0,82            | 0,53  | 0,48  |
| 35  | 87              | 86    | 76    | 41            | 27    | 47    | 193           | 403    | 485    | 20            | 29    | 23    | 833           | 608   | 611    | 9,55              | 10,57 | 11,2  | 3,99            | 4,09  | 3,97  |
| 580 | 94              | 87    | 90    | 33            | 31    | 27    | 360           | 471    | 569    | 41            | 26    | 26    | 788           | 457   | 798    | 5,52              | 11,04 | 10,2  | 4,72            | 3,23  | 3,25  |
| 541 | 95              | 85    |       | 16            | 12    |       | 192           | 280    |        | 20            | 18    |       | 451           | 372   |        | 7,24              | 12,28 |       | 2,63            | 2,91  |       |
| 577 | 72              | 74    |       | 56            | 24    |       | 435           | 359    |        | 19            | 22    |       | 516           | 434   |        | 8,32              | 10,78 |       | 3,37            | 3,63  |       |
| 758 | 97              | 90    | 111   | 67            | 37    | 27    | 290           | 535    | 543    | 27            | 24    | 22    | 763           | 518   | 650    | 9,01              | 10,72 | 12,2  | 2,59            | 3,96  | 3,6   |
|     |                 |       | 94    |               |       | 8     |               |        | 580    |               |       | 25    |               |       | 533    |                   |       | 10,8  |                 |       | 4,35  |
|     |                 |       | 77    |               |       | 31    |               |        | 545    |               |       | 25    |               |       | 567    |                   |       | 10,4  |                 |       | 4,97  |
| M   | 89              | 84,4  | 89,6  | 42,6          | 26,2  | 28    | 294           | 409,6  | 544,4  | 25,4          | 23,8  | 24,2  | 670,2         | 477,8 | 631,8  | 7,928             | 11,08 | 10,96 | 3,46            | 3,564 | 4,028 |
| DE  | 10,22           | 6,107 | 14,33 | 19,86         | 9,311 | 13,89 | 105,9         | 98,61  | 36,75  | 9,29          | 4,147 | 1,643 | 173,8         | 89,6  | 102,9  | 1,599             | 0,693 | 0,792 | 0,911           | 0,494 | 0,668 |
| 219 | 74              | 77    | 81    | 23            | 27    | 30    | 325           | 438    | 487    | 37            | 30    | 30    | 617           | 619   | 592    | 4,99              | 9,37  | 10,5  | 3,77            | 4,84  | 3,53  |
| 502 | 91              | 98    |       | 24            | 27    |       | 378           | 416    |        | 36            | 23    |       | 910           | 575   |        | 8,82              | 11,22 |       | 3,93            | 3,58  |       |
| 633 | 77              | 64    | 69    | 51            | 21    | 53    | 160           | 341    | 457    | 33            | 20    | 19    | 758           | 575   | 512    | 8,01              | 10,73 | 10,9  | 4,9             | 2,79  | 4,11  |
| 163 | 78              | 71    |       | 39            | 18    |       | 455           | 322    |        | 24            | 23    |       | 660           | 410   |        | 8,54              | 9,96  |       | 2,82            | 3,18  |       |
| M   | 80              | 77,5  | 75    | 34,25         | 23,25 | 41,5  | 329,5         | 379,3  | 472    | 32,5          | 24    | 24,5  | 736,3         | 544,8 | 552    | 7,59              | 10,32 | 10,7  | 3,855           | 3,598 | 3,82  |
| DE  | 7,53            | 14,66 | 8,49  | 13,35         | 4,50  | 16,26 | 124,97        | 56,40  | 21,21  | 5,92          | 4,24  | 7,78  | 130,00        | 92,20 | 56,57  | 1,77              | 0,82  | 0,28  | 0,85            | 0,89  | 0,41  |