

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
DOCTORADO EN CIENCIA ANIMAL**



**“EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE GLUTAMINA, LEUCINA,
ISOLEUCINA Y VALINA EN LA INMUNIDAD DE CANINOS EN LA
ETAPA DEL DESTETE”**

Presentada por:

RENÁN PATRICIO MENA PÉREZ

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR
DOCTORIS PHILOSOPHIAE EN CIENCIA ANIMAL**

Lima – Perú

2023

Document Information

Analyzed document	TESIS RENAN MENA EPG.docx (D162481171)
Submitted	2023-03-29 04:35:00
Submitted by	
Submitter email	mvillanueva@lamolina.edu.pe
Similarity	0%
Analysis address	mvillanueva.unalm@analysis.orkund.com

Sources included in the report

Entire Document

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA ESCUELA DE POSGRADO DOCTORADO EN CIENCIA ANIMAL
PROYECTO DE TESIS: "EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE GLUTAMINA, LEUCINA, ISOLEUCINA Y VALINA EN LA INMUNIDAD DE CANINOS EN LA ETAPA DEL DESTETE"
EJECUTOR: Renán Patricio Mena Pérez
ASESOR:
La Molina, 2022
VB: María Elena Villanueva Espinoza
UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA ESCUELA DE POSGRADO
DOCTORADO EN CIENCIA ANIMAL
"EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE GLUTAMINA, LEUCINA, ISOLEUCINA Y VALINA EN LA INMUNIDAD DE CANINOS EN LA ETAPA DEL DESTETE"
TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO DE DOCTOR DOCTORIS PHILOSOPHIAE EN CIENCIA ANIMAL
Presentada por: RENAN PATRICIO MENA PEREZ
Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:
Dra. Haydee Cárdenas de Jurado Dra. María Elena Villanueva Espinoza PRESIDENTE ASESORA
Ph.D Carlos Gómez Bravo Ph.D Víctor Guevara Carrasco MIEMBRO MIEMBRO
Ph.D Raúl Rosadio Alcántara MIEMBRO EXTERNO
DEDICATORIA
A Dios, sustento y paz a lo largo de este trayecto.
A mi esposa María del Carmen, a mis hijos María José y Martín, ustedes son la fuente de inspiración diaria y su apoyo el pilar fundamental para la consecución de mis metas.
A mis padres y hermanos, por ser parte de mis inicios, quienes además sienten como propio el logro alcanzado.
AGRADECIMIENTOS
Un agradecimiento especial a mi asesora Dra. María Elena Villanueva Espinoza, gracias por su esfuerzo compartido para la culminación de mi investigación, más aun, gracias por su ejemplo de profesionalismo, ética y empatía, valores que espero cultivar para emplearlo en mis actividades docentes.
A toda la planta docente del programa de Doctorado en Ciencia Animal de la Universidad Agraria La Molina, en particular al Dr. Gustavo Gutiérrez Reinoso coordinador del programa, estimados profesores sus conocimientos y experiencia fueron fundamentales para alcanzar este objetivo.
A La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Central del Ecuador, a la Dirección de Investigación y Doctorados, por el acompañamiento y la concesión de los fondos necesarios para la ejecución del presente proyecto.
INDICE GENERAL
I. INTRODUCCIÓN 1 II. REVISIÓN DE LITERATURA 4 2.1 Nutrición y alimentación de Caninos 4 2.1.1 Generalidades 4 2.1.2 Tipos de alimentos balanceados 5 2.2 Nutrición e inmunidad del Cachorro 8 2.2.1 Cuidados y alimentación de la perra gestante 8 2.2.2 Alimentación del perinato y neonato canino 11 2.2.3 El Destete 17 2.2.4 Cuidados y nutrición del cachorro 19 III. MATERIALES Y METODOS 43 3.1 Lugar del estudio 43 3.2 Animales en estudio 43 3.3 Dieta y Suplementación 44 3.4 Condiciones de los neonatos antes del muestreo 49 3.5 Toma de muestras y análisis Sanguíneos 49 3.5.1 Hemograma 49 3.5.2 Bioquímica sanguínea 50 3.5.3 IgM e IgG Distemper Canino 50 3.6 Análisis Estadístico 53 3.7 Aspectos Éticos 55 IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 56 4.1 Parámetros hematológicos, bioquímicos e inmunológicos a los 30 días de edad. 56 4.2.1 Parámetros Hematológicos a los 30 días de edad 56 4.2.2 Parámetros bioquímicos a los 30 días de edad 62 4.2.3 Parámetros Inmunológicos a los 30 días de edad 67 4.3 Efecto de la suplementación de glutamina y BCCA sobre los parámetros hematológicos, bioquímicos e inmunológicos de los cachorros a los 100 y 120 días de edad 71 4.3.1 Efecto de la suplementación sobre los parámetros Hematológicos 71 4.3.2 Efecto de la suplementación sobre los parámetros bioquímicos 75 4.3.3 Efecto de la suplementación sobre los parámetros Inmunológicos 77 4.4 Efecto de la suplementación de glutamina y BCCA sobre el desarrollo de los animales en estudio 87 V. CONCLUSIONES 90 VI. RECOMENDACIONES 92 VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 94 VIII. ANEXOS 107 LISTA DE TABLAS
Tabla 1. Clasificación de los alimentos para animales de compañía 7

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA
ESCUELA DE POSGRADO**

DOCTORADO EN CIENCIA ANIMAL

**“EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE GLUTAMINA, LEUCINA,
ISOLEUCINA Y VALINA EN LA INMUNIDAD DE CANINOS EN LA ETAPA
DEL DESTETE”**

TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO DE DOCTOR

Doctoris Philosophiae

Presentada por:

RENÁN PATRICIO MENA PÉREZ

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Dra. Haydee Cárdenas de Jurado

PRESIDENTE

Dra. ~~Elia~~ Villanueva Espinoza

ASESORA

Ph.D Carlos Gómez Bravo

MIEMBRO

Ph.D Víctor Guevara Carrasco

MIEMBRO

Ph.D ~~Raúl~~ Rosadio Alcántara

MIEMBRO EXTERNO



ACTA DE SUSTENTACIÓN

ASTD-EPG-UNALM: N° 14/2022

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos para evaluar la sustentación de tesis presentada por el alumno **RENÁN PATRICIO MENA PÉREZ**, titulada: "EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE GLUTAMINA, LEUCINA, ISOLEUCINA Y VALINA EN LA INMUNIDAD DE CANINOS EN LA ETAPA DEL DESTETE", para cumplir con uno de los requisitos para optar el grado académico de Doctor denominado *Doctoris Philosophiae* en **CIENCIA ANIMAL**.

Teniendo en consideración los méritos del referido trabajo así como los conocimientos demostrados por el sustentante, el Jurado otorga el siguiente calificativo:

<u>JURADO</u>	<u>CALIFICATIVO*</u>	<u>FIRMA</u>
Dra. Haydee Cárdenas de Jurado PRESIDENTE	T ^ ^ A ^ ^ } [
Ph.D. Carlos Gómez Bravo MIEMBRO	T ^ ^ A ^ ^ } [
Ph.D. Víctor Guevara Carrasco MIEMBRO	T ^ ^ A ^ ^ } [
Dr. Raúl Rosadio Alcántara MIEMBRO EXTERNO	T ^ ^ A ^ ^ } [
Dra. María Elena Villanueva Espinoza ASESORA	T ^ ^ A ^ ^ } [
Siendo su calificativo final:	T W Y A O W O P U	

En consecuencia, queda en condición de ser considerado APTO por el Consejo Universitario y recibir el grado académico de *Doctoris Philosophiae* (Ph.D.), de conformidad con lo estipulado en el Artículo 103°, inciso c) del Reglamento de la Escuela de Posgrado.

La Molina, 27 de junio del 2022

(*). De acuerdo con el Artículo 102° de la Escuela de Posgrado, el calificativo de la sustentación será nominal: bueno, muy bueno o sobresaliente. El calificativo de sobresaliente deberá aplicarse solo si existe unanimidad.

DEDICATORIA

A Dios, sustento y paz a lo largo de este trayecto.

A mi esposa María del Carmen, a mis hijos María José y Martín, ustedes son la fuente de inspiración diaria y su apoyo el pilar fundamental para la consecución de mis metas.

A mis padres y hermanos, por ser parte de mis inicios, quienes además sienten como propio el logro alcanzado.

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento especial a mi asesora Dra. María Elena Villanueva Espinosa, gracias por su esfuerzo compartido para la culminación de mi investigación, más aun, gracias por su ejemplo de profesionalismo, ética y empatía, valores que espero cultivar para emplearlo en mis actividades docentes.

A toda la planta docente del programa de doctorado en Ciencia Animal de la Universidad Nacional Agraria La Molina, en particular al Dr. Gustavo Gutiérrez Reynoso coordinador del programa, estimados profesores sus conocimientos y experiencia fueron fundamentales para alcanzar este objetivo.

A la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Central del Ecuador, a la Dirección de Investigación y Doctorados, por el acompañamiento y la concesión de los fondos necesarios para la ejecución de la presente tesis.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Nutrición y alimentación de caninos	4
2.1.1 Generalidades	4
2.1.2 Tipos de alimentos balanceados	5
2.2 Nutrición e inmunidad del cachorro	8
2.2.1 Cuidados y alimentación de la perra gestante.....	8
2.2.2 Alimentación del perinato y neonato canino	11
2.2.3 El destete.....	17
2.2.4 Cuidados y nutrición del cachorro	19
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	42
3.1 Lugar del estudio	42
3.2 Animales en estudio	42
3.3 Dieta y suplementación	43
3.4 Condiciones de los neonatos antes del muestreo	47
3.5 Toma de muestras y análisis sanguíneos.....	47
3.5.1 Hemograma.....	48
3.5.2 Bioquímica sanguínea.....	48
3.5.3 IgM e IgG Distemper Canino	50
3.6 Análisis estadístico.....	51
3.7 Aspectos éticos	52
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	53
4.1 Parámetros hematológicos, bioquímicos e inmunológicos a los 30 días de edad.....	53
4.1.1 Parámetros hematológicos a los 30 días de edad.....	53
4.1.2 Parámetros bioquímicos a los 30 días de edad	59
4.2.3 Parámetros inmunológicos a los 30 días de edad	64
4.2 Efecto de la suplementación de glutamina y BBCA sobre los parámetros hematológicos, bioquímicos e inmunológicos de los cachorros a los 100 y 120 días de edad.....	68
4.2.1 Efecto de la suplementación sobre los parámetros hematológicos.....	68

4.2.2 Efecto de la suplementación sobre los parámetros bioquímicos	71
4.2.3 Efecto de la suplementación sobre los parámetros inmunológicos	73
4.3 Efecto de la suplementación de glutamina y BCCA sobre el desarrollo de los animales en estudio.....	83
V. CONCLUSIONES	88
VI. RECOMENDACIONES	90
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91
VIII. ANEXOS	106

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los alimentos para animales de compañía.....	7
Tabla 2. Comparación entre la composición del calostro y de la leche en una perra en lactación.....	13
Tabla 3. Comparación del contenido de macronutrientes de los sustitutos de leche comerciales comparados con la composición de la leche específica de la especie.	17
Tabla 4. Principales agentes infecciosos del tracto gastrointestinal en cachorros y su prevalencia.....	20
Tabla 5. Composición Nutricional de los Alimentos balanceados para cachorros	23
Tabla 6. Ejemplo del cálculo de requerimiento energético	25
Tabla 7. Clasificación General de los Aminoácidos.....	31
Tabla 8. Contenido de macronutrientes de los alimentos analizados.....	43
Tabla 9. Perfil de aminoácidos de los alimentos en estudio.....	45
Tabla 10. Programación de consumo de alimento por semana (90 días experimento)....	46
Tabla 11. Leucograma por camada y sexo.	54
Tabla 12. Eritrograma por camada y sexo.	56
Tabla 13. Plaquetograma por camada y sexo.	58
Tabla 14. Resultados de Bioquímica sanguínea a los 30 días.	60
Tabla 15. Niveles de Inmunoglobulinas Totales (IgG, IgM, IgA, IgE) en cachorros de 30 días de edad.	64
Tabla 16. Niveles de Inmunoglobulinas específicas para Distemper Canino (IgGDC, IgMDC) en cachorros de 30 días de edad.....	67
Tabla 17. Parámetros del hemograma por tratamiento a los 120 días de edad.....	69
Tabla 18. Parámetros bioquímicos por tratamiento a los 120 días de edad.....	72
Tabla 19. Resultados de la concentración plasmática de inmunoglobulinas totales antes y después de la suplementación glutamina y BCCA en los diferentes tratamientos.....	79
Tabla 20. Resultados de las inmunoglobulinas específicas para Distemper Canino antes y después de la suplementación de glutamina y BCCAs en los diferentes tratamientos.	80
Tabla 21. Variación de peso por tratamiento en 12 semanas y consumo total de alimento.	83
Tabla 22. Características de crecimiento de cachorros en 12 semanas por tratamiento.....	86

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ganancia de Peso en la Hembra Canina Gestante.	10
Figura 2. Estructura de los Carbohidratos.	26
Figura 3. Concentración de IgGT (g/L) por camada en cachorros de 120 días de edad. ...	74
Figura 4. Concentración de IgGT (g/L) por tratamiento en cachorros de 120 días de edad.	75
Figura 5. Concentración de IgA (g/L) por camada a los 100 y 120 días de edad.	77
Figura 6. Concentración de IgA (g/L) por tratamiento a los 30, 100 y 120 días de edad. .	77
Figura 7. Niveles de absorbancia ELISA INDIRECTO para IgG de Distemper canino a los 100 y 120 días de suplementación.	81
Figura 8. Niveles de absorbancia ELISA INDIRECTO para IgM de Distemper canino a los 100 y 120 días de suplementación.	82
Figura 9. Curva de pesos de los animales de la camada uno.	84
Figura 10. Curva de pesos de los animales de la camada dos.	85
Figura 11. Curva de pesos de los animales de la camada tres.	85
Figura 12. Curva de pesos de los animales de la camada cuatro.	86
Figura 13. Curva de pesos acumulados por tratamiento de los cachorros incluidos en el estudio.	87

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Nivel de nutrientes recomendado para perros - Unidades para 1000 kcal de energía metabolizable (EM).....	106
Anexo 2. Registro de datos de los cachorros que participaron en el estudio	107
Anexo 3. Base de datos Leucograma a los 30 días de edad.....	108
Anexo 4. Base de datos Leucograma a los 120 días de edad.....	109
Anexo 5. Base de datos del Eritrograma y Plaquetograma a los 30 días de edad.	110
Anexo 6. Base de datos del Eritrograma y Plaquetograma a los 120 días de edad.....	111
Anexo 7. Base de datos de la Bioquímica sanguínea a los 30 días de edad.....	112
Anexo 8. Base de datos de la Bioquímica sanguínea a los 120 días de edad.....	113
Anexo 9. Base de datos concentración de inmunoglobulinas totales y específicas para el virus de Distemper Canino a los 30 días de edad.	114
Anexo 10. Base de datos concentración de inmunoglobulinas totales y específicas para el virus de Distemper Canino a los 100 días de edad.	115
Anexo 11. Base de datos concentración de inmunoglobulinas totales y específicas para el virus de Distemper Canino a los 120 días de edad.	116
Anexo 12. Análisis de varianza y prueba de HSD para la variable IgG Total a los 120 días de edad.	117
Anexo 13. Análisis de varianza y prueba de HSD para la variable IgM Total a los 120 días de edad.	118
Anexo 14. Análisis de varianza y prueba de HSD para la variable IgA Total a los 120 días de edad.....	119
Anexo 15. Análisis de varianza y prueba de HSD para la variable IgE Total a los 120 días de edad.	120
Anexo 16. Análisis de varianza y prueba de HSD para la variable IgGDC a los 120 días de edad.	121
Anexo 17. Análisis de varianza y prueba de HSD para la variable IgMDC a los 120 días de edad.	122
Anexo 18. Glosario de términos.	123

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la influencia de la glutamina (GLN) y BCCA (leucina, isoleucina y valina) sobre los parámetros hematológicos, bioquímicos e inmunológicos de caninos post destete. En la primera etapa del estudio se analizó el alimento a administrar como base durante el experimento, determinándose que este y otros alimentos analizados cumplían con los requerimientos nutricionales de los cachorros. Así, este alimento sirvió para alimentar a 31 cachorros mestizos provenientes de cuatro camadas de 20-25 días de edad, aleatoriamente en cada camada se estableció un grupo control (sin suplemento) y 3 tratamientos suplementados con aminoácidos sobre el alimento base: T1 (GLN 0,5 g/kg/día/PO), T2 (BCCAs 0,25 g/kg/día/PO) y T3 (GLN 0,5 g/kg+BCCA 0,25 g/kg/día/PO), se mantuvieron 90 días en ambiente controlado en igualdad de condiciones, alimentados dos veces al día individualmente, las muestras se tomaron a los 30, 100 y 120 días de edad. A los 30 días las medias y rangos de los parámetros hematológicos y bioquímicos fueron similares. A los 120 días en los parámetros hematológicos se determinaron diferencias ($p < 0,05$) en función del bloque, no así del tratamiento ($p > 0,05$), sin embargo, el promedio de leucocitos ($10,33 \cdot 10^9/L$) y el promedio de neutrófilos ($7,17 \cdot 10^9/L$) del tratamiento dos fueron superiores al promedio del grupo control y de los tratamientos uno y tres. Los parámetros de la bioquímica sanguínea no mostraron diferencias ($p > 0,05$). Los niveles de inmunoglobulinas totales G, M, A, a los 30 días de edad presentaron niveles inferiores a los rangos reportados para caninos sin mostrar diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos en estudio a los 100 y 120 días de edad, al igual que las concentraciones de inmunoglobulinas específicas para distemper canino (IgGDC, IgMDC), sin embargo, los animales suplementados con BCCA mostraron los promedios más elevados de inmunoglobulinas después de la suplementación. La IgE mostró niveles decrecientes de los 30 a los 120 días de edad mostrando un buen nivel de adaptación de los animales al alimento y a los suplementos. En conclusión, la suplementación con glutamina y BCCA a las dosis empleadas en este estudio no fueron influyentes de manera significativa en una mayor actividad del sistema inmune en la etapa del destete, pero, la suplementación con BCCA parece favorecer a ciertos grupos celulares y a la función inmune de los caninos en esta etapa.

Palabras clave: Cachorros, células sanguíneas, aminoácidos, suplementación, hematológicos, destete, caninos, *Domesticus familiaris*, Ecuador.

ABSTRACT

The objective of the study was to determine the influence of glutamine (GLN) and BCCA (leucine, isoleucine and valine) on hematological, biochemical and immunological parameters of post-weaning canines. In the first stage of the study, the food to be administered as a basis during the experiment was analyzed, determining that this and other foods analyzed met the nutritional requirements of the puppies. Thus, this food served to feed 31 mix puppies from four litters of 20-25 days of age, randomly in each litter a control group was established (without supplement) and 3 treatments supplemented with amino acids on the base food: T1 (GLN 0.5 g/kg/day/PO), T2 (BCCAs, 0.25 g/kg/day/PO) and T3 (GLN 0.5 g/kg+BCCA 0.25 g/kg/day/PO), were kept for 90 days in a controlled environment under equal conditions, individually fed twice a day, samples were taken at 30, 100 and 120 days of age. At 30 days, the means and ranges of the hematological and biochemical parameters were similar. At 120 days, differences were determined in the hematological parameters ($p < 0.05$) depending on the block, but not on the treatment ($p > 0.05$), however, the average number of leukocytes ($10.33 \cdot 10^9/L$) and the average number of neutrophils ($7.17 \cdot 10^9/L$) of treatment two were higher than the average of the control group and of the treatments one and three. Blood biochemistry parameters did not show differences ($p > 0.05$). The levels of total immunoglobulins G, M, A, at 30 days of age presented levels lower than the ranges reported for canines without showing significant differences ($p > 0.05$) between the treatments under study at 100 and 120 days of age, as well as the concentrations of specific immunoglobulins for canine distemper (IgGDC, IgMDC), however, the animals supplemented with BCCA showed the highest averages of immunoglobulins after supplementation. IgE showed decreasing levels from 30 to 120 days of age, showing a good level of adaptation of the animals to food and supplements. In conclusion, supplementation with glutamine and BCCA at the doses used in this study were not significantly influential in a greater activity of the immune system in the weaning stage, but supplementation with BCCA seems to favor certain cell groups and function. immunity of canines at this stage.

Keywords: Puppies, blood cells, amino acids, supplementation, hematology, weaning, canines, *Domesticus familiaris*, Ecuador.

I. INTRODUCCIÓN

Las últimas dos décadas han sido testigo del incremento en las interacciones y el relacionamiento entre el hombre y los animales de compañía y estima; siendo, estas relaciones componentes importantes y perdurables para muchos propietarios (Schleicher *et al.* 2019), aspectos que han incurrido en un mayor involucramiento de los tutores en la selección del alimento en administrar a los perros durante su vida (Greco 2014, Schleicher *et al.* 2019).

Actualmente en el mercado de alimentos para animales de compañía, se pueden encontrar una innumerable cantidad de marcas comerciales a nivel mundial, algunas de ellas distribuidas en los diferentes países, los alimentos para mascotas son ofrecidos como suplementos o como alimentos balanceados completos; así mismo, los alimentos son clasificados como económicos, premium o super premium en base a las materias primas con fueron elaborados, influyendo en el costo de producción y precio (Gómez 2013, Swanson *et al.* 2013).

Los caninos domésticos (*Canis lupus familiaris*) sufrieron un proceso de adaptación fisiológica en base a los alimentos, que el ser humano ofreció, los mismos que en un inicio han correspondido a alimentos preparados en casa (Arendt *et al.* 2016, Wayne y Vonholdt 2012), hasta la inclusión de alimentos comerciales industrializados, los cuales pueden ser ofrecidos como alimentos secos o extruidos, y también como alimentos húmedos (De Godoy *et al.* 2016, Chandler y Takashima 2014).

La base nutricional se obtiene desde la etapa de lactación, fundamentada en un buen estado de la madre, el cual repercutirá en la cantidad y la calidad de la leche que alimentará al neonato en sus primeros meses de vida (Greco 2014), siendo este un pilar fundamental en el desarrollo de los animales en esta etapa (Mila *et al.* 2017). Posteriormente el neonato tiene que atravesar por la etapa del destete, la cual se constituye en un estresor fisiológico que involucra cambios en la anatomía y fisiología digestiva del cachorro, cambios de los cuales

dependerá su adaptación a una alimentación autónoma que puede ser en base a dietas caseras preparadas o a alimentos comerciales extruidos (Deng y Swanson 2015, Greco 2009).

Cualquiera sea el nuevo alimento que va a recibir el cachorro, debe cubrir todos los requerimientos particulares que los animales tienen en la etapa de su desarrollo, individualizadas para las diferentes razas (tamaños), aspecto que en esta especie es fundamental (FEDIAF 2017). El cumplimiento de los requerimientos nutricionales, puede ser una garantía para que en el cachorro sus funciones orgánicas conlleven a una homeostasis orgánica (Grandjean y Butterwick 2009), fomentando de esa manera un adecuado desarrollo y fundamentando del buen funcionamiento del sistema inmunológico, siendo vital especialmente en los primeros meses de vida de los caninos (Mila *et al.* 2015).

La resistencia orgánica de los neonatos y de los cachorros al ataque de agentes infecciosos como bacterias, virus o parásitos, depende en un alto porcentaje de la integridad y eficiencia de su sistema inmune mediante el cual estos individuos se protegen de enfermedades virales (parvovirus, distemper canino), bacterianas (enterobacterias) o parasitarias (giardiasis, anquilostomiasis), altamente prevalentes a nivel mundial (Grellet *et al.* 2014, Duijvestijn *et al.* 2016).

En los seres humanos y en varias especies de animales se han realizado varios estudios con el fin de incrementar la función inmunológica de los bebés y de los animales jóvenes en sus primeros meses de vida; así, se han reportados varios estudios de la suplementación de Glutamina y de Aminoácidos de Cadena Ramificada - BCCAs (Branched Chain Amino Acids) orientados a mejorar su desempeño bajo la presencia de estresores fisiológicos como el destete o patológicos como el trauma, la sepsis o la endotoxemia (Zhou *et al.* 2019, Kang *et al.* 2012, Shimomura y Kitaura 2018, Freund 1985).

Se han publicado estudios, en los cuales se ha probado con la suplementación enteral de glutamina y BCCAs en caninos, buscando probar su efecto en la síntesis de proteínas en condiciones de estrés, sepsis o para el tratamiento de patologías hepáticas o nerviosas como las disfunciones cognitivas (Fretwell *et al.* 2006, Humbert *et al.* 2002). Sin embargo, no se han reportado estudios en cachorros a los cuales se les haya suplementado por vía oral con estos aminoácidos, es así que el objetivo de este trabajo de investigación consiste en evaluar

la respuesta inmunológica celular y humoral de cachorros suplementados con glutamina y BCCA durante 90 días de tratamiento.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN DE CANINOS

2.1.1 Generalidades

En general mantener a los animales de compañía se ha convertido en un pasatiempo muy popularizado y brindar la atención adecuada a perros y gatos es un reto en continuo desarrollo, tanto para los propietarios como para los profesionales que trabajan con estos animales. Un punto crucial después de la atención médica, el cuidado nutricional es fundamental, cuyo concepto a lo largo del tiempo ha ido evolucionando de manera interesante y en la actualidad está siendo muy explotado por las empresas por considerarlo un negocio en continuo crecimiento (Gómez 2013).

Los aspectos nutricionales en general son muy importantes no solo en los animales de granja y en el campo de la producción, sino también en la alimentación de los animales de compañía, así como en mascotas exóticas (no convencionales), animales en los que los desbalances nutricionales no afectan su rendimiento productivo, pero pueden llegar a ocasionar serios trastornos en su salud (Agar 2008); por consiguiente, las escuelas de veterinaria han creado programas dentro de sus currículos de estudios, dedicando capítulos para estudiar los aspectos nutricionales de perros y gatos, de igual manera y con mayor énfasis hay programas de posgrado en esta área (Chandler y Takashima 2014).

La alimentación y nutrición de los perros indican puntos importantes a tener en cuenta al momento de seleccionar el alimento que son proporcionados; pues, no tienen la posibilidad de elegir su alimento, como, si lo hacen sus semejantes (canídeos salvajes) en la naturaleza (Agar 2008). Durante el proceso de domesticación, los perros han tenido que adaptarse a los alimentos que el ser humano les proporcionaba, era básicamente restos de alimentos de casa, o alimentos preparados en casa, cuya base han sido coladas de harinas, avena, fideos; a las cuales se las enriquecía con fuentes de proteína como pollo, carne, hueso de res, vísceras y

en algunas ocasiones hasta vegetales (Vendramini *et al.* 2020). Este tipo de alimentación ha hecho que el perro, de ser un animal carnívoro en su origen, sufra un proceso de adaptación y se convierta en un omnívoro, proceso que a decir de algunos autores no ha sido del todo eficiente (Wayne y Vonholdt 2012, Arendt *et al.* 2016).

Hasta la actualidad, existen tendencias minoritarias, las cuales fundamentan y defienden la alimentación con dietas caseras, sin embargo, se ha comprobado que las personas no pueden elaborar una dieta que sea del todo equilibrada, así por ejemplo, Vendramini *et al.* (2020), informaron que tras realizar un análisis de calidad de dietas hechas en casa, en comparación con alimentos industrializados, los primeros tuvieron menor concentración de proteína y minerales, al mismo tiempo presentaron una mayor concentración de grasa, desbalances que pueden ser causas de alteraciones digestivas y de pobre crecimiento.

Actualmente en el mercado de mascotas se encuentra una innumerable cantidad de marcas comerciales de alimentos a nivel mundial, algunas de ellas repartidas en los diferentes países (Gómez 2013). Los alimentos son ofrecidos como suplementos o como alimentos balanceados completos a lo que el profesional veterinario y el propietario de la mascota responden de acuerdo al objetivo que deseen cumplir (Leiva *et al.* 2019).

2.1.2 Tipos de alimentos balanceados

El concepto de “alimento balanceado”, se aplica a los alimentos concentrados equilibrados, los cuales proporcionan de manera adecuada los nutrientes en la cantidad y calidad óptimas, generando beneficios para la salud (De Godoy *et al.* 2016) y no solo son utilizados como factores de saciedad o para proveer nutrientes esenciales, como vitaminas, minerales, agua, proteínas, carbohidratos y grasas (Laflamme 2005). Son muchas las investigaciones con respecto a los alimentos balanceados y alimentos funcionales en perros (*Canis familiaris*) y gatos (*Felis catus*) para comprender mejor su metabolismo, llegando a optimizar su estado nutricional (Vendramini *et al.* 2020, Di Cerbo *et al.* 2017, Hasler 2000).

Siendo de consenso general, la tendencia de alimentar a los animales de compañía con concentrados comerciales en virtud de las ventajas que proporcionan (Swanson *et al.* 2013), estos alimentos se pueden encontrar en diferentes formas de presentación de acuerdo con el método de procesamiento utilizado en su elaboración, los ingredientes incluidos, el

contenido de humedad (pequeñas diferencias en el contenido de humedad afectan enormemente el contenido de materia seca del alimento húmedo) y los métodos de preservación que contengan (Leiva *et al.* 2019).

En el mercado encontramos alimentos secos, semi húmedos y húmedos, de acuerdo al porcentaje de humedad con el que hayan sido envasados, luego de su procesamiento; así, un alimento extruido (seco) por lo general contiene una humedad que puede estar en rangos del 5 al 9 por ciento (FEDIAF 2017), valores con los que la conservación y la palatabilidad del alimento no van a ser afectados, este es el tipo de alimento más comercializado en la actualidad (Leiva *et al.* 2019). Los alimentos húmedos o semi húmedos se comercializan en menor proporción y por muchos propietarios son considerados solo como complementos o premios por su aparente mejor sabor y mayor aceptación (Schleicher *et al.* 2019, Vinassa *et al.* 2020).

Otra forma de clasificar los alimentos para animales de compañía, fue de acuerdo a los ingredientes empleados en su elaboración, lo que repercute directamente en los niveles de digestibilidad principalmente de la proteína, lo cual hace pensar que esta clasificación puede estar anclada a la calidad del alimento, así, estos se clasifican como: super premium, premium y comerciales (Leiva *et al.* 2019), siendo los primeros los de mejor calidad y de más elevado costo, formulados generalmente en base a productos de alta calidad (carne de pollo, res, pavo, pescado) y los últimos los de menor calidad y más bajo costo elaborados con subproductos de origen animal (huesos, vísceras, plumas, harina de sangre, harina de pescado) como fuentes primarias de proteína (Hill *et al.* 2009, Thompson 2008).

Con relación a los ingredientes que contienen los alimentos, también se pueden encontrar dietas vegetarianas las cuales por principio tienen como fuente básica de proteína a la soya u otros vegetales, hay estudios en los que se ha valorado su calidad nutricional y los posibles efectos que pueden presentarse al ser la base de la alimentación de los carnívoros (Thompson 2008, FDA 2016).

Como se puede apreciar en la tabla 1, en la actualidad se ha enfatizado en la nutrición clínica de los perros, enmarcando la denominación como alimentos funcionales, los cuales han sido diseñados, por ejemplo para estabilizar susceptibilidades gastrointestinales que pueden presentarse en algunos animales, o para cubrir ciertos requerimientos particulares a algunas

razas (Di Cerbo *et al.* 2017). Los investigadores actualmente trabajan en el diseño de alimentos que puedan ser incluidos como parte del tratamiento de diferentes afecciones patológicas, en base a esto, podemos encontrar dietas renales, dietas cardiacas o dietas urinarias, las cuales van enfocadas a pacientes con enfermedad renal aguda o crónica, pacientes con diferentes grados de insuficiencia cardiaca o a pacientes con urolitiasis respectivamente, siendo estas dietas denominadas como dietas de prescripción, ya que es el médico veterinario quien las indica (De Godoy *et al.* 2016).

Tabla 1. Clasificación de los alimentos para animales de compañía

PARAMETRO DE CLASIFICACION	ALIMENTO
Método de procesamiento	<ul style="list-style-type: none"> - Alimentos Horneados - Alimentos Peletizados - Alimentos Extruidos
Contenido de Humedad	<ul style="list-style-type: none"> - Alimentos Secos - Alimentos Húmedos - Alimentos Semihúmedos
Contenido Nutricional, ingredientes utilizados y costo	<ul style="list-style-type: none"> - Súper Premium - Premium - Económicos (Comerciales)
Método de Preservación	<ul style="list-style-type: none"> - Alimentos orgánicos y naturales - Dietas Crudas - Dietas vegetarianas
Nutrición Clínica	<ul style="list-style-type: none"> - Alimentos específicos para ciertas razas - Alimentos con nutraceúticos y componentes especiales para los diferentes estadios en presencia de estresores fisiológicos (lactancia, gestación, deporte). - Alimentos para animales con enfermedades metabólicas (diabetes, cardiacos, renales, hepáticos, gastrointestinales).

Fuente: Elaboración propia.

2.2 NUTRICIÓN E INMUNIDAD DEL CACHORRO

2.2.1 Cuidados y alimentación de la perra gestante

Los animales seleccionados para la reproducción tanto machos como hembras, deben ser correctamente evaluados para que puedan mostrar eficiencia en un programa de reproducción (Couto 2010). La evaluación de manera lógica, debe incluir la condición corporal y el peso de los animales, el cual deberá ser óptimo en relación con el estándar de las diferentes razas de perros, debido a que, si la madre tiene bajo peso, es posible que esta tenga carencias y que durante la gestación no llegue a satisfacer sus propias necesidades nutricionales, peor aún las de sus fetos en desarrollo, esto provocará disminución del peso al nacer y una mayor mortalidad neonatal (Mugnier *et al.* 2019).

Por otro lado, el estado sanitario de las perras que se destinan a la reproducción, debe ser también óptimo, los calendarios de vacunaciones y desparasitaciones establecidos para la región donde esta se encuentre deben estar cubiertos; esto, para garantizar una adecuada inmunización pasiva para los perinatos (Mila *et al.* 2014), es así que antes del inicio de la etapa reproductiva, y de manera programada en la vida adulta la hembra canina debe ser regularmente inmunizada en base a las recomendaciones establecidas por el médico veterinario o la autoridad competente (Day *et al.* 2020).

Los requerimientos nutricionales cambian en cada etapa de la vida, y la nutrición correcta repercutirá en el estado de salud de los perros, así como en su longevidad (Deng y Swanson 2015). La correcta alimentación de los perros frente a diferentes factores que aumentan las demandas de energía, proteína u otros nutrientes puede ser clave para garantizar una buena homeostasis en estos periodos (De Godoy *et al.* 2016). La gestación y la lactancia son dos etapas en las cuales las hembras caninas tienen mayores demandas nutricionales, etapas que deben ser cubiertas con dietas formuladas para cubrir los requerimientos tanto maternos como de los neonatos hasta el destete (Mila *et al.* 2015).

De manera general, se recomienda que por lo menos 2 semanas antes de iniciar la reproducción, la perra reciba de manera transicional un alimento de alta calidad principalmente si en el examen se verifica que esto es necesario al tener pesos ligeramente bajos, este alimento debe ser un alimento de alta calidad y altamente digerible que sea

adecuado para la gestación y la lactancia (Martí 2013). El cambio transicional en este momento va a disminuir el estrés de cambiar el alimento de manera brusca en la etapa gestacional o de lactancia.

La perra gestante debe alimentarse con esta comida durante el tiempo que dure la gestación (62 días +/- 2d) la comida debe contener proteínas de origen animal como la principal fuente de proteína a un nivel de 28 por ciento a 30 por ciento (como alimento), con una densidad de energía del alimento relativamente alta, al menos un 20 por ciento de grasa y con un aporte excelente de ácidos grasos omega-6 y omega-3, idealmente balanceados en una proporción entre 5: 1 y 10: 1 (Case 2011); importante, porque el estado de Ácidos Grasos Esenciales (AGE) de hembra en gestación se ve negativamente influenciado. De igual manera, el aporte específico del nivel de proteína y el aporte adecuado de aminoácidos en esta etapa proporcionará a los fetos un buen aporte y se obtendrán excelentes pesos de los neonatos al nacimiento. Sin duda, el aporte de factores antioxidantes en esta etapa es fundamental, esencialmente para incrementar el trabajo inmunitario de la madre el cual fortalecerá a los neonatos con la ingestión del calostro (Greco 2009).

La tasa de fertilidad se relaciona con la condición corporal y el peso de la madre y el padre al momento de la concepción y en el posterior desarrollo fetal el cual ocurrirá en aproximadamente 30 por ciento durante las primeras 5 semanas de gestación (Case 2011) ocasionando solo un ligero incremento de peso en la perra.

Se debe tener especial cuidado en no suplementar demasiado la ración en esta etapa, ya que podría ocasionarse obesidad por el bajo requerimiento de la madre. Sin embargo, el mayor desarrollo de los fetos se produce en el último tercio gestacional (> 45 días) llegando a alcanzar en la parte inicial de esta etapa el 75 por ciento del peso corporal fetal, el cual continúa hasta el día del parto. Por consiguiente, en esta etapa es donde se requiere una óptima nutrición para asegurar un crecimiento y desarrollo fetal apropiado (Martí 2013).

Después de la sexta o séptima semana de gestación se recomienda aumentar la ingesta de comida de manera gradual, de modo que en el momento del parto su ingesta diaria sea aproximadamente del 25 por ciento más de lo que habitualmente recibía (Case 2011). El tracto digestivo de la hembra gestante tiende a tener menor espacio por compresión física, por lo tanto, es útil proporcionar varias comidas pequeñas por día durante las últimas

semanas de gestación evitando problemas de vómito o un déficit en el consumo de alimentos (Akers y Denbow 2013).

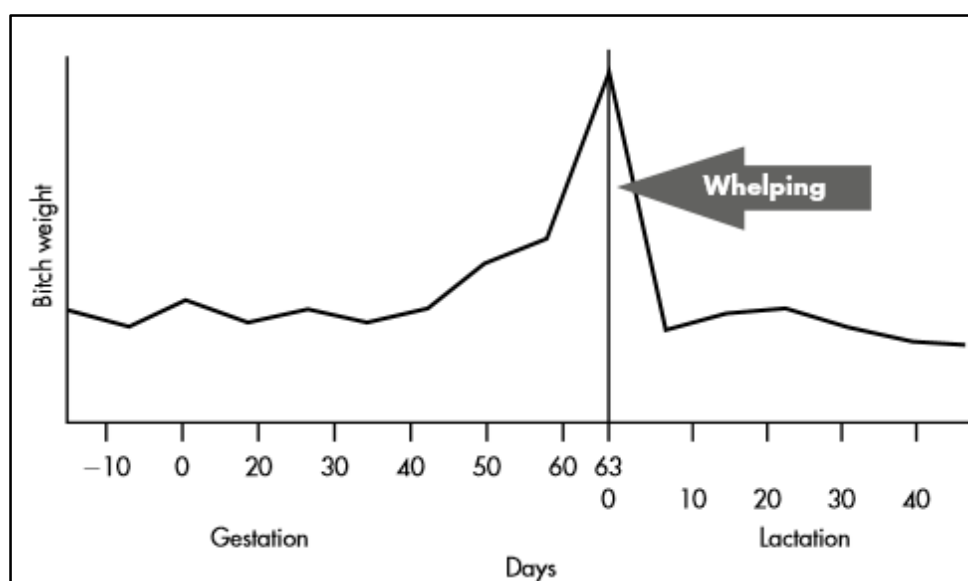


Figura 1. Ganancia de Peso en la Hembra Canina Gestante

Fuente: Case (2011).

Luego que se ha producido el parto de manera gradual, las perras deberán ser alimentadas con el concentrado para lactancia, aunque, por lo general se maneja el mismo alimento que se proporcionó cuando estaba en la etapa gestacional debido a que tienen características similares. La importancia desde el punto de vista nutricional a tener en cuenta en la lactancia es: El agua y las calorías presentes en el alimento, y el agua (Agar 2008). Por lo general se recomienda una amplia ingesta de energía para aumentar la producción de leche, evitando al mismo tiempo pérdida de peso tanto en la madre como en los cachorros; así por ejemplo, se indica que una perra Beagle requiere un aporte de 5,5 onzas de leche por día por cada cachorro que haya parido, esto para una camada estándar de 5 o 6 cachorros para esta raza (Case 2011). Los perros de razas grandes tendrán un mayor consumo que será proporcional al consumo de agua de su madre, además, el aporte de agua debe ser continuo, debido a que aproximadamente el 78 por ciento de la leche es agua.

Dependiendo del tamaño de la camada, una perra lactante consumirá de dos a tres veces su requerimiento de energía de mantenimiento durante la lactancia; de manera práctica se recomienda alimentar suplementando de 1.5 a 2 veces las necesidades de mantenimiento de la madre durante la primera semana de lactancia, 2 veces mantenimiento durante la segunda

semana y 2,5 a 3 veces mantenimiento durante la tercera a cuarta semana de lactancia, teniendo en cuenta esta edad de los neonatos para ser destetados (Martí 2013). Muchos alimentos para mascotas formulados para el mantenimiento de adultos no proporcionan suficiente densidad de nutrientes para una perra lactante, siendo este un error que comúnmente los propietarios de mascotas cometen al no realizar el cambio de alimento durante la lactancia. Por ejemplo, los primeros estudios con perras lactantes encontraron que cuando se alimentó con una dieta que contenía aproximadamente 4200 calorías (cal/kg) (1900 cal/lb), se produjo poca o ninguna pérdida de peso durante todo el período de lactancia (Greco 2009). Sin embargo, las perras con cuatro o más cachorros que fueron alimentados con una dieta con una menor densidad de energía (3100 kcal/kg) perdieron peso de manera significativa durante la lactancia, afectando además la calidad nutricional de la leche proporcionada a los neonatos (Case 2011).

2.2.2 Alimentación del perinato y neonato canino

El periodo neonatal en la especie canina está definido por varios autores (Grundy 2006, Von Dehn 2014) como el periodo desde el nacimiento (perinato) hasta las tres primeras semanas de vida, periodo de alto riesgo ya que se han descrito altas tasas de mortalidad en este periodo, las cuales bordean entre el 10 al 20 por ciento de todos los nacidos vivos (Chastant y Mila 2019).

La primera semana de vida de los neonatos es vital, varios son los factores que van a influenciar en la sobrevivencia de los animales en esta etapa, entre ellos podemos citar: el tipo de parto (natural o por cesárea), el peso al nacimiento y su vitalidad en las primeras 24 horas de vida (Greco 2014). Inmediatamente después del nacimiento, el perinato busca la glándula mamaria de la perra y empieza la lactación con una frecuencia de amamantamiento que se produce cada hora o cada dos horas, el resto del tiempo los neonatos duermen (Von Dehn 2014). Generalmente y bajo un buen estado de salud, la madre cuida de su camada de manera continua lame a sus cachorros para estimular la micción y la defecación; siempre y cuando la nutrición de la perra sea óptima, su leche puede satisfacer los requerimientos de la camada durante las tres o cuatro primeras semanas de vida (Mugnier *et al.* 2019), pero si la cantidad o la calidad de la leche producida es insuficiente pueden generarse complicaciones que obliguen a los propietarios de las perras a utilizar sustitutos lácteos formulados con diferentes componentes los cuales buscan reemplazar a la leche materna; sin embargo, se ha llegado a

determinar que las curvas de crecimiento de los cachorros alimentados con lacto reemplazantes, siempre son menores (Greco 2008).

a. Ingestión y funciones del calostro

Dentro de los eventos fisiológicos que ocurren durante el parto está el proceso de dehiscencia placentaria, en el que se produce la separación materno fetal, momento en el cual el nuevo individuo debe ser capaz de activar su función pulmonar y de manera eficiente aportar con el suministro adecuado de oxígeno a los tejidos (Grundy 2006), en ese momento también la circulación de nutrientes desde la madre al perinato se ve interrumpida, así, se deben establecer nuevas estrategias por parte del recién nacido para satisfacer las demandas generadas después del parto.

Los procesos involucrados como parte de estas estrategias incluyen, por ejemplo, la aproximación a la glándula mamaria, la activación del reflejo de succión y los procesos digestivos para la digestión láctea (Mugnier *et al.* 2019). La ingestión de calostro aporta el primer sustento energético que el perinato requiere para regular sus funciones vitales al inicio de la vida, sin embargo son muchas más las funciones que el alimento cumple en el organismo (Greco 2008).

El calostro corresponde a la primera producción de las glándulas mamarias de la perra que ha parido, presentándose en algunas hembras incluso algunas horas antes del parto, su producción dura entre 24 a 48 horas después del parto para luego modificar su composición (tabla 2) hasta transformarse en leche materna (Chastant y Mila 2019). Como puede observarse en la tabla 2, la composición del calostro es diferente a la leche, fundamentalmente en su alta concentración de proteínas y de inmunoglobulinas componentes básicos de la inmunidad pasiva que tiene que transmitirse de la madre al neonato (Fontaine 2012, Greco 2009).

En general en el calostro hay 3 tipos de inmunoglobulinas detectables (IgA, IgM, IgG), y la IgE que se encuentra en concentraciones tan bajas que en muchas ocasiones no puede ser determinada. De las 3 inmunoglobulinas detectables, la IgA normalmente corresponde entre el 16 al 40 por ciento del total de inmunoglobulinas al inicio de la lactancia, siendo una importante inmunoglobulina calostrual, la cual junto a la IgG que se encuentra en una

concentración de entre el 60 al 65 por ciento en el calostro constituyen las principales inmunoglobulinas responsables de la inmunidad pasiva que la madre transmitirá a los neonatos mediante el calostro. La IgM si bien es detectable en el calostro, se encuentra en una proporción muy baja, siendo 15 veces inferior comparada con los niveles plasmáticos (Mila *et al.* 2014).

La calidad del calostro dependerá en parte de la buena nutrición que la perra haya tenido durante la etapa de gestación, no hay evidencia de los factores que influyen en la cantidad de calostro producida, sin embargo se reporta que es proporcional al número de glándulas mamarias activas que la hembra presente (Chastant y Mila 2019); así, se ha establecido que en el perro recién nacido la capacidad gástrica es de aproximadamente 4 ml por cada 100 g de peso vivo, estableciéndose un tiempo de vaciado gástrico promedio de 2 horas, factores que deben ser tomados en cuenta para alimentar adecuadamente a perinatos y neonatos (Mila *et al.* 2014).

Tabla 2. Comparación entre la composición del calostro y de la leche en una perra en lactación

Nutrientes	Días de lactación				
	1 Calostro	3 Leche	7 Leche	10 Leche	12 Leche
Proteínas (g/l)	143,0	102,3	81,	66,	68,4
Inmunoglobulinas	23,8	*	5,	0,6	0,6
Lípidos (g/l)	132,2	137,2	132,1	118,5	112,5
Lactosa (g/l)	16,6	29,3	35,	39,	39,4
Calcio (mg/l)	1.363	1.366	1.773	1.950	1.929
Fósforo (mg/l)	935	914	1.166	1.175	1.359
Energía (kcal/l)	1.831	1.761	1.657	1.493	1.444

* valor desconocido.

Fuente: Chastant y Mila (2020)

Como se indicó en párrafos anteriores la ingestión de calostro cumple con funciones importantes siendo una de ellas proporcionar el aporte energético a los neonatos, porque contiene un 20 por ciento de valor energético superior al de la leche, siendo este aporte fundamental en los neonatos caninos, los cuales nacen con una baja capacidad glucogenolítica y una baja reserva corporal energética, por lo que se convierte en un sustento vital en los primeros días de vida (Cotter *et al.* 2013), fomentando el desarrollo y el

crecimiento, evitando las pérdidas de peso que suelen ser frecuentes en neonatos que no han recibido el aporte suficiente de calostro y que se asocian a animales con mayor riesgo de mortalidad neonatal (*Mugnier et al.* 2019).

También se ha determinado que el calostro fomenta el desarrollo de varios órganos y de manera particular del sistema gastrointestinal del neonato, fundamentando este efecto en que dentro de su composición se encuentran hormonas y factores del crecimiento que influyen en este aspecto; un estudio realizado en perros de raza Beagles, demostró que los cachorros que ingirieron calostro tuvieron un mejor desarrollo del tubo gastrointestinal en un 60-95 por ciento en comparación de neonatos que fueron alimentados con lactorreemplazantes (Heird y Hansen 1981).

Sin dejar de ser importantes las funciones anteriormente descritas, una función vital del calostro es la protección inmunitaria que sus componentes aportan a los neonatos caninos (Kelly y Coutts 2000). Las características de la placenta del perro la hacen impermeable al paso de las moléculas de mayor tamaño dentro de las que se incluyen las inmunoglobulinas, es así que la inmunidad en el recién nacido es nula (*Mila et al.* 2014), llegando a presentar niveles circulantes de inmunoglobulina G (IgG) muy bajos de aproximadamente 0,3 g/l, comparados con los niveles de 8 a 25 g/L que se encuentran en animales adultos (Chastant y Mila 2020).

La deficiencia inmunológica del perinato debe compensarse con la ingestión de calostro, este proporciona la inmunidad pasiva natural durante su ingestión en las primeras 24 a 48 horas de vida del cachorro. El factor tiempo es crucial al momento de determinar la eficacia y la eficiencia del nivel inmunitario alcanzado, ya que un retraso en el tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la ingestión de calostro va a disminuir la absorción de inmunoglobulinas asociada a una menor permeabilidad de la pared intestinal a estas moléculas; en las primeras horas de vida, la permeabilidad intestinal disminuye, los cachorros al nacer absorben en promedio el 40 por ciento de la IgG ingerida, y la tasa de absorción disminuye al 20 por ciento cuatro horas más tarde, y solo al 9 por ciento 12 horas más tarde. Después de las primeras 12-16 horas de vida, la tasa de absorción de IgG está ausente.

También se ha indicado que los altos niveles de inhibidores de la tripsina en el calostro se relacionan con la concentración de inmunoglobulinas, estos factores caen con el pasar del

tiempo, disminuyendo así la calidad del mismo asociado a una disminución en su absorción a nivel intestinal (Mila *et al.* 2014). Se han descrito los cambios que sufre el calostro a nivel materno con el pasar del tiempo, observando en varios estudios que la concentración de IgG disminuye abruptamente después del parto habiéndose determinado una disminución promedio del 60 por ciento entre las 4 y las 24 horas post parto (Mila *et al.* 2015).

La vitalidad y fortaleza de los neonatos en las primeras horas de vida aseguran una adecuada ingestión de calostro, por lo que se debe estimular este proceso al momento de asistir en el parto, la succión adecuada y periódica es un proceso fundamental, se debe tener en cuenta que el 70 por ciento de perinatos se amanten por primera vez en las 2 primeras horas de nacidos, debiendo amamantarse todos los animales por primera vez en no más de las primeras 4 horas de vida (Kobayashi *et al.* 2017), factor a tomar en cuenta principalmente en cachorros obtenidos por partos distócicos o cesáreas.

El calostro y posteriormente la leche, proporcionan además otros compuestos inmunes al recién nacido; se ha determinado en otras especies como en los bovinos, porcinos y en los caninos que el calostro fomenta la inmunidad local digestiva mediante la inmunoglobulina A (IgA), la cual neutraliza ciertos patógenos a nivel local. Parte de la inmunidad celular del neonato depende de la ingestión de calostro ya que se ha determinado que los neutrófilos, macrófagos y linfocitos pueden atravesar la barrera intestinal aumentando la inmunidad del neonato (Kelly y Coutts 2000).

Una vez cerrada la barrera intestinal al paso de inmunoglobulinas, su concentración se deposita en el torrente circulatorio proporcionando el nivel de anticuerpos específicos derivados de la madre, los mismos que tienen una vida media particular para cada antígeno, y protegerán a los neonatos de enfermedades infecciosas (bacterianas o virales) que son causantes de las altas tasas de mortalidad observadas en neonatos caninos (Duijvestijn *et al.* 2016, Gizzi *et al.* 2014).

b. Sustitutos calostrales y lactorreemplazantes

Muchas son las circunstancias que pueden llegar a ocasionar que el neonato no tenga acceso al calostro en las primeras horas de vida, así por ejemplo los animales huérfanos, aquellos animales que pertenecen a camadas numerosas, madres con poca producción de calostro,

neonatos débiles que no succionan, etc. (Greco 2014). En tales circunstancias se recomienda la suplementación con compuestos que puedan llegar a tener funciones similares a las del calostro, y que de manera puntual fomenten en desarrollo y la protección inmunológica evitando la muerte de los animales. Esta búsqueda se convierte en un verdadero desafío para los propietarios de animales de compañía, para los veterinarios y para las industrias especializadas en este segmento; a lo largo del tiempo se han probado varios productos teniendo como objetivos proporcionar una adecuada cantidad de energía y un aporte inmune apropiado (Mila *et al.* 2017).

Se han planteado algunas alternativas con productos que pueden ser empleados con este fin, los mismos que se citan a continuación:

- Calostro canino congelado
- Leche canina
- Secreciones mamarias de hembras caninas pseudogestantes
- Calostro bovino
- Sustitutos de leche comerciales (no existen productos con inmunoglobulinas en el mercado)
- Sueros hiper inmunes o plasma canino

Hay varios estudios que se han realizado con respecto al empleo de estos productos, sin embargo, algunos de ellos pueden resultar ser no muy prácticos para todas las camadas, sino solamente para las camadas que se encuentren en centros de reproducción donde se puede tener acceso a madres lactantes de las cuales se puede ordeñar y almacenar el calostro o la leche que se encuentre en exceso (Kelly y Coutts 2000).

Con respecto al suero bovino se indica que su aporte energético puede ser adecuado, sin embargo, su eficacia en la protección inmune de los neonatos puede ser deficiente en razón a que no posee las inmunoglobulinas específicas para los principales patógenos que afectan a los perros (Chastant y Mila 2020), aunque hay estudios donde ha probado su aporte inmunológico en cachorros y en adultos llegando a demostrar un efecto relativo que podría justificar su uso (Satyaraj *et al.* 2013).

Tabla 3. Comparación del contenido de macronutrientes de los sustitutos de leche comerciales comparados con la composición de la leche específica de la especie

Tipo	Proteína (%MS)	Grasa (%MS)	Carbohidrat os (%MS)
Leche canina	33	41	17
Calostro canino congelado	42	25	26
Leche comercial de cabra (Esbilac)	35	42	15
Sustituto comercial canino (Nutri-Cala ^a)	34	43	16
Sustituto comercial canino (recién nacido ^b)	30	30	30
Sustituto comercial felino (KMR)	44	26	24

^aContiene fructooligosacáridos (FOS) y calostro; ^bContiene calostro y arginina para prevenir cataratas (Greco 2014)

En la práctica diaria los sustitutos de leche comerciales son los más recomendados y empleados por los veterinarios y por los propietarios de camadas con dificultades; sin embargo, se recalca que si bien las necesidades de los macro nutrientes son cubiertas, la protección inmunológica de los animales alimentados con estos sustitutos está ausente, aumentando el riesgo de infecciones (Mila *et al.* 2014, Mila *et al.* 2017). Se recomienda administrar los sustitutos hasta las tres semanas de edad, y la composición se aproxima al de la leche de las hembras lactantes, fundamentalmente en su concentración de proteínas (Adkins *et al.* 2001).

La alimentación de los neonatos hasta las 4 semanas dependerá de la cantidad de leche producida por la madre; dependiendo del tamaño de la camada, una perra lactante consumirá de dos a tres veces su requerimiento de energía de mantenimiento durante la lactancia.

2.2.3 El Destete

En general, se ha descrito al destete como una etapa transicional en la que los neonatos acceden a alimentos sólidos, aparte de la leche materna que había sido su único sustento nutricional, la edad del destete promedio se considera entre las 4 a 5 semanas (Fontaine 2012). Esta transición alimentaria genera cierta susceptibilidad en los cachorros, generándose en muchos de ellos afecciones gastrointestinales caracterizadas principalmente

por cuadros diarreicos que de no ser controlados a tiempo pueden ocasionar la muerte del cachorro (Grellet *et al.* 2014).

Por tal razón, al destete en los caninos al igual que en otras especies se considera un estresor fisiológico, mismo que de no ser manejado adecuada o técnicamente puede ocasionar un impacto altamente negativo en los individuos. Se han determinado algunos errores que los propietarios de animales de compañía o los responsables de los centros de reproducción cometen de manera involuntaria o por desconocimiento (Grundy 2006).

Entre los errores más comúnmente citados se encuentra el destete tardío al que muchos animales son sometidos, fisiológicamente los neonatos como parte de su desarrollo y su transición a la etapa de cachorros, presentan cambios anatómicos y fisiológicos, por ejemplo, las criptas intestinales aumentan su profundidad para mejorar los procesos digestivos de los alimentos sólidos, también la actividad enzimática se modifica presentando una disminución de la lactasa y un incremento de la actividad de la amilasa y lipasa (Grellet *et al.* 2016).

Se ha observado que a las 3 semanas los neonatos pierden el reflejo de succión y activan el reflejo deglutorio, a las 4 semanas inicia la erupción de los dientes deciduos, factores que conllevan a que el proceso de lactación genere malestar en la madre y esporádicamente rechace a los cachorros (Von Dehn 2014), este rechazo aleja al cachorro de su única fuente de alimento y si las personas que cuidan de ellos no conocen de este particular y ofrecen otra fuente de alimento a esta edad (3 – 8 semanas) los cachorros presentarán pérdidas de peso y retraso en su curva de crecimiento, además de inmunodepresión que los hará más susceptibles a infecciones bacterianas o virales (Grellet *et al.* 2016). Para evitar esto, a las 3 semanas debe ofrecerse al cachorro de manera gradual un alimento semi sólido (tipo papilla) hecho a base de croquetas combinado con algún sustituto lácteo, algunos cachorros inician inmediatamente su proceso de alimentación dependiendo cada vez menos de la leche materna, u obedeciendo a sus mayores necesidades nutricionales y a sus nuevas habilidades para tomar y morder los alimentos (Greco 2014).

Los requerimientos de energía y proteína en esta etapa son elevados y pueden ser cubiertos empleando alimentos para cachorros, los cuales son formulados de manera particular para satisfacer sus necesidades, pudiendo ser particulares para los perros de las diferentes razas (Dobenecker *et al.* 2013). Se han realizado varios trabajos en base a la suplementación con

algunos compuestos a la dieta base empleada en el destete, con el fin de disminuir el estrés que ocasiona esta transición y mejorar el desempeño de los individuos. Así por ejemplo, se ha probado con la adición de prebióticos y probióticos en la dieta de los cachorros que están siendo destetados, la finalidad de acuerdo a los autores es mejorar la inmunidad local a nivel intestinal, mediante la regulación de su microbiota. Con este mismo objetivo, se ha probado la adición de ácidos grasos omega 3 y omega 6, con resultados positivos sobre las concentraciones de IgA fecal, la cual fue superior en comparación a la de los cachorros que no fueron suplementados (Greco 2014, Grze *et al.* 2020).

2.2.4 Cuidados y nutrición del cachorro

a. Inmunoprofilaxis y desparasitación

Durante la etapa de transición (4–5 semanas de vida), los cachorros presentan ciertas dificultades asociadas a cambios anatómicos, fisiológicos y sociales (separación materna), si a esto se suma el vacío inmunitario que se presenta en esta etapa, la susceptibilidad al desarrollo de enfermedades es muy elevada (Grellet *et al.* 2016). El vacío inmunitario que se presenta en esta especie se debe a que los cachorros no pueden ser vacunados debido a la presencia de los anticuerpos maternos, los cuales pueden interferir con los niveles protectivos de anticuerpos que se busca generar con las vacunas (Chastant y Mila 2020, Morein *et al.* 2002). Esto hace que un 20 a 30 por ciento de cachorros a esta edad presenten enfermedades que deben ser tratadas oportunamente previo a la instauración de los programas profilácticos; en la tabla 4, se exponen los principales agentes infecciosos involucrados en los trastornos digestivos de los cachorros:

En general, muchos cachorros son separados de su madre entre la cuarta y quinta semana de edad, siendo la edad en que los tutores llevan a los animales a la primera valoración por parte del veterinario, en esta visita, se examina al cachorro y si se comprueba el buen estado de salud o signos leves de enfermedad gastrointestinal se administra un antiparasitario, que elimine a muchos de los agentes que se presentan en la tabla 4, en el mercado existen muchos preparados comerciales que son empleados con este fin (Taweethavonsawat *et al.* 2010). En los preparados comerciales se emplean productos como el embonato de pirantel, febendazol, praziquantel, albendazol, enfocados al control de céstodos y parásitos del género *ancylostoma* los cuales son los que mayores problemas ocasionan en los cachorros (Mehlhorn *et al.* 2003).

Tabla 4. Principales agentes infecciosos del tracto gastrointestinal en cachorros y su prevalencia

Agente Patógeno	Edad Población estudiada	Número de cachorros en el estudio	Prevalencia (%)
<i>Parvovirus canino tipo-2</i>	5-8 semanas edad	266	17.7
<i>Coronavirus</i>	5-8 semanas edad	266	20.3
<i>Toxocara canis</i>	5-8 semanas edad	266	22.2
	Variada*	143	12
	< 3 meses edad	2661	12
Complejo:	5-8 semanas edad	266	25.6
<i>Cystoisospora ohioensis</i>	< 3 meses edad	2661	15.6
<i>Cystoisospora canis</i>	5-8 semanas edad	266	13.2
	< 3 meses edad	2661	11.8
<i>Cystoisospora spp.</i>	Variada*	143	9
<i>Giardia duodenalis</i>	5-8 semanas edad	266	41
	Variada*	143	34
	< 3 meses edad	2661	37.5

Fuente: Grellet *et al.* (2014).

La edad de la administración de la primera vacuna ha sido motivo de discusión, ya que la presencia de los anticuerpos maternos sistémicos que ingresan en los cachorros por vía placentaria debe decaer a un nivel que evite la neutralización de aquellos que van a ser generados como parte de la reacción post vacunal (Chastant y Mila 2020).

La concentración de inmunoglobulinas además, dependerá de la inmunidad pasiva calostrual que el neonato presente, siendo este un factor importante a tener en cuenta para la administración de la primera vacuna (Freyburger *et al.* 2012).

Se ha establecido como norma que la aplicación de la primera vacuna debe colocarse entre la sexta a la octava semana de edad, siendo las vacunas contra el parvovirus y el coronavirus canino las más empleadas para esta edad. Posteriormente se aplican dos o tres dosis de vacunas quíntuples con un lapso de 2 ó 3 semanas entre una vacuna y otra, la vacuna

quíntuple (DA2PPvL) protege a los cachorros contra el parvovirus (PVC), el virus del Distemper canino (DVC), Adenovirus Tipo 2, Parainfluenza y Leptospirosis). Finalmente se aplica la vacuna antirrábica, recomendando la revacunación anual en los animales adultos con una vacuna quántuple y la vacuna contra la rabia (Day *et al.* 2020).

Existen algunas modificaciones al calendario recomendado, con la inclusión de otras vacunas como la vacuna para la tos de las perreras (*Bordetella bronchiséptica*) y algunas variantes de la vacuna contra la leptospirosis.

Desafortunadamente el porcentaje de cachorros que son vacunados siguiendo las recomendaciones no corresponde al 100 por ciento, habiéndose determinado en varios países de América Latina porcentajes de entre el 15 al 20 por ciento de cachorros que no se vacunan o presentan planes de vacunación incompletos (Day *et al.* 2020), factor que se suma a otros como la aparición de nuevas cepas de virus o nuevos serovares de bacterias, mismos que forman parte de las causas de las elevadas tasas de infecciones y de mortalidad que se observan en los cachorros de países como México, Bolivia, Ecuador (Duijvestijn *et al.* 2016, De la Torre *et al.* 2018).

Mediante varias técnicas de diagnóstico se han determinado los niveles de inmunoglobulinas G y M en los animales vacunados, observando el comportamiento de sus curvas, lo que ha servido para establecer los planes de vacunación y para determinar la eficacia de las vacunas aplicadas (Mitchell *et al.* 2012, Waner *et al.* 1998).

b. Alimentación y nutrición del cachorro

b1. Alimentación

Cuando hablamos de nutrición es fundamental entender cómo el organismo animal toma la mezcla de nutrientes que se encuentran en la comida, los descompone y los vuelve a reconstruir de acuerdo a sus requerimientos, en este complejo proceso se descartan piezas, se intercambian y se colocan otras piezas si es necesario (Agar 2008).

En la nutrición de caninos y de otros animales se debe tener en cuenta cómo funcionan los procesos metabólicos en las diferentes etapas, haciendo énfasis en las particularidades de cada especie (Garnsworthy 2009), así por ejemplo los caninos presentan variaciones de raza, en promedio son considerados adultos a partir de los 10 a 18 meses de vida alcanzando un

peso determinado, y una vez que han alcanzado el peso corporal adulto, ese individuo, en la mayoría de las circunstancias, mantendrá ese peso, dentro de límites estrechos, durante toda su vida, reflejando posteriormente pequeñas variaciones en el tamaño, composición de su masa ósea y muscular (Greco 2014).

En general los alimentos que los caninos ingerían antes del proceso de domesticación, se presentaban en muchas formas, desde la carne del músculo hasta la hoja de algunas plantas (Johnson *et al.* 2016), con la domesticación, el perro pasó a ser un omnívoro hasta llegar actualmente al consumo de croquetas solas (alimentos balanceados) en algunos casos y en ocasiones, mezcladas con restos de alimentos que el humano desecha (Vendramini *et al.* 2020). Sin embargo, desde el punto de vista nutricional todos los alimentos se componen de algunos o todos los seis componentes básicos: agua, proteínas, grasas, carbohidratos, vitaminas y minerales (Laflamme 2005). Estos componentes los podemos dividir en dos grupos, aquellos que se caracterizan por la producción de energía (proteínas, grasas y carbohidratos) y aquellos que no son energéticos (agua, vitaminas y minerales) (Akers y Denbow 2013).

Después del destete el cual técnicamente debería hacerse entre la tercera y cuarta semana de vida del neonato bajo un proceso gradual, se debe realizar el cambio de alimentación de leche materna al alimento balanceado de cachorro, el cual debe estar formulado tomando en cuenta los requerimientos para esta etapa (Martí 2013). Durante la fase de cachorro (2 meses hasta 10 meses en perros de raza pequeña o 18 meses perros de razas grandes), el animal joven tiene un mayor requerimiento de proteínas, energía y calcio que un adulto esto puede apreciarse en el anexo 1, de acuerdo a las recomendaciones de la FEDIAF. La dieta también debe ser de alta calidad y fácil de digerir, teniendo cuidado de no sobrealimentar a los animales en este periodo principalmente con aportes exagerados de calcio, ya que esto puede predisponerles a problemas esqueléticos en perros de razas grandes y a obesidad en todos los animales (Morris *et al.* 2012, Daumas *et al.* 2014).

Los animales de compañía deben ser pesados por los propietarios o los profesionales veterinarios para verificar la curva de crecimiento que están teniendo, la mayoría de los cachorros de los grupos pequeños y medianos alcanzarán el 50 por ciento de su peso adulto a la edad de 4 meses (WSABA 2011). Si se detectan retrasos en las ganancias de peso en condiciones de buena salud, probablemente ese individuo requiere comida adicional o un

alimento de mejor calidad, mientras que un aumento de peso demasiado rápido sugiere el uso de alimentos menos densos en energía (Leiva *et al.* 2019).

Tabla 5. Composición Nutricional de los alimentos balanceados para cachorros

Nutriente	Mínimo	Máximo
PROTEÍNA (%)	21	26
GRASA (%)	11	15
HUMEDAD (%)	5	8
FIBRA (%)	1,5	3,5
ALMIDON (%)	25	40
CENIZAS (%)	4,5	9

Fuente: Case (2011).

En la Tabla 5, se exponen los requerimientos nutricionales de los macronutrientes de cachorros, los cuales son superiores a los requerimientos de los animales adultos, en varios estudios se ha determinado la composición nutricional de varias dietas comerciales para cachorros, verificando su composición y calidad nutricional (Daumas *et al.* 2014, Thompson 2008).

A lo largo del tiempo, se ha hecho hincapié en las diferencias en los requerimientos de nutrientes que presentan los cachorros de raza pequeña a diferencia de la raza grande o gigante, fundamentalmente en los aportes de minerales y el porcentaje de proteína incluido en los alimentos, factores que influyen en el desarrollo del músculo esquelético de los perros de razas grandes y gigantes como el Pastor Alemán, Labrador Retriever, Golden Retriever, San Bernardo, Mastín Napolitano, Gran Danés, etc. (FEDIAF 2017).

c. Nutrición

c1. Energía

La energía, aunque no es conocida como un nutriente en sí, al igual que las proteínas, grasas o carbohidratos, totalmente requerida por el cuerpo para el crecimiento normal, el mantenimiento, el desempeño reproductivo y el trabajo físico (Case 2011). Se calcula que del 50 por ciento al 80 por ciento de la materia seca (MS) de la dieta de un perro se usa para la obtención de energía (Chandler y Takashima 2014).

Después del oxígeno y del agua, la energía es el componente más crítico a tomar en cuenta al momento de alimentar o de elaborar balanceados para los animales incluidos los animales de compañía (Hasler 2000), los perros, así como otros carnívoros no pueden obtener la energía de manera directa (radiación) como lo hacen las plantas, es así que estos requieren una fuente continua de energía obtenida de la dieta para sobrevivir (Agar 2008).

Todos los animales desarrollan la capacidad de regular el consumo de energía en sus cuerpos con el fin de suplir con exactitud sus necesidades calóricas diarias (en las diferentes etapas) (Gómez 2013). Esta exactitud, se ha observado cuando a los perros se le permite el libre acceso a una dieta equilibrada y moderadamente agradable, la mayoría de ellos consumirán suficiente comida para satisfacerse, pero no superan, sus necesidades diarias de energía (Case 2011). Cada alimento, en virtud de su composición tiene una densidad de energía o densidad calórica que se refiere a la concentración de energía en una cantidad determinada de comida, así cuando la densidad energética de una dieta disminuye, los animales responden aumentando la cantidad de alimentos que consumen, lo que resultará en una ingesta energética relativamente constante (Agar 2008).

Algunos autores en razón de esta característica han denominado a la energía como “nutriente limitante” ya que, si la ingesta de alimentos está regulada por la ingesta total de energía, la composición de todos los demás nutrientes en la dieta debe estar equilibrada con respecto a la densidad de energía de la dieta (Araujo 2004).

Cuando la energía ha satisfecho los requerimientos calóricos del individuo esta puede ser almacenada, siendo la grasa la principal forma de energía almacenada (Garnsworthy 2009). Por tanto, será importante balancear la dieta de acuerdo con el nivel energético que los animales necesitan en las diferentes etapas de la vida, y más aún, tomando en cuenta los estresores fisiológicos que se presenten en ellos (CVN 2007).

c2. Requerimientos de Energía en los Caninos

En esta especie, el requerimiento de energía no es directamente proporcional al tamaño del animal, sino más bien se basa en la interacción entre el peso del animal y el área de superficie (Agar 2008). Esto es debido a que una de las principales rutas para la pérdida de energía del cuerpo es la producción de calor, principalmente a través de la radiación y la convección de las superficies del cuerpo; se ha establecido, que cuanto mayor sea el área corporal en

contacto con la superficie, mayor será la disipación de calor y mayor la necesidad energética (Chandler y Takashima 2014). Así, por ejemplo, un canino de raza York Shire Terrier tiene una gran relación de área de superficie a peso corporal y requerirá más energía por kilogramo que un Gran Danés con una baja relación de superficie a peso corporal.

Existen varias fórmulas para determinar los requerimientos de energía de los animales, en los caninos una de las fórmulas más utilizadas es la siguiente (Agar 2008):

Tabla 6. Ejemplo del cálculo de requerimiento energético

Requerimiento de Energía para Mantenimiento (REM)
REM= 70 x (peso kg. ^{0.75}) Siendo 70 una constante Así por ejemplo si tenemos un cachorro de raza Pastor Alemán de 8 meses con un peso de 22 kg. El REM será
REM = 70x(22 ^{0.75}) = 70x10.15 = 700 kcal

Fuente: Case (2011).

Recordemos que el valor calórico de la dieta proviene de la cantidad y la calidad de los carbohidratos, las grasas y las proteínas ingeridas, este valor calórico en la comida puede ser determinado usando calorimetría directa y tendremos como producto la Energía Bruta (EB) de la comida (Garnsworthy 2009). Con esto cada alimento va a tener una densidad de energía, que en los alimentos para mascotas se refiere a la cantidad de calorías que proporciona el alimento en un peso o volumen determinado generalmente, la densidad energética se expresa como kcal de ME por kg o libra (lb) de dieta (Case 2011).

c3. Digestión y Metabolismo de Carbohidratos

Cuando hablamos de los hidratos de carbono o carbohidratos automáticamente pensamos en ellos como fuentes de energía, siendo cierto; pero, estos compuestos tienen otras funciones importantes para el organismo, como componentes estructurales de la célula (pared celular), participar en los sistemas de protección articular y otros (Stryer 2013).

Estos compuestos se encuentran formando parte de las plantas, las que representan entre el 60 y el 90 por ciento del peso de la materia seca (MS) de ellas, una característica de estos compuestos es que contienen elementos como el carbono, hidrógeno y oxígeno

(Garnsworthy 2009). Los carbohidratos están compuestos por moléculas más pequeñas que contienen de tres a seis átomos de carbono, presentando diferencias en tamaño y configuración estereoquímica (Stryer 2013). Así de acuerdo a su conformación estructural, se han separado a los hidratos de carbono en monosacáridos, disacáridos o polisacáridos (Case 2011).

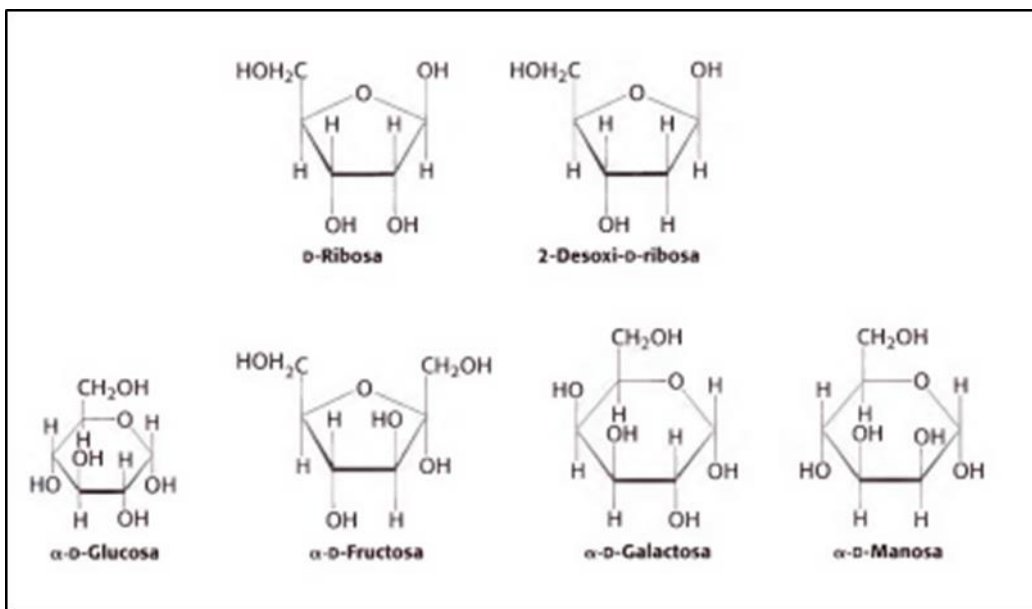


Figura 2. Estructura de los Carbohidratos

Fuente: (Stryer 2013)

Los disacáridos están formados por dos unidades de monosacáridos unidos entre sí (Stryer 2013), la lactosa que, normalmente encontramos en la leche de los mamíferos, contiene una molécula de glucosa y una molécula de galactosa, siendo el único carbohidrato de origen animal que tiene algún significado en la dieta (Akers y Denbow 2013). Otro disacárido muy conocido es la sacarosa (azúcar de mesa) está formada por una molécula de glucosa unida a una molécula de fructosa, la encontramos en la caña, remolacha y en el jarabe de arce (Chandler y Takashima 2014).

En la nutrición de caninos, se menciona que la incorporación de carbohidratos debe estar en un orden del 30 o 60 por ciento, aunque se puede llegar a niveles del 70 por ciento inclusive (Case 2011). Al nacimiento los caninos como la mayor parte de mamíferos se alimentan de la leche materna y la galactosa no se encuentra en forma libre en los alimentos, sin embargo,

es aproximadamente el 50 por ciento del disacárido lactosa, que está presente en la leche de todas las especies de mamíferos (Gómez 2013).

La amilosa y la amilopectina son las principales formas de almidón dietético y algunos granos de cereales como el maíz, el trigo, el sorgo, la cebada y el arroz son los principales ingredientes que proporcionan almidón a los alimentos para perros (Case 2011).

En la actualidad en diferentes regiones, siguen investigándose nuevas fuentes de carbohidratos (tradicionales) para ser incluidas en los alimentos para mascotas, así por ejemplo un estudio en el Perú determinó la digestibilidad del camote combinado con el alimento comercial a partes iguales alcanzando una digestibilidad del 85 por ciento (Matute 2013), en otro estudio se incluyó en la dieta zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza*) basados en que esta posee 20 por ciento de amilosa y 80 por ciento de amilopectina, en su composición, siendo otra fuente alterna de carbohidrato que podría usarse en los alimentos para caninos (Barrera 2004).

A pesar de esto la mayoría de alimentos comerciales siguen utilizando como principales fuentes de carbohidratos al gluten de maíz y a la pulpa de remolacha dentro de sus fórmulas nutricionales (Gómez 2013).

c3. Digestión y Metabolismo de Proteínas

Al momento de formular un alimento balanceado para cualquier especie, será necesario tomar en cuenta el nivel de proteína a utilizar y básicamente la fuente de donde se van a obtener esas proteínas, más aún, si se está formulando para alimentos de mascotas que tienen un alto requerimiento proteico (carnívoros) por naturaleza (Dust 2005). La proteína siendo un constituyente de los alimentos, se encuentran en diferentes proporciones en ellos, de igual manera está constituida por aminoácidos los cuales son necesarios para la síntesis de proteínas endógenas y otros compuestos endógenos que contienen nitrógeno (Chandler y Takashima 2014), al respecto se abordará posteriormente. La cantidad de proteína requerida por un perro depende de la edad (AAFCO 2003).

Un cachorro (animales de 2 meses hasta un año de edad), el cual se encuentra en crecimiento continuo, tiene una mayor demanda de proteínas, en contraste, un perro adulto (animales de más de un año) requiere menos proteína para mantener la masa muscular y el metabolismo

corporal (NRC 1985). Estos requerimientos deben ser cumplidos, la industria actual de alimentos para mascotas está creciendo rápidamente, con propietarios cada vez más exigentes de alimentos de alta calidad para sus mascotas (WSABA 2011).

Una vez que los alimentos ingresan al tracto digestivo, la digestión del sustrato proteico inicia por acción química de la pepsina. Esta enzima funciona de manera óptima a un pH de 1,5 - 2,5; y lo que hace escindir los enlaces que involucran tirosina y fenilalanina, digiriendo alrededor de 10 - 15 por ciento de la proteína de la dieta previo a ser inactivada en la luz del intestino delgado (Case 2011). Posteriormente en el proceso digestivo a nivel del intestino delgado actúan otras dos enzimas que son, la tripsina y la quimotripsina segregadas por el páncreas, la misma que descompone las proteínas en péptidos (Strombeck 1995). También trabajan en este proceso las enzimas carboxipeptidasas, aminopeptidasas y dipeptidasas que escinden adicionalmente las proteínas que contienen sustancias esenciales (Agar 2008).

Las proteasas pancreáticas (exo y endopeptidasas), que son enzimas que contienen zinc, se secretan en una forma inactiva, en el interior de la luz duodenal (borde cepillo), inician una cascada de eventos proteolíticos que conducen a su activación (Engelking 2011). Cuando se ha producido la hidrólisis de los oligopéptidos la mayoría de los aminoácidos resultantes son absorbidos por las células de la pared intestinal por difusión pasiva (Cunningham's 2014), sin embargo, aproximadamente un 20 por ciento de penta o hexapéptidos tienen que ser degradados en las células de la pared del intestino a aminoácidos más simples, para que puedan ser absorbidos. La vía de absorción de los aminoácidos es predominantemente dependiente del sodio, los que son transportados por mecanismos activos a través de la apertura de canales de Na^{++} y la activación de la $\text{Na}^{+} / \text{K}^{+}$ -ATPasa (Engelking 2011).

Fisiológicamente algo particular ocurre en los neonatos, donde las inmunoglobulinas (que constituyen aproximadamente la mitad de la proteína que se encuentra en el calostro) pueden ser absorbidas intactas durante un corto período de tiempo (aproximadamente 24 a 36 horas después del nacimiento) pese a su gran tamaño y elevado peso molecular, pero posteriormente la mayoría se digieren disminuyendo la capacidad inmunológica de los alimentos después de este tiempo (Chandler y Takashima 2014).

Los aminoácidos libres, productos de la digestión y absorción a nivel intestinal, se transportan a través de la circulación portal al hígado, este órgano juega un papel

fundamental en la determinación del tipo y la cantidad de aminoácidos liberados en la circulación general (sistémica) para que cada uno cumpla con su función particular en la síntesis proteica (Akers y Denbow 2013).

A lo largo del tiempo se han realizado numerosos estudios con relación al requerimiento de proteínas en los perros adultos y en sus diferentes etapas; sin embargo, no se ha llegado a un consenso en cuanto al nivel de proteína adecuado, concluyendo en muchos de ellos que este nivel dependerá de la calidad de proteína utilizada (Gómez 2013). El Consejo Nacional de Investigación de Estados Unidos (NRC) recomienda un requisito mínimo de proteína de 80 g de proteína cruda por kg de dieta en alimentos para mascotas con una densidad energética de 4.0 kilocalorías (kcal) ME/g, cuando las proteínas son de alta calidad (ambas biodisponibles y con las cantidades correctas de los aminoácidos esenciales) en la dieta (Case 2011). Esto es equivalente a solo el 7 por ciento de la EM de la dieta. La cantidad recomendada por la NRC es ligeramente más alta (8,75 por ciento de EM), presumiblemente para tener en cuenta los coeficientes de digestibilidad más bajos de las fuentes de proteína utilizadas en las dietas prácticas.

Siendo importante que al momento de alimentar a los perros con fuentes de proteínas de menor calidad (factor común en los alimentos comerciales de América Latina) las estimaciones de requerimientos de proteínas aumenten significativamente, típicamente tan altas como el 20 por ciento de las calorías EM (Gómez 2013), razón por la que los perfiles de nutrientes actuales de la Asociación Americana de Oficiales de Control de Alimentos (AAFCO) para perros recomienda que los alimentos para perros adultos en mantenimiento contengan al menos el 18 por ciento de las calorías de EM como proteína (Case 2011).

Cuando se producen desbalances nutricionales debido a la cantidad o a la calidad de la proteína proporcionada en los alimentos, los perros pueden mostrar signos de deficiencia proteica como retraso del crecimiento en animales jóvenes, en los canes adultos podemos observar pérdida de peso, disminución de la condición corporal por abajo de la condición magra, alteraciones reproductivas con disminución en sus índices de natalidad o destete (Couto 2010).

Además, podemos observar a largo plazo disminución de la concentración de proteínas plasmáticas principalmente albúmina, lo cual podría incluso ocasionar trastornos de la

presión coloidosmótica con el consecuente desarrollo de edema o ascitis (Ettinger 2006). Este problema suele observarse cuando los propietarios proporcionan alimentos económicos en los cuales no se cubren los requerimientos, ya que para su elaboración utilizan materias primas de baja calidad, o cuando se mezclan los alimentos balanceados con comidas caseras desbalanceando la fórmula (Buff 2014).

También puede ocasionarse un desbalance por exceso de proteína en la dieta, aunque es menos frecuente que ocurra, sin embargo, esto va a depender de la condición energética en la que se encuentre el animal, así, si el animal tiene un balance energético negativo, el exceso de proteína se utilizará como fuente de energía. Por el contrario, si el animal tiene un equilibrio de energía cero o positivo (es decir, consume una energía adecuada o en exceso de la que está consumiendo, respectivamente), el exceso de proteína se depositará en forma de grasa y el nitrógeno se excretará en la orina (Case 2011).

Un animal en su organismo puede contener hasta 100.000 tipos diferentes de proteínas. Una vez que se realiza la síntesis de proteínas en el ribosoma, cada una de las moléculas se pliega en estados conformacionales específicos codificados en su secuencia de aminoácidos para poder llevar a cabo su acción fisiológica (Engelking 2011).

c4. Aminoácidos

Tradicionalmente a los aminoácidos solo se los ha asociado con su importancia en la síntesis de proteínas y de acuerdo a eso se los había clasificado como esenciales o no esenciales en dependencia de si podían ser sintetizados por el organismo o no cuando estos estaban ausentes en la dieta (D'Mello 2003). En los últimos años las investigaciones con respecto a las funciones fisiológicas y bioquímicas de los aminoácidos han permitido conocerlos mejor y clasificarlos desde diferentes puntos de vista (Case 2011).

De esta manera con la información recopilada podemos clasificar a los aminoácidos en la siguiente tabla:

Tabla 7. Clasificación General de los Aminoácidos

Característica de Clasificación	Aminoácidos (AA)
<p>Grupos de Transporte</p> <p>Estas características les permiten tener particularidades en la absorción (intestinal) o en su intercambio en diferentes barreras orgánicas (SNC).</p>	<p>AA: aniónicos, catiónicos y neutros</p>
<p>Esencialidad</p> <p>AA Esenciales: La necesidad de estos aminoácidos surge de la incapacidad de todos los animales para sintetizar el correspondiente esqueleto de carbono o cetoácido. Estos aminoácidos se clasifican como "indispensables" o "esenciales" y la provisión de estos nutrientes es obligatoria.</p> <p>AA No Esenciales: Aquellos aminoácidos que los animales son capaces de sintetizar se denominan " prescindibles" o "no esenciales".</p> <p>AA Condicionalmente No Esenciales: Aminoácidos que pueden ser sintetizados bajo la presencia solo de algunos aminoácidos esenciales.</p> <p>AA Requeridos esencialmente por algunas especies: Aminoácidos que son esenciales y deben ser suplementados en la dieta para ciertas especies que no tienen la capacidad para sintetizarlos.</p>	<p>Lisina (LYS), Histidina (HIS), Leucina (LEU), Isoleucina (ILE), Valina (VAL), Metionina (MET), Treonina (THR), Triptófano (TRP), Fenilalanina (PHE)</p> <p>Glutamato (GLU), Glutamina (GLN), Glicina (GLY), Serina (SER), Alanina (ALA), Aspartato (ASP), Asparagina (ASN)</p> <p>Cisteina (CYS), Tirosina (TYR), Arginina (ARG), Prolina (PRO)</p> <p>Arginina (ARG) (gatos, aves y peces) Taurina (gatos)</p>

<<continuación>>

<p>Capacidad de sintetizar glucosa o grasa:</p> <p>AA Glucogénicos: Aquellos aminoácidos que se descomponen en piruvato o intermedios clave del ciclo de ácido tricarbóxico tienen el potencial de producir glucosa a través de fosfoenolpiruvato.</p> <p>AA Cetogénicos: Los aminoácidos que producen acetil CoA o acetoacetil CoA se clasifican como cetogénicos ya que los dos últimos compuestos son los precursores de los cuerpos cetónicos.</p> <p>AA GLUCOGÉNICOS Y CETOGÉNICOS: actúan por las dos vías mencionadas anteriormente.</p>	<p>THR, ARG, MET, VAL, HIS, CYS, GLU, GLN, ASP, ASN, GLY, PRO, SER, ALA</p> <p>LEU, LYS</p> <p>ILE, PHE, TYR, TRP</p>
---	---

Fuente: Case (2011), Engelking (2011), Stryer (2013)

Algunos aminoácidos son agrupados de acuerdo a características en su estructura química por ejemplo tenemos los aminoácidos de cadena ramificada (BCAAs, Branched-Chain Amino Acids), se refieren a un tipo de aminoácidos que posee un compuesto alifático que es no lineal entre ellos se encuentran LEU, ILE, VAL (Stryer, 2013). Otros grupos de aminoácidos son los aminoácidos aromáticos, denominados de esa manera ya que en su estructura tienen un anillo benceno y son precursores de aminas biogénicas entre estos tenemos a PHE, TRP y TYR y los aminoácidos azufrados MET, CYS (Engelking 2011).

En diferentes estudios se indican a diez AA como esenciales en la nutrición de caninos principalmente cachorros en crecimiento estos son: arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina (Case 2011). Así, a continuación, podemos citar algunas características importantes de estos aminoácidos en la nutrición de los caninos.

Actualmente en el mundo existe la tendencia al consumo de alimentos naturales o veganos en los que no se incorporan proteínas de origen animal, debiendo tener especial precaución debido a que habrá mayor dificultad en llegar a aportar todos los aminoácidos en las

cantidades adecuadas (Buff *et al.*, 2014). Así, un estudio realizado en Estados Unidos en alimentos para mascotas concluyó, que, de un total de ocho dietas, seis no cumplieron con los niveles mínimos de AA, en comparación con los perfiles de nutrientes AAFCO. De estas seis dietas, una estaba por debajo de los requisitos mínimos de AAFCO en cuatro AA (leucina, metionina, metionina-cistina y taurina), 2 estaban por debajo en 3 AA (metionina, metionina-cistina y taurina), 2 estaban por debajo en 2 AA (lisina y triptófano), y 1 estaba abajo en 1 AA (triptófano). Solo 3 y 8 dietas (con y sin una declaración de contenido de calorías como requisito, respectivamente) cumplían con todas las regulaciones de alimentos para mascotas establecidas por la AAFCO (Kanakubo 2015).

A partir de ello, se citan dos aminoácidos fundamentales en la alimentación de caninos:

- *Arginina (ARG)*: Este aminoácido en muchos animales no se considera como esencial, principalmente en animales adultos, ya que la mayoría de animales lo pueden sintetizar, sin embargo, en los perros se ha demostrado que pequeñas deficiencias de este aminoácido pueden ocasionar problemas ya que aparte de ser necesario para la síntesis normal de proteínas es un componente esencial del ciclo de la urea (Chandler y Takashima 2014). En este ciclo, la arginina funciona como un precursor de ornitina y urea, permitiendo que las grandes cantidades de nitrógeno generadas por el catabolismo de aminoácidos en los carnívoros se conviertan en urea para su excreción (Couto 2010). Al presentarse la deficiencia de este aminoácido el nitrógeno no puede ser liberado a través del ciclo de la urea, tanto la urea libre como el amoníaco comenzarán a aumentar en la sangre pudiendo atravesar a compartimentos como el sistema nervioso y ocasionar convulsiones u otros signos neurológicos, la acidosis metabólica y signos de síndrome urémico serian otras consecuencias observadas por el aumento de urea (Ettinger 2006).
- *Lisina (LYS)*: Estudios recientes con respecto a la lisina, indican que su requerimiento en los perros en crecimiento tiende a incrementar a medida que aumenta el nivel de proteína total en la dieta, este efecto se ha demostrado en otras especies y puede ser el resultado de desequilibrios de aminoácidos y antagonismos con la lisina a niveles más altos de ingesta de proteínas, debiendo tener precaución al momento de manejar el concepto de proteína ideal (Case 2011). Por otro lado, hay que recordar el concepto de biodisponibilidad, ya que al momento de la elaboración de los alimentos balanceados el tratamiento térmico es ampliamente utilizado esto con el fin de

mejorar la digestibilidad de los nutrientes y aumentar la vida útil y la seguridad alimentaria (Gómez 2013). Los tratamientos térmicos en croquetas extruidas, hablan de procesos a temperaturas de 80-200 ° C durante 10-270 segundos bajo alta presión, mientras que las comidas enlatadas se calientan hasta que se alcanzan temperaturas de 121 °C durante más de 10 minutos, los alimentos peletizados para mascotas se tratan térmicamente de manera relativamente suave usando temperaturas de 60-90 °C durante 30-45 segundos.

Está descrito que el aumento de las temperaturas y los tiempos de procesado durante la elaboración de los alimentos inducen la reacción de Maillard, donde un azúcar reductor se une a un grupo amino libre de un aminoácido, bloqueando su sitio reactivo. Cuando el grupo reactivo ϵ -amino de la lisina es el sustrato de la reacción, se forman derivados de lisina modificados, que pueden ser parcialmente absorbidos pero que el animal no puede utilizar por completo, reduciendo así el valor nutritivo de los alimentos (Van Rooijen 2014). En un estudio realizado por Van Rooijen, *et al.* (2014), determinaron al momento de valorar la lisina reactiva (LR) con relación a la lisina total (LT) de los alimentos balanceados para mascotas, que un alto número de alimentos balanceados tenían entre 96 y 138 por ciento de LR, cuando el valor que estos alimentos deberían tener de acuerdo a la AFFCO (2003) es de entre el 62 y 104 por ciento, por lo que teniendo en cuenta esta variabilidad en la digestibilidad de LR, estos alimentos podrían estar en riesgo de no cumplir con la MLR para perros en crecimiento (Van Rooijen 2014).

- Glutamina y BCCA en la nutrición animal

- Glutamato y glutamina

- El glutamato es un aminoácido clasificado dentro del grupo de los aminoácidos no esenciales, un aminoácido proteico que sirve como componente estructural de órganos fundamentales como el músculo, hígado, piel, tejido conectivo, etc. Al Glutamato lo podemos encontrar como aminoácido libre en las proteínas de muchos alimentos, donde se encuentra en mayor cantidad que muchos otros aminoácidos (Reyes 2013).

- El glutamato es un aminoácido dicarboxílico que se considera como importante combustible oxidativo para el intestino, siendo la fuente de energía del enterocito. Además, el glutamato es un precursor importante para otras moléculas

biológicamente activas, como el glutatión, la prolina y la arginina, y también funciona como un neurotransmisor clave en el sistema nervioso central (Burrin 2008).

Metabolismo del Glutamato: Uno de los aspectos más importantes del glutamato definitivamente, es su síntesis a partir del nitrógeno del ambiente, esto debido a que es el único aminoácido sintetizado completamente a partir del amonio que se encuentra producido por plantas y bacterias (Reyes 2013). Por consiguiente, el hombre y los animales al consumir plantas y vegetales están consumiendo compuestos nitrogenados y proteínas convirtiendo el nitrógeno atmosférico en moléculas disponibles para su alimentación (Stombeck 1995). Una vez que las proteínas de origen animal y vegetal son degradadas a péptidos más sencillos y muchas hasta aminoácidos estos son absorbidos en la pared del intestino por procesos activos o por transportadores específicos.

Se ha mencionado ampliamente que muchos aminoácidos son absorbidos mediante un transporte activo mediado por Na^+ (Stryer 2013), si bien el glutamato se transporta mediante este proceso, algunos informes recientes han demostrado que este aminoácido se transporta además por vesículas (VGLUT) mediante dos transportadores que son VGLUT1 y VGLUT2, que están presentes tanto en el sistema nervioso entérico (SNE) como en el tejido pancreático (Burrin 2008).

Varios estudios realizados en lechones han demostrado que el glutamato se metaboliza ampliamente en los enterocitos, al inicio estudios preliminares realizados por Windmueller y Spaeth, citados por (Burrin 2008), usando un intestino de rata infundieron in situ glutamato y establecieron que solo pequeñas fracciones de glutamato administrado luminalmente se absorbe hacia la sangre venosa mesentérica. Estudios posteriores en cerdos jóvenes, bebés prematuros y humanos adultos han confirmado que el glutamato dietético es ampliamente metabolizado por el intestino y que la oxidación a CO_2 es su principal destino metabólico.

c5. Glutamato en los principales procesos metabólicos

Varios estudios realizados en torno al glutamato, indican que su metabolismo es una ventana al metabolismo intermediario, debido a que en varios experimentos con isótopos han dado seguimiento a su recorrido en el organismo como aminoácido libre, desde que ingresa al organismo, y es liberado luego por hidrólisis proteica o sintetizado por el propio organismo

(de acuerdo a las necesidades fisiológicas) concluyendo que a nivel hepático participa en tres procesos metabólicos importantes que son (Reyes 2013):

- Reacciones de transaminación y desaminación
- Ciclo de la Urea
- Bisagra entre los ciclos de Krebs y de la urea

c6. Glutamato y glutamina en la salud intestinal

La microbiota gastrointestinal (GI) es una colección compleja de microorganismos, donde se encuentran bacterias, arqueas, hongos, protozoos y virus. Recientes estudios filogenéticos moleculares, típicamente basados en el análisis comparativo del gen 16S rRNA, han revelado que el tracto GI de los mamíferos alberga varios cientos a miles de filogramas genéticos de bacterias (Suchodolski 2011). Este sistema de interacción mutua compuesto por las células anfitrionas y los microbios residentes se llama microbioma intestinal. Los microbios intestinales juegan un papel crucial en la salud del hospedador, actúan como una barrera de defensa contra los patógenos invasores, ayudan en la digestión y la cosecha de energía de la dieta, proporcionan apoyo nutricional para los enterocitos y estimulan el desarrollo del sistema inmune. Los enfoques moleculares han mejorado nuestra comprensión sobre la composición, la dinámica y la funcionalidad del ecosistema intestinal en perros y gatos (Martí 2013).

El tracto gastrointestinal de los animales está colonizado por una gran variedad de microorganismos llamado comúnmente flora intestinal, en condiciones normales en pacientes graves se produce un cambio en el ambiente intestinal con la proliferación bacteriana desmedida y la traslocación de gérmenes y toxinas, provocando consecuencias como la sepsis (Canul 2009).

Desde los trabajos hechos por Windmueller y Spaeth, la glutamina ha sido considerada esencial para la integridad de las funciones de la mucosa intestinal. Se ha observado que el glutamato y la prolina provenientes de la dieta pueden sustituir la generación de energía y síntesis de aminoácidos realizadas por la Gln. Además, las células de la mucosa pueden sintetizar Gln, siendo esta una evidencia del gran aporte de estos aminoácidos en la salud intestinal (Suchodolski 2011).

c7. Glutamato y glutamina en el Sistema Inmune

El sistema inmune a nivel celular tiene como fuente de energía a la glucosa, la misma que se convierte en lactato a través del proceso de glucólisis, al mismo tiempo la glutamina en las células inmunitarias se convierten en glutamato, aspartato y alanina (glutaminólisis), siendo estos dos procesos claves para el correcto funcionamiento de este sistema (Cruzat *et al.* 2018). Así, la obtención de energía y la expresión de varios genes del sistema inmunitario dependen de la disponibilidad de glutamina en las células inmunitarias, resultando deficiente los procesos de reparación tisular y el reconocimiento de patógenos cuando la demanda de estos aminoácidos aumenta o cuando su disponibilidad disminuye (Lobley *et al.* 2018).

La glutamina incrementa la actividad de los neutrófilos, controlando de esta manera procesos de tipo inflamatorio, se ha determinado que el consumo de glutamina por los neutrófilos es superior al observado los linfocitos y por otros macrófagos (Cruzat *et al.* 2018, Kang *et al.* 2012), este efecto fue observado al suplementar a perros de raza Beagle con L-alanina y L-glutamina por vía parenteral. Se ha determinado un incremento en la proliferación linfocitaria en personas y en animales suplementados con glutamina, determinándose contajes de CD4+ y CD8+ superiores en comparación de aquellos individuos a quienes no se administró dichos aminoácidos (Zhou *et al.* 2019).

Son varios los mecanismos por los cuales la glutamina actúa en las células del sistema inmune siendo los más relevantes el trabajar como sustrato energético, la desaminación de glutamato por la glutamato deshidrogenasa, para la regeneración del glutatión y la conversión de glutamato a malato (Cruzat *et al.* 2018).

c8. Glutamato y Glutamina en Nutrición Parenteral

La suplementación de glutamina (Gln) ha sido efectiva para reducir la morbi-mortalidad de los pacientes catabólicos y proteger contra fenómenos de lesión del estrés oxidativo (Canul 2009). La Gln es un aminoácido semiesencial involucrado en la producción de urea en hígado, formación de amoniaco en el riñón, de glucogénesis y fuente de energía para algunas células. Se ha considerado que en situaciones de estrés su concentración disminuye; haciéndose necesaria la suplementación para disminuir complicaciones. Se reconoce también que es precursor de glutatión, considerado un potente antioxidante, y del neurotransmisor glutamato (Burrin 2008). La suplementación se

recomienda en pacientes con enfermedad grave en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), pacientes hematológicos, oncológicos, quemados y postquirúrgicos, entre otros.

Los ensayos clínicos en personas y en animales han evaluado la glutamina como un nutriente enteral y un nutriente parenteral. En general, es menos probable que la suplementación enteral aumente el nivel plasmático de glutamina y es más probable que la suplementación parenteral mejore el balance de nitrógeno y proporcione un beneficio en el resultado clínico. De hecho, una revisión sistemática en hospitales humanos expone la evidencia que examina la relación entre la administración de suplementos de glutamina y la duración de la estancia hospitalaria, las tasas de complicaciones y la mortalidad en pacientes sometidos a cirugía y enfermedad crítica encontró que el mayor beneficio fue en pacientes que recibieron glutamina parenteral en dosis altas (Coster *et al.* 2004).

- **Aminoácidos de cadena ramificada (BCCA)**

Como está descrito en la tabla 7, los BCCA (leucina, isoleucina y valina) son aminoácidos esenciales, cuyos requerimientos en los mamíferos indispensablemente deben ser cubiertos por la ingesta de alimentos ricos en estos compuestos (Brosnan y Brosnan 2006). Desde la década de los años 70 se han realizado varios estudios en los cuales se han evaluado los efectos de la carencia y de la suplementación de estos aminoácidos en varias especies animales, sin embargo, los estudios con estos compuestos continúan hasta la actualidad ya que gracias a las nuevas técnicas de diagnóstico se han llegado a determinar nuevas funciones lo que abre la puerta a su aplicación en la prevención y en el tratamiento de varias condiciones clínicas (Nie *et al.* 2018).

- **Metabolismo de los BCCA**

Los BCCA son aminoácidos esenciales que se encuentran en la fracción proteica de los alimentos de origen animal (carnes rojas, carnes blancas, pescado y vísceras) y de origen vegetal (soya, trigo, maíz y otros vegetales), por lo general estos aminoácidos se encuentran en estos alimentos en una proporción 2:1:1, para la leucina, isoleucina y valina correspondientemente (Michael *et al.* 2016).

Luego del proceso digestivo que sufren las proteínas mediante enzimas proteolíticas en el estómago y en el intestino, los aminoácidos ramificados producto de la digestión son absorbidos a través de la pared intestinal mediante un transporte activo mediado por el sodio

(Na⁺), una vez en el torrente sanguíneo y en la linfa estos aminoácidos son transportados de manera primaria al hígado y posteriormente al resto de órganos (Case 2011).

La cantidad y concentración de los BCCA es biológicamente estable, siempre y cuando los sustratos cumplan con los requerimientos que cada especie animal requiere, cumplen con importantes funciones en órganos como el hígado, riñones, cerebro, corazón, pulmones y músculo, siendo la síntesis de proteínas su fundamento (Zhang *et al.* 2018). Recientes estudios indican importantes funciones de estos aminoácidos en la homeostasis del sistema gastrointestinal mediante la regulación de su microflora, además de efectos puntuales en el sistema inmunológico (Zhou *et al.* 2018).

En la información reportada por Nie *et al.* (2018), se ha comprobado en cerdos, dietas con niveles inferiores al 16,7 por ciento mostraron signos de deficiencia de este tipo de aminoácidos las cuales fueron corregidas con la suplementación de los mismos en la dieta.

A diferencia de otros aminoácidos solo un valor aproximado de 50 por ciento de los BCCA una vez absorbidos llega al hígado para ser metabolizado y catabolizado, el 50 por ciento restante pasa directamente a otros órganos y a los tejidos periféricos. Si bien los componentes enzimáticos para su biotransformación se encuentran en el hígado, el catabolismo de los BCCA ocurre principalmente en otros órganos (Shimomura y Kitaura 2018). Así, el catabolismo de estos aminoácidos primariamente se produce por mecanismos de transaminación para la formación de los respectivos α -oxoácidos los cuales posteriormente por mecanismos de decarboxilación oxidativa dan lugar a derivados insaturados mediante los cuales son eliminados (Baker 2005).

Se ha reportado en un estudio realizado en perros Beagle machos de 10 a 12 semanas de edad que los requerimientos de los BCCA correspondieron a: 0,65 por ciento de leucina, 0,40 por ciento de isoleucina y 0,43 por ciento de valina, los cuales eran cubiertos con un aporte de 59 mg de leucina, 98 mg de isoleucina y 105 mg de valina por 100 kcal de energía metabolizable de alimento (Burns *et al.* 1984), estos requerimientos han presentado pequeñas variaciones a los largo del tiempo si los comparamos con los establecidos por la FEDIAF en el año 2017 (anexo 1).

- **Funciones de los BCCA**

Síntesis de Proteínas: En estudios realizados *in vitro* e *in vivo* se ha determinado el efecto estimulante de los BCCA en la síntesis de proteínas, de los tres aminoácidos de cadena ramificada es la leucina (Leu) la que ha demostrado tener mayores efectos con respecto a esta función. Este efecto se lo asocia con la activación de la vía del mTOR (factor estimulante de rapamicina), el cual estimula al ARN mensajero (ARNm) incrementando la síntesis de proteínas (Shimomura y Kitaura 2018). A nivel del músculo esquelético, la síntesis proteica responsable del aumento de masa muscular que se ha evidenciado en personas y en animales suplementados con estos aminoácidos, se debe en parte a una mayor actividad de la insulina lo cual promueve el depósito de glucosa a nivel muscular y hepático en forma de glucógeno (Kimball y Jefferson 2001). Otros estudios han demostrado que la leucina y la valina estimulan la síntesis proteica tras inhibir su degradación, esto mediante el incremento de la actividad y la viabilidad del factor específico de iniciación eucariota (Yoshizawa 2004, Nie *et al.* 2018).

Salud Intestinal: En estudios realizados en personas y animales se han determinado los efectos benéficos de los BCCAs en la salud intestinal, junto con otros aminoácidos como la glutamina, la arginina y la treonina los BCCAs aumentan la síntesis de compuestos nitrogenados los cuales sirven de sustrato para el desarrollo de la flora bacteriana benéfica controlando al mismo tiempo el crecimiento de la flora bacteriana patógena, evitando así la disbiosis intestinal que bajo factores de estrés como se presenta en el ayuno prolongado o en estadios de transición alimentaria (destete) puede producirse (Zhou *et al.* 2018). Este efecto se asocia a un efecto estimulante sobre la proliferación de enterocitos, con un aumento de la profundidad de las criptas intestinales favoreciendo así la absorción de glucosa y otros nutrientes, incrementando el nivel defensivo de la mucosa intestinal (Nie *et al.* 2018).

Otro mecanismo involucrado en esta función conlleva el aporte de grupos aminos de los BCCAs para la síntesis de glutamato y aspartato, los cuales como se indicó en páginas anteriores son el combustible de los enterocitos para cumplir sus funciones de manera apropiada (Wu 2010).

Inmunidad: Como se ha mencionado los BCCAs protegen la salud intestinal y al mismo tiempo estimulan la inmunidad local evitando el ingreso de bacterias patógenas al torrente circulatorio. Se ha reportado también que la leucina, isoleucina y valina, pueden regular el sistema inmune mediante la estimulación de la secreción de IgA, mejorando la inmunidad humoral de las membranas mucosas de los animales, no solo a nivel digestivo sino también en la región pulmonar, evitando así la presencia de infecciones de tipo respiratorio (Humbert *et al.* 2002).

Estudios recientes indican que varias células del sistema inmunitario celular incorporan BCCA en sus proteínas, mostrando una mayor actividad de la alfa cetoácido deshidrogenasa y descarboxilasa con los que el proceso de oxidación de estos aminoácidos aumenta. La isoleucina (Ile) se encuentra en cantidades elevadas en los linfocitos, eosinófilos y neutrófilos, con menores cantidades de leucina (Nie *et al.* 2018). Se ha determinado que su deficiencia en la dieta puede disminuir esta población celular, predisponiendo a los animales al desarrollo de infecciones, más aún cuando los animales se encuentran en estados de estrés o de hipercatabolismo (Shimomura y Kitaura 2018).

A este respecto, los BCCA estimulan también al sistema celular específico de defensa ya que sirven como combustible para los linfocitos CD4+ y CD8+, además de trabajar en la activación de las defensinas y otros factores proinflamatorios propios de la respuesta séptica en pacientes críticos con la presencia de shock séptico o endotóxico (Zhang *et al.* 2018).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DEL ESTUDIO

En el Centro Experimental Uyumbicho de la Universidad Central del Ecuador, ubicado en la provincia de Pichincha, parroquia de Uyumbicho entre las coordenadas 23 ° 23 ' 00 "S, 78 ° 31 ' 00 "O a 3725 msnm con temperaturas promedio de 18,5 °C y humedad relativa de 87 por ciento.

3.2 ANIMALES EN ESTUDIO

Las camadas de cachorros aparentemente sanos de 25 días de nacidos fueron obtenidas en hogares de zonas urbano marginales de la ciudad de Quito, cuyos tutores manifestaron no tener interés por los cachorros por ser animales mestizos. Estos provinieron de madres que se alimentaron durante su periodo de gestación y lactancia con una dieta mixta, en base a alimento balanceado comercial y dieta casera. Se obtuvieron 31 cachorros: camada uno (C1) con siete hermanos (5 hembras; 2 machos); camada dos (C2) ocho hermanos (6 hembras; 2 machos); camada tres (C3) ocho hermanos (4 hembras; 4 machos) y la cuarta camada (C4) ocho hermanos (4 hembras; 4 machos). A su ingreso al centro de crianza los animales fueron identificados y registrados en un expediente clínico individual. Desde su ingreso y semanalmente fueron valorados a través de una exploración clínica completa la cual incluye la valoración por camada y la valoración individual de cada cachorro, registrando todos los datos en una historia clínica individual (anexo 3). En la camada se valoró el comportamiento, la homogeneidad y la condición corporal asociada al estado nutricional, con el registro de pesos y consumos de alimento.

De manera individual a cada neonato se examinó empleando las técnicas básicas de exploración (observación, palpación, palmoperCUSión y auscultación). Se descartó la presencia de lesiones externas y de ectoparásitos sobre la piel, se prestó especial atención a la valoración de los reflejos de deglución, de retiro, de tos en los neonatos. En cada examinación, se evaluaron las constantes fisiológicas de manera individual entre ellas la frecuencia cardiaca (FC), frecuencia respiratoria (FR), pulso (P) y temperatura (T),

parámetros que se encontraban dentro de los rangos establecidos por Grundy et al.2006. Durante el tiempo que duró el experimento todos los cachorros fueron vacunados y desparasitados bajo el mismo esquema:

- Vacuna Vanguard Plus ® (Parvovirus-cononavirus), 45 días de edad.
- Vacuna Vanguard Plus 5/L® (Distemper, Adenovirus Tipo 2, Parainfluenza, Parvovirus, Leptospirosis), 66 días de edad.
- Vacuna Vanguard Plus 5/L® (Distemper, Adenovirus Tipo 2, Parainfluenza, Parvovirus, Leptospirosis), 87 días de edad.
- Vacuna Defensor® (Rabia), 108 días de edad.

Las desparasitaciones se realizaron con cada vacuna empleando un preparado comercial en base de embonato de pirantel; (equivalente a 5 mg de pirantel base) 14.4 mg y febantel 15 mg; Excipientes para 1 ml, a razón de 1 ml/kg de peso.

3.3 DIETA Y SUPLEMENTACIÓN

A la llegada los cachorros tuvieron un periodo de adaptación de cinco días en el cual se les administró un sustituto de leche comercial mezclado con una dieta comercial, a partir del día 30 la base de la alimentación correspondería a un alimento balanceado comercial premium, este alimento fue analizado en un estudio preliminar en el cual se determinó la calidad nutricional del mismo y el perfil de aminoácidos bajo el cual se realizaría posteriormente la suplementación de los aminoácidos en estudio, durante los 90 días que duró el experimento (Tablas 8 y 9).

3.3.1 Análisis del alimento empleado en el mantenimiento de los cachorros

Como parte primaria de la investigación, se analizó la composición nutricional de tres alimentos balanceados para cachorros producidos y comercializados en el Ecuador, para seleccionar el alimento a emplear en la fase experimental, el alimento A1, su selección obedeció a factores de factibilidad y nutricional, se observa en las Tablas 8 y 9 que cumple con los requerimientos establecidos por la FEDIAF (2017) para los cachorros de esa edad.

El análisis de los alimentos se realizó empleando la técnica de NIRS para la valoración de los macronutrientes (Tabla 8) y la técnica de HPLC (Tabla 9) para el perfil de aminoácidos, cabe recalcar que en el estudio preliminar se analizó el alimento A1 que fue el alimento a emplear en la fase experimental y dos alimentos más (A2 y A3), los cuales se producen y comercializan en el Ecuador.

Tabla 8. Contenido de macronutrientes de los alimentos analizados

Nutriente	A1	A2	A3	Media	CV (%)	Kruskal	pvalue
Proteína (%)	24,26±1,16a	24,51±1,16a	30,98±0,66b	26,58	12,52	15,39	0,00045
Grasa (%)	10,96±1,06a	10,24±0,94a	15,58±0,56b	12,25	20,90	16,34	0,00028
Humedad (%)	6,21±0,43a	8,20±0,82b	7,85±0,84b	7,41	15,12	--	0,000041
Fibra (%)	3,26±0,65a	2,39±0,44b	2,54±0,34b	2,73	22,50	--	0,00496
Almidón (%)	32,3±1,58a	37,73±2,36b	26,37±1,13c	32,13	15,93	--	1.28E-09
Cenizas (%)	6,83±0,68a	6,05±0,83a	7,4±1,16b	6,75	15,40	--	0,0256
Energía (Kcal/100 g)	325,48	341,12	369,62	345,40			

A1: Marca Alimento 1; A2: Marca Alimento 2; A3: Marca Alimento 3

Al momento de analizar los resultados de manera individual se determinó que hay variación en el contenido de macronutrientes de cada alimento, sin embargo, se determinó de manera general que los alimentos en estudio cumplen con los requerimientos establecidos en la literatura y por las asociaciones de control.

La calidad de la proteína fue analizada mediante la determinación del perfil de aminoácidos, los resultados obtenidos fueron comparados entre los alimentos y también con los mínimos referenciales presentados por las asociaciones que regulan estos requerimientos mínimos (AAFCO 2016, FEDIAF 2017).

Los niveles de los macronutrientes (proteína, grasa, fibra, almidón y ceniza) y el perfil de aminoácidos en los alimentos premium para cachorros fabricados en el Ecuador analizados, cumplen con los requerimientos mínimos establecidos por las asociaciones internacionales (AAFCO 2016, FEDIAF 2017).

Tabla 9. Perfil de aminoácidos de los alimentos en estudio

Nutriente	Med.±DS A1	Med.±DS A2	Med.±DS A3	Media/DS	CV%	Kruskal Wallis	p valor
Materia Seca							
g/100g	93,89±0,63	92,20±0,68	92,40±0,74	92,83±1	1,08	--	0,0138*
Proteína, g/100g	27,31±0,76	27,97±1,73	32,43±1,06	29,24±2,63	8,99	17,05	0,00439*
Aminoácidos No Esenciales, g/100g							
Alanina	1,62±0,07 a	1,85±0,15 b	2,41±0,10 c	1,96±	18,38	--	0,0000123*
Ac. Aspártico	2,20±0,07 a	2,18±0,08 a,b	2,33±0,06 a, b	2,24±0,09	4,42	--	0,0317*
Ac. Glutámico	4,32±0,06 a	4,15±0,29 a	5,52±0,27 b	4,66±0,67	14,39	--	3,37e-05*
Glicina	2,08±0,14	2,01±0,12	2,18±0,05	2,09±0,12	5,97	--	0,188NS
Serina	1,13±0,04 a	1,16±0,08 a	1,44±0,04 b	1,24±0,15	12,51	--	0,000178*
Aminoácidos Esenciales, g/100g							
Arginina	1,78±0,08	1,67±0,07	1,70±0,03	1,72±0,07	4,53	--	0,138NS
Histidina	0,60±0,005 a	0,59±0,02 a	0,66±0,02 b	0,62±0,03	5,97	--	0,0017*
Isoleucina	1,07±0,05 a	1,10±0,05 a	1,25±0,05 b	1,14±0,09	7,94	--	0,00203*
Leucina	1,96±0,05 a	2,31±0,21 b	3,41±0,19 c	2,56±0,66	25,85	9,84	0,007277*
Lisina	1,46±0,05 a	1,47±0,06 a	1,24±0,02 b	1,39±0,11	8,45	--	0,000227*
Cisteina	0,39±0,02 a	0,38±0,03 a	0,48±0,01 b	0,42±0,051	12,06	--	0,000934*
Metionina	0,48±0,03 a	0,57±0,03 b	0,69±0,04 c	0,59±0,09	15,99	--	0,0000572*
Met-Cis	0,88±0,02 a	0,96±0,07 a	1,18±0,06 b	1,01±0,13	13,75	--	0,000122*
Fenilalanina	1,12±0,02 a	1,18±0,08 a	1,55±0,08 b	1,28±0,20	16,10	8,34	0,0154*
Treonina	0,98±0,04 a	1,00±0,05 a	1,11±0,03 b	1,03±0,07	6,96	--	0,00432*
Valina	1,31±0,05 a	1,35±0,07 a	1,52±0,06 b	1,4±0,11	8,00	--	0,0035*
Prolina	1,83±0,11 a	1,75±0,10 a	2,44±0,10 b	2,01±0,35	17,54	--	0,000251*
Triptófano	0,27±0,003 a	0,25±0,01 b	0,25±0,004 b	0,26±0,01	4,18	--	0,0332*
Otros							
Amoniaco	0,56±0,002 a	0,57±0,03 a	0,74±0,04 b	0,62±0,09	14,56	7,38	0,02491*
AA+Amoniaco	25,26±0,89 a	25,62±1,63 a	30,99±1,16 b	27,3±2,97	10,88	--	0,000196*
Aasin Amoniaco	24,70±0,89 a	25,05±1,6 a	30,25±1,12 b	26,67±2,88	10,80	--	0,000208*

A1= Alimento 1, A2= Alimento 2, A3= Alimento 3. Los datos corresponden al promedio de las variables, en relación a la marca de alimento.* = Diferencias significativas, NS = No significativo

El perfil de aminoácidos, de los tres alimentos Premium de fabricación nacional, supera los requerimientos mínimos de aminoácidos establecidos por la AAFCO (2016), garantizando un perfil aminoacídico que fomenta la salud y el bienestar de los animales que consumen estos alimentos premium.

Las variaciones en las concentraciones de aminoácidos esenciales y no esenciales entre los alimentos en estudio pueden asociarse a las materias primas utilizadas o al proceso de fabricación (Tjernsbekk *et al.* 2016).

Los niveles de los macronutrientes (proteína, grasa, fibra, almidón y ceniza) y el perfil de aminoácidos en los alimentos premium para cachorros fabricados en el Ecuador analizados, cumplen con los requerimientos mínimos establecidos por las asociaciones internacionales (AAFCO 2016, FEDIAF 2017).

En general las medias globales generales de los tres alimentos superan los requerimientos mínimos establecidos. Sin embargo, con el resultado se conoce el perfil de aminoácidos del alimento A1 y por consideraciones logísticas, a partir de este se realizó la suplementación de glutamina y BCCA a los cachorros que serán parte de los diferentes tratamientos.

Tabla 10. Programación de consumo de alimento por semana (90 días experimento)

Semana Experimento	Alimento A1 g/día	Energía Kcal/día
Día 25 -30*	40	130,19
1	60	195,29
2	80	260,38
3	100	325,48
4	120	390,58
5	140	455,67
6	160	520,77
7	180	585,86
8	200	650,96
9	220	716,06
10	240	781,15
11	260	846,25
12	280	911,34

*Suministro de lactorreemplazante adicional al alimento seco

La alimentación se realizó dos veces al día (de manera individual en espacios separados) y la cantidad proporcionada fue calculada semanalmente de acuerdo a la cantidad recomendada por el fabricante según su peso corporal y el requerimiento energético establecido, cumpliendo los requerimientos establecidos por la FEDIAF (2017).

El consumo de alimento fue registrado diariamente y los pesos semanalmente. A partir de los treinta días (inicio del experimento) el alimento fue suplementado con los aminoácidos de acuerdo al tratamiento correspondiente: grupo control (sin suplemento), tratamiento uno (T1: Glutamina 0,5 g/kg de peso), tratamiento dos (T2: BCCA Leucina, Isoleucina y Valina proporción 2:1:1 a dosis de 0.25 g/kg de peso) y tratamiento tres (T3: Glutamina 0,5 g/kg de peso – BCCAs 0,25 g/kg de peso). Los suplementos empleados fueron: L-Glutamina (Glutapure®), BCCA® (leucina, isoleucina y valina, proporción: 2:1:1) de la empresa Ultimate Nutrition, las dosis fueron calculadas de acuerdo con el peso promedio semanal para cada tratamiento y fueron administradas de manera individual por vía oral en la ración de alimento de la mañana, aplicándose el mismo protocolo para todos los animales.

3.4 CONDICIONES DE LOS NEONATOS ANTES DEL MUESTREO

Las muestras fueron tomadas a los 30, 100 y 120 días de edad de los cachorros, estos permanecieron en reposo previo a la toma de muestra en caniles individuales para cada camada en un ambiente controlado (temperatura ambiental en galpón 25°C y humedad relativa de 84 por ciento), las muestras fueron tomadas en la mañana luego de un periodo de 8 horas de ayuno.

3.5 TOMA DE MUESTRAS Y ANÁLISIS SANGUÍNEOS

Las muestras se colectaron de la vena yugular con los animales en recumbencia esternal, se obtuvieron tres mililitros de sangre entera, suavemente 1 ml de la muestra fue colocada y homogeneizada en un tubo MicroCollect® conteniendo EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), además 2 ml de la muestra se colocaron en un tubo sin anticoagulate para la obtención de suero. Las muestras se identificaron y colocaron en un recipiente térmico herméticamente cerrado, el cual preservó las mismas durante 60 minutos a una temperatura de 2-4°C mientras fueron transportadas al Laboratorio VETLAB y al laboratorio clínico del Hospital Veterinario All Pets donde fueron analizadas.

3.5.1 Hemograma

Este análisis se realizó a los 30 y 100 días de edad, se obtuvo sangre entera y se realizó un hemograma completo en un analizador hematológico (DF 50, Dymind, bajo el principio de impedancia para determinación de células rojas y plaquetas y citometría de flujo para el análisis diferencial de células blancas), realizando el conteo total (WBC) e individual del leucograma, neutrófilos (Neu), linfocitos (Lin), monocitos (Mon), eosinófilos (Eos), basófilos (Bas); se evaluó el eritrograma con el conteo de células rojas (RBC), concentración de hemoglobina (HBG), volumen celular medio (MCV), cantidad de hemoglobina globular (MCH), concentración corpuscular media de hemoglobina (MCHC) y finalmente el plaquetograma con el conteo de plaquetas (PLT), volumen plaquetario medio (MPV), ancho de distribución de plaquetas (PDW) y el plaquetocrito (PCT).

3.5.2 Bioquímica sanguínea

Con los 2 ml de sangre colectada en el tubo tapa roja (sin anticoagulante) se obtuvo suero, con ello se realizaron las pruebas bioquímicas en un analizador colorimétrico (Pointcare® V3, MNCHIP), se empleó un rotor para valorar y calcular: proteínas totales (TP), albúmina (ALB), globulinas (GLO), relación albúmina globulinas (A-G), bilirrubinas totales (TBIL), alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), nitrógeno ureico sanguíneo (BUN), creatinina (CRE), relación BUN-CRE y glucosa (GLU), estos fueron analizados antes de la suplementación y después de la suplementación.

3.5.3 IgM e IgG Distemper Canino

Este análisis se realizó empleando el suero obtenido a los 30, 100 y 120 días de edad de los cachorros, a los 30 días se evaluó el nivel de anticuerpos maternos, con las muestras a los 100 y 120 días se evaluó la respuesta post vacunal al virus del distemper canino en los animales del grupo control y en los de los tres tratamientos.

Las muestras fueron analizadas en el laboratorio LABVET de la ciudad de Quito siguiendo el protocolo que se describe a continuación:

- Determinación IgM Distemper Canino

Para la determinación de la respuesta inmunológica frente al virus de distemper canino los sueros de los animales fueron analizados mediante la prueba de ensayo inmunoenzimático de captura, para la detección y cuantificación de IgM específica para el virus del Moquillo en suero de caninos, de la marca INGEZIM MOQUILLO IgM de INGENASA, Inmunología y Genética Aplicada SA. Madrid - España. ISO 14001 ISO 9001-2015.

El fundamento de la prueba radica en que existe una alta tasa de producción de anticuerpos IgM en casos de infección primaria, así como post-vacunal, y estos anticuerpos son los que son detectados en este ensayo. Para el procedimiento, las placas del kit se encuentran revestidas de un anticuerpo monoclonal (Acm) específico de IgM de canino. En cada pocillo se dispensan los sueros problemas y los anticuerpos IgM presentes en estos son capturados por el Acm de la placa; se procede a lavar para eliminar cualquier material no unido y se añade un antígeno viral recombinante, el cual quedará unido al pocillo, únicamente si el suero problema contiene IgM específico del virus del Moquillo canino. Tras varios lavados que eliminarán material no adherido, se demostrará la presencia de este antígeno por medio de la adición de un Acm conjugado específico del virus marcado con una peroxidasa. Luego de la adición del sustrato adecuado, los pocillos que contienen anticuerpos IgM de Moquillo específicos presentarán una reacción colorimétrica, la cual es proporcional al título o nivel de anticuerpos, mientras que, en los sueros negativos, no aparecerá una reacción coloreada.

La lectura de los resultados se realiza a una longitud de onda de 450 nm, como valor de la muestra problema y de los controles se tomará en cuenta la media aritmética del duplicado. Con respecto al valor del control positivo se determinará el punto de corte o cut off:

$$\text{Cut off} = \text{Abs control positivo} \times 0.2$$

Por lo tanto, se considerarán:

- Muestras Negativas: aquellas cuya Abs450 sea $<$ al cut off.
- Muestras Positivas: aquellas cuya Abs450 sea $>$ al cut off.

Validación del Kit:

- Abs450 nm control positivo: > 0.8
- Abs450 nm control negativo: < 0.15

En este caso se pueden distinguir dos clases de muestras:

- Títulos bajos / medios que corresponden a valores de IFI de 1/20 a 1/80, que representan a valores de absorbancia que van entre:

$$0.2 \times \text{Abs. Control positivo (+)} \text{ y } 0.7 \times \text{Abs. Control positivo (+)}$$

- Títulos Altos que corresponden a valores de IFI de $> 1/160$, que representan a valores de absorbancia mayores a:

0.7 x Abs. Control positivo (+)

- Determinación IgG Distemper Canino

Para esta prueba se utilizó un ensayo inmunoenzimático de tipo indirecto, para la detección y cuantificación de IgG específica para el virus del Moquillo en suero de caninos, de la Marca INGEZIM MOQUILLO IgG de INGENASA, Inmunología y Genética Aplicada SA. Madrid - España. ISO 14001 ISO 9001-2015.

Existe una alta tasa de producción de anticuerpos IgG en casos de infección primaria, así como post-vacunal, estos anticuerpos son los que son detectados en este ensayo. En el proceso las placas del kit se encuentran tapizadas de una proteína recombinante de la nucleocápside del virus. En cada pocillo se dispensan los sueros problemas y los anticuerpos IgG del virus se unirán al antígeno de la placa, se procede a lavar para eliminar cualquier material no unido o adherido y se demostrará su presencia mediante la adición de un conjugado anti-IgG de canino marcado con peroxidasa.

Luego de la adición del sustrato adecuado, los pocillos que contienen anticuerpos IgG de Moquillo específicos presentarán una reacción colorimétrica, la cual fue proporcional al título o nivel de anticuerpos, mientras que, en los sueros negativos, no apareció una reacción coloreada. La lectura se realizó a una longitud de onda de 450 nm, como valor de la muestra problema y de los controles se tomó en cuenta la media aritmética del duplicado.

Con respecto al valor del control positivo se determinó el punto de corte o cut off:

$$\text{Cut off} = \text{Abs control positivo} \times 0.2$$

Por lo tanto, se consideraron:

- Muestras Negativas: aquellas cuya Abs₄₅₀ sea $<$ al cut off.
- Muestras Positivas: aquellas cuya Abs₄₅₀ sea $>$ al cut off.

En este caso se pueden distinguir tres clases de muestras:

- Títulos bajos que corresponden a valores de IFI de $1/20$ a $1/40$, que representan a valores de absorbancia que van entre:

0.2 x Abs. Control positivo (+) y 0.4 x Abs. Control positivo (+)

- Títulos medios que corresponden a valores de IFI de 1/80 a 1/160, que representan a valores de absorbancia que van entre:

0.4 x Abs. Control positivo (+) y 0.8 x Abs. Control positivo (+)

- Títulos Altos que corresponden a valores de IFI de > 1/320, que representan a valores de absorbancia mayores a:

0.8 x Abs. Control positivo (+)

Validación del Kit:

- Abs450 nm control positivo: > 1

- Abs450 nm control negativo: < 0.2

3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La investigación fue de tipo descriptivo y experimental verdadera prospectiva (Rojas 2015) para esto se reclutaron 4 camadas de cachorros, los que fueron alojados.

Análisis estadístico de los resultados obtenidos a los 30 días de edad

Tras obtener los datos de los resultados del hemograma y la bioquímica sanguínea a los 30 días de edad de los cachorros se analizaron los mismos para determinar su comportamiento en función del sexo y de la camada. Se analizaron mediante estadísticas descriptivas, se realizó ANOVA para verificar las variaciones entre camadas y sexo para lo cual se empleó el Diseño Completamente al Azar (DCA) siendo el modelo:

$$Y_{ij} = \mu_i + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Y = Variable de respuesta estudiada (Parámetros hematológicos: WBC, Neu, Leu, Lin, Mon, Eos, RBC, HCT, HGB, MCV, MCH, MCHC, PLT, MPV, PDW, PCT; Parámetros Bioquímicos: (TP, ALB, GLO, A-G, TBIL, ALT, AST, BUN, CRE, GLU)

μ = Media del parámetro

α_i = Efecto del *i* – ésimo factor A (tratamiento=camada)

ϵ_{ij} = Error residual

Análisis del Efecto de la suplementación de glutamina y BCCA sobre los parámetros hematológicos, bioquímicos e inmunológicos.

Después de la suplementación con glutamina y BCCA se obtuvieron muestras a los 100 y 120 días de edad, los datos del hemograma y de la bioquímica sanguínea se analizaron a los 120 días mientras que las inmunoglobulinas se analizaron a los 100 y 120 días, así se determinó el efecto de la suplementación en los parámetros correspondientes.

El diseño empleado fue el diseño en bloques completamente al azar (DBCA), así el factor de bloque es la camada, dentro de cada camada de manera aleatoria se asignó a dos animales por tratamiento. Para el análisis se empleó el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Y = Variable de respuesta estudiada (Parámetros hematológicos: WBC, Neu, Leu, Lin, Mon, Eos, RBC, HCT, HGB, MCV, MCH, MCHC, PLT, MPV, PDW, PCT; Parámetros Bioquímicos: (TP, ALB, GLO, A-G, TBIL, ALT, AST, BUN, CRE, GLU), Inmunoglobulinas Totales (IgG, IgM, IgA, IgE), Inmunoglobulinas específicas distemper canino (IgGDC, IgMDC).

μ = Media del parámetro

α_i = Efecto del *i* – ésimo factor A (tratamiento=p. hematolog.)

β_{ij} = Efecto del *j* – ésimo factor B (bloque=camada)

ϵ_{ijk} = Error residual

En todos los casos se realizaron estadísticas descriptivas, se empleó un valor de $\alpha = 0.05$ como nivel de significancia y previo a la aplicación del modelo se empleó Shapiro Wilk (krukall Wallis para datos no paramétricos) como prueba de normalidad y la prueba de Tukey para determinar las diferencias significativas, en el caso de datos no paramétricos se aplicó la prueba de Wilcoxon. Los datos fueron analizados empleando el paquete estadístico R Studio, versión 1.4.1103.

3.7 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudio fue avalado en base al protocolo de investigación aprobado por El comité de Ética de la Universidad Central del Ecuador, mediante oficio No.127-CE-UCE-2019 con fecha 2 de abril del año 2019, mismo que cumple con las leyes de protección y bienestar animal.

Los tutores de las madres fueron informados del estudio fundamentalmente de los cuidados (sanitarios, de alimentación, inmunoprofilaxis) y del destino de los cachorros al terminar el estudio (esterilización y adopción responsable).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E INMUNOLÓGICOS A LOS 30 DÍAS DE EDAD

Los cachorros pueden presentar variaciones en los parámetros hematológicos y bioquímicos asociados de manera particular al efecto de la edad, de la camada, del sexo e incluso del ambiente (altura) ya que pueden presentarse ligeros cambios adaptativos principalmente en los elementos celulares del hemograma (Grundy 2006).

El médico veterinario al momento de establecer su plan diagnóstico apoya su gestión en pruebas hematológicas y bioquímicas que le ayudan a confirmar o a descartar sus diagnósticos diferenciales y a comprender los cambios asociados a la enfermedad (Castro *et al.* 2013). Sin embargo, cuando se trata de neonatos caninos hay pocos estudios que establecen los rangos de referencia de los parámetros hematológicos y bioquímicos, y son más escasos los reportes sobre los 2500 msnm, pudiendo conllevar a una errónea interpretación de los resultados obtenidos (Grundy 2006). Es así que, el médico veterinario debe de tomar en cuenta rangos de referencia establecidos por determinaciones realizadas por los laboratorios o por estudios relacionados a la determinación de parámetros hematológicos y bioquímicos puntuales en los que se ha tomado en cuenta la edad, raza, el sexo e incluso la técnica empleada para el análisis (Sheerer *et al.* 2013).

4.1.1 Parámetros Hematológicos a los 30 días de edad

Los resultados hematológicos a esta edad se despliegan en las tablas 11, 12 y 13 donde se observan los promedios por camada y por sexo. En la tabla 11, se observa que el recuento total de glóbulos blancos (Leucocitos, WBC) no presenta diferencias entre camadas tampoco entre sexos, un comportamiento similar fue observado con los neutrófilos y los linfocitos. Sin embargo, dentro del leucograma los monocitos, eosinófilos y basófilos presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre sexos con un mayor contaje de estas células en machos que en hembras. Solo los basófilos mostraron diferencias ($p = 0,01$) al comparar las medias entre las camadas analizadas.

Tabla 11. Leucograma por camada y sexo

Parámetro	Sexo	Camada 1	Camada 2	Camada 3	Camada 4	Media/DS	p valor	p valor
							Camada	Sexo
WBC 10*9/L	M	13,26	15,43	12,23	13,37	13,58 ±5,59	0,157	0,1
	H	20,89	17,86	15,32	12,28	16,5875		
	R	4,37 - 26,92	11,35 - 20,29	5,94 - 30,01	7,48 - 21,17			
Neu 10*9/L	M	7,65	9,72	6,15	9,03	8,15±3,45	0,171	0,07
	H	11,54	13,12	7,58	8,77	10,25		
	R	2,17 - 13,90	6,94 - 14,98	3,22 - 13,42	4,38 - 15,27			
Lin 10*9/L	M	4,35	4,61	4,67	2,94	4,13 ±2,06	0,079	0,64
	H	6,77	3,08	5,67	3,01	4,63		
	R	1,8 - 8,62	2,79 - 6,76	2,32 - 11,73	2,29 - 4,09			
Mon 10*9/L	M	0,83	0,93	0,94	1,17	0,97 ±0,48	0,252	0,00082
	H	1,37	1,46	1,27	1,27	1,34 ^a		
	R	0,36 - 2,07	0,43 - 1,61	0,27 - 2,25	0,49 - 1,55			
Eos 10*9/L	M	0,12	0,14	0,22	0,1	0,15±0,15	0,75	0,032
	H	0,21	0,19	0,35	0,11	0,22 ^a		
	R	0,04 - 0,34	0,03 - 0,26	0,07 - 0,84	0,07 - 0,13			
Bas 10*9/L	M	0,31 ^a	0,03 ^c	0,24 ^a	0,13 ^b	0,17 ±0,46	0,01	0,33
	H	1,01	0,02	0,46	0,13	0,41		
	R	0 - 1,99	0,01 - 0,04	0,01 - 1,77	0,06 - 0,20			

Son varias las investigaciones realizadas para determinar los parámetros hematológicos de referencia en varias regiones del mundo. Los parámetros del leucograma obtenidos concuerdan con los datos presentados por otros autores (Von Dehn 2014, Grundy 2006, Harper *et al.* 2003), Sin embargo, son escasos los estudios cuyo objetivo haya sido analizar los parámetros hematológicos en neonatos caninos (Kimura y Kotani 2018), más aún si hablamos del estudio de camadas de hermanos, se han realizado estudios en los cuales se ha determinado que en general el contaje total de células blancas es superior en machos que en hembras (Ishii *et al.* 2013, Connolly *et al.* 2020), concordando con los resultados

encontrados en el estudio, donde el promedio del conteje total de células blancas en machos fue superior al promedio observado en las hembras (tabla 11), pudiendo esta diferencia ser manifestada por la diferencia en la población de monocitos, eosinófilos y basófilos; sin embargo, este hallazgo puede ser contrapuesto al publicado por Ishii *et al.* (2013), quien cita que no ha encontrado diferencias en la población de estas células en perros menores de un año.

Los resultados del eritrograma (Tabla 12) mostraron que el conteje de células rojas (RBC) no presentó diferencias en cuanto a la camada ni al sexo, el hematocrito (HCT) presentó un valor promedio de $28,27 \pm 5,74$ por ciento sin mostrar diferencia significativa ($p < 0,05$) entre las camadas uno, dos y tres, determinándose diferencia significativa ($p = 0,007$) solo de la camada cuatro (32,89 por ciento) con relación a las otras tres camadas. La Hemoglobina (HGB) mostró una diferencia altamente significativa de la camada cuatro ($p < 0,05$) con referencia al resto de camadas, de manera lógica se observó el mismo comportamiento de la concentración corpuscular media de hemoglobina (MCHC). En la línea roja se observó también diferencia significativa ($p < 0,05$) entre camadas en los valores del volumen corpuscular medio (MCV) y en la concentración globular de hemoglobina, En el eritrograma no se observaron diferencias ($p < 0,05$) entre sexos.

Los cachorros generalmente presentan una baja población de las células de la línea roja y de la hemoglobina con relación a los animales adultos (Harper *et al.* 2003, Rørtveit *et al.* 2015), en general estos parámetros van incrementándose conforme va avanzando la edad de los cachorros llegando a estabilizarse con los rangos de animales adultos entre los 6 a los 8 meses de edad (de Caprariis *et al.* 2011, Von Dehn 2014, Kimura y Kotani 2018). A excepción de la camada 2, la cual presenta parámetros disminuidos, las otras tres camadas presentan valores del eritrograma acordes a lo citado por varios autores (Sheerer *et al.* 2013, Connolly *et al.* 2020).

La eritropoyesis en los neonatos es baja, esto como parte de la inmadurez fisiológica temprana que caracteriza a esta especie (Von Dehn 2014), además este proceso puede estar influenciado por factores externos como la calidad de la alimentación, la altitud y por factores internos como la presencia de endoparásitos o alteraciones metabólicas (Breheny *et al.* 2020, Costa *et al.* 2016, Moreno-Cadena *et al.* 2018).

Tabla 12. Eritrograma por camada y sexo

Parámetro	Sexo	Camada 1	Camada 2	Camada 3	Camada 4	Media/DS	p valor	p valor
							Camada	Sexo
RBC 10*12/L		3,77	4,11	3,79	4,57	4,07±0,80	0,125	0,32
	M	4,02	5,17	3,68	4,19			
	H	3,68	3,75	3,9	4,55			
	R	1,14 - 4,86	3,36 - 5,29	2,98 - 4,84	3,93 - 5,42			
HGB g/dL		10,24 ^a	10,04 ^a	9,75 ^a	22,51 ^b	12,23 ±0,83	0,0003	0,264
	M	10,95	11,6	9,53	22,73			
	H	9,96	9,52	9,98	22,3			
	R	3,7 - 13,1	8,6 - 11,8	8 - 11,7	20,1 - 24,5			
HCT %		27,24 ^a	26,63 ^a	26,19 ^a	32,89 ^b	28,27 ±5,74	0,007	0,239
	M	28,45	32,1	25,53	33,4			
	H	26,76	24,8	26,85	32,38			
	R	7,7 - 36,1	22,3 - 32,5	20,3 - 32	28,5 - 34,3			
MCV fL		71,64 ^a	65,16 ^b	69,21 ^a	72,09 ^c	69,46±3,6	0,0007	0,76
	M	70,75	62,1	69,45	72,85			
	H	72	66,18	68,98	71,33			
	R	67,9 - 73	61,5 - 70,1	65,5 - 74,1	69,6 - 74,3			
MCH pg		27,71 ^a	24,71 ^b	25,85 ^b	49,66 ^c	32,12 ±10,98	0,00008	0,887
	M	27,2	22,55	25,93	49,55			
	H	27,92	25,43	25,78	49,78			
	R	27 - 32,6	22,4 - 28	24 - 29,2	42,6 - 59,9			
MCHC g/dL		38,81 ^a	37,86 ^a	37,34 ^a	68,86 ^b	45,94±14,28	0,0005	0,839
	M	38,5	36,25	37,3	68,05			
	H	38,94	38,4	37,38	69,68			
	R	35,9 - 48	35,7 - 39,9	35,3 - 39,6	60,5 - 82,4			

M: Machos, H: Hembras, R: Rango

Es así que las diferencias encontradas entre camadas en cuanto a la HGB, HCT, MCV, MCH y MCHC pueden estar asociadas a varios factores maternos y medio ambientales particulares para cada una de las camadas, observándose con preocupación los parámetros de la línea roja de la camada dos, la cual de acuerdo a los resultados observados en la tabla 12 puede estar cursando procesos deficitarios, infecciosos o parasitarios (Gizzi *et al.* 2014, Duijvestijn *et al.* 2016, Von Dehn 2014).

En la camada cuatro se evidenciaron los valores más altos de HCT (32,89 por ciento) y HGB (22,51 g/dL) siendo estos parámetros normales en individuos de 5 a 6 meses de edad (Harper *et al.* 2003), en otras especies y en perros adultos que habitan sobre los 2500 msnm, se ha observado una eritrocitosis compensatoria por efecto de la altura, además del desarrollo de hipertensión pulmonar (Glaus *et al.* 2003, Syvertsen y Harris 1973), un efecto similar se ha observado también en razas de perros braquiocefálicas (Bulldog, Pequinés, Shuit-zu, Pug, etc.) pudiendo llegar a ocasionar hiper viscosidad con el desarrollo de embolias secundarias (Crane *et al.* 2017). Sin embargo, como se aprecia en la tabla 12 este hallazgo fue particular solo para la camada cuatro, por lo que se podría concluir que en los neonatos el proceso eritropoyesis compensatorio a la altura puede no ser influyente a esa edad.

Por consiguiente, se debe tener en cuenta la influencia de la camada en la variación de estos parámetros al momento de realizar la lectura e interpretación del hemograma de neonatos caninos, anotando además que en este estudio en la línea roja no se determinaron diferencias entre sexos ($p>0,05$), comportándose los parámetros de manera similar en machos y en hembras, coincidiendo con lo encontrado y reportado en otro estudio (Wolford *et al.* 1986) y difiriendo con lo reportado por Connolly *et al.* (2020) quienes en el estudio realizado en perros adultos reportó influencia del sexo sobre el hematocrito y la hemoglobina con valores más elevados (aproximadamente 6 por ciento) en hembras frente a los machos.

En la actualidad los contadores hematológicos que se encuentran en los laboratorios de referencia así como en las clínicas y hospitales veterinarios corresponden a contadores de quinta y sexta generación (Maya 2007), estos contadores se caracterizan por realizar la medición de nuevos parámetros hematológicos a los cuales cada vez se les va dando mayor aplicación dentro de la clínica diaria (Szatmári *et al.* 2015, Maya 2007).

Todos los componentes del plaquetograma (PLT, MPV, PDW y PCT) mostraron diferencia significativa ($p<0,05$) entre las camadas no así entre sexos (Tabla 13). Las plaquetas (PLT) presentaron una mayor concentración en las camadas dos y cuatro siendo significativa la diferencia ($p= 0,0001$) con referencia a las camadas uno y tres.

Tabla 13. Plaquetograma por camada y sexo

Parámetro	Sexo	Camada 1	Camada 2	Camada 3	Camada 4	Media/DS	p valor	p valor
							Camada	Sexo
PLT 10*3/uL		156,29 ^a	494,75 ^b	130,88 ^a	688,63 ^b	386,83± 268,74	0,0001	0,179
	M	177,5	204	200,75	648			
	H	147,8	591,67	61	729,25			
MPV fL	R	62 - 213	79 - 667	20 - 330	494 - 851			
		14,93 ^a	13,44 ^b	11,73 ^b	13,26 ^b	13,23±1,79	0,009	0,887
	M	14,5	11,95	12,9	13,4			
PDW fL	H	15,15	13,93	10,55	13,13			
	R	13,8 - 15,2	10,6 - 14,3	9 - 15,2	11,4 - 14,6			
		19,25 ^a	18,23 ^a	12,79 ^b	15,88 ^b	16,35 ±4,11	0,003	0,687
PCT %	M	19,2	14,45	15,38	15,8			
	H	19,28	19,48	10,2	15,95			
	R	18,6 - 19,8	12,4 - 24,7	9,3 - 21,2	12,7 - 20,5			
PCT %		0,27 ^a	0,68 ^b	0,17 ^a	0,91 ^b	0,52 ±0,36	0,0002	0,582
	M	0,26	0,26	0,28	0,87			
	H	0,28	0,82	0,07	0,95			
	R	0,19 - 0,32	0,08 - 0,91	0,01 - 0,38	0,71 - 1,22			

M: Machos, H: Hembras, R: Rango

En la Tabla 13 se observa que todos componentes del plaquetograma mostraron diferencia significativa ($p < 0,05$) entre las camadas no así entre sexos, este resultado coincide con lo citado por otros autores (Wolford *et al.* 1986, Mehain *et al.* 2019). Las plaquetas (PLT) presentaron un promedio de $386,83 \pm 268,74$ $10^3/uL$, con una mayor concentración en las camadas cuatro y dos, siendo significativa la diferencia ($p=0,0001$) con referencia a las camadas uno y tres, este promedio se encuentra acorde a los valores establecidos por otros autores para neonatos caninos de esta edad (Grundy 2006, Von Dehn 2014, Rørtveit *et al.* 2015).

Las diferencias entre camadas en la población plaquetaria pueden estar asociadas a factores endógenos como por ejemplo infecciones bacterianas subclínicas o cuadros de parasitosis leves, las cuales pueden ocasionar sangrados intestinales leves en los cachorros y producir activación plaquetaria (Grellet *et al.* 2014, Mehain *et al.* 2019), produciendo variaciones en el conteo plaquetario entre individuos y entre camadas.

Las “nuevas medidas” como el volumen plaquetario medio (MPV) (Maya 2007), presentaron diferencias significativas ($p=0,009$) de la camada uno con relación a las otras tres camadas presentando esta camada el volumen más alto. La distribución plaquetaria también presentó un comportamiento distinto entre las camadas ya que las camadas uno y dos presentaron una distribución significativamente más alta ($p= 0,003$) que las camadas tres y cuatro.

El plaquetocrito (PCT) se comportó de manera similar a la concentración de plaquetas presentando porcentajes similares en las camadas uno y tres contrastando de manera significativa ($p=0,0002$) con las camadas dos y cuatro las cuales presentaron porcentajes más elevados, Se determinó que la variación en MPV, PDW y PTC están en relación a la variación del conteo plaquetario, pudiendo incluso ser inherente a algunos procesos patológicos que pueden ser observados en los perros (Moreno-Cadena *et al.* 2018, Bommer *et al.* 2008); sin embargo, al tratarse de neonatos clínicamente sanos la variación observada en este estudio puede estar correlacionada al primer factor.

4.1.2 Parámetros bioquímicos a los 30 días de edad

En la Tabla 14, se observa que la fracción proteica del suero de los cachorros (TP, ALB y GLO) presenta una diferencia significativa entre camadas no así entre sexos, las proteínas totales revelaron un promedio de $39,73 \pm 3,03$ g/L siendo significativamente más elevadas ($p=0,004$) en la camada tres con relación a las otras tres camadas. La albúmina presentó un comportamiento similar con una alta diferencia significativa ($p=0,029$) de la camada tres. La concentración de globulinas fue similar en las camadas uno, dos y cuatro, sin embargo, la camada tres se mostró diferente a las camadas uno y cuatro ($p=0,034$), no así con la camada dos ($p=0,06$). La relación albúmina globulinas (AG) presentó diferencia significativa entre la variable sexo ($p= 0,014$) siendo esta mayor en las hembras que en los machos, pero no se observó diferencias entre las camadas en estudio. Los parámetros determinados están acordes a lo reportado en otros estudios donde se encontraron promedios y rangos similares (Harper *et al.* 2003).

Tabla 14. Resultados de Bioquímica sanguínea a los 30 días

Parámetro	Referencia*	Sexo	Camada 1	Camada 2	Camada 3	Camada 4	Media/DS	Kruskal	p valor	p valor
								Wallis	Camada	Sexo
TP g/L 39-42		C	38,04a	39,09a	43,07b	38,49a	39,73 ±3,03	13,28	0,004	0,516
		M	36,85	39,25	43,7	38,9	39,68			
		H	38,52	39,03	42,45	38,08	39,52			
ALB g/L 17-20		C	21,14a	21,75a	23,58b	21,4a	22,00 ±1,6	8,99	0,029	0,76
		M	20,3	17,7	24,08	21,03	20,78			
		H	21,48	21,82	23,1	21,78	22,05			
GLO g/L 22		C	16,9a	17,34ab	19,48b	17,09a	17,73 ±1,98	8,62	0,034	0,144
		M	16,55	17,7	19,63	17,88	17,94			
		H	17,04	17,22	19,35	16,3	17,48			
A, G		C	1,26	1,29	1,21	1,26	1,25 ±0,13	--	0,747	0,014
		M	1,2	1,2	1,2	1,18	1,20			
		H	1,28	1,32	1,23	1,35	1,30			
TBIL mmol/L		C	4,18	3,72	4,01	4,14	4,01±0,95	--	0,791	0,859
		M	4,36	3,03	4,02	4,43	3,96			
		H	4,1	4,95	4,02	3,85	4,23			
ALT U/L 20-22		C	14,71	15,75	19,25	17,5	16,87±4,98	6,83	0,077	0,166
		M	15,5	18	20,5	15,25	17,31			
		H	14,4	15	18	19,75	16,79			
AST U/L 14-23		C	31,14	37,38	28	25,25	30,42±11,13	5,81	0,120	0,776
		M	38,5	55	32	20,25	36,44			
		H	28,2	31,5	24	30,25	28,49			

GGT U/L 2-7	C	1,23	1,25	1,05	1,04	1,14±0,63	1,42	0,700	0,654
	M	1,25	1,7	0,98	0,8	1,18			
	H	1,22	1,1	1,13	1,28	1,18			
BUN mmol/L 2,2-6,4	C	4,25a	6,03b	3,52a	3,77a	4,40±1,27	--	0,000005	0,089
	M	3,88	5,4	3,04	4,05	4,09			
	H	4,39	6,24	4,01	3,48	4,53			
CRE umol/L 32-65	C	44,86a	69,63b	46,25a	45,88a	51,87±18,34	9,1	0,027	0,138
	M	49	66,5	42	39	49,13			
	H	43,2	70,67	50,5	52,75	54,28			
GLU mmol/L 6,5-8,5	C	5,53a	5,18a	7,02b	4,1c	5,50±1,65	--	0,00001	0,85
	M	5,11	4,19	6,96	4,47	5,18			
	H	5,69	5,52	7,1	3,82	5,53			

C: Camada, M: Machos, H: Hembras; *(Grundy 2006, Rørtveit *et al.* 2015, Von Dehn 2014).

Se ha reportado que en los neonatos obtenidos a través de partos distócicos, cesáreas o en huérfanos los cuales generalmente presentan “puntuación apgar” disminuida, la ingestión de inmunoglobulinas es menor (Fusi *et al.* 2020), evidenciando que la adaptación al medio externo, la alimentación y el desarrollo de estos individuos es menor comparada con aquellos neonatos sanos y vigorosos obtenidos tras un buen cuidado materno (Fisher 1982, Kobayashi *et al.* 2017).

Así, pueden llegar a encontrarse neonatos hipoproteinémicos con disminución de la albúmina o de las globulinas como consecuencia de procesos de subnutrición subclínica, siendo estos determinados mediante análisis sanguíneos (Greco 2014, Mugnier *et al.* 2019, Von Dehn 2014).

Los parámetros que valoran la integridad y función hepática (TBIL, ALT, AST, GGT) no presentaron diferencias significativas entre camadas ni entre sexos, determinándose resultados asociados a la edad de los animales de acuerdo a lo reportado por otros autores (Wolford *et al.* 1986, Rørtveit *et al.* 2015, Grundy 2006). Es importante mencionar que, dentro de este grupo de parámetros, la enzima AST presentó un ligero incremento en el promedio y en las cuatro camadas, esto en relación a los estudios citados en la Tabla 4, se ha descrito que asociado al estrés del parto y a la inmadurez fisiológica el metabolismo hepático es bajo y suelen apreciarse niveles elevados de esta enzima en animales recién nacidos (Harper *et al.* 2003, Von Dehn 2014), así se indica que los rangos de referencia de las enzimas que valoran la función hepática en neonatos son diferentes a los establecidos para perros adultos (Connolly *et al.* 2020, Rørtveit *et al.* 2015), debiendo tomar en cuenta este factor al momento de interpretar estos resultados.

La glucosa basal en ayunas (GLU) no presentó diferencias entre las camadas uno y dos ($p > 0,05$) pero si se observó diferencia de estas con relación a la camada tres la cual presentó el valor más elevado de este parámetro y con relación a la camada cuatro la cual en contraparte presentó el nivel más bajo de glucosa, Solo la camada tres, presentó un valor acorde a los rangos reportados por Von Dehn (2014); las camadas uno, dos y cuatro presentaron valores que están por debajo de lo reportados por este autor, teniendo como causa probable el ayuno de sólidos de más de seis horas al que se sometieron los animales previo a la toma de muestra. La concentración de glucosa puede disminuir por la baja de consumo de alimento, además se ha reportado que un deficiente metabolismo energético

puede observarse en los neonatos asociado a una baja respuesta glucogenolítica del hígado y a una deficiente respuesta del glucagón en este periodo de ayuno (Von Dehn 2014, Grundy 2006), por lo que al momento de interpretar los resultados de laboratorio de animales con estas características se debe planificar y tomar en cuenta las horas de ayuno de sólido y líquidos a los que se sometieron, tiempo que se estima debe comprender de 6 a 8 horas (Harper *et al.* 2003, Cotter *et al.* 2013).

Finalmente, las pruebas que valoran la función renal como la urea (BUN) y la creatinina (CREA), no presentaron diferencias ($p>0,05$) entre sexos, pero presentaron diferencias entre camadas presentándose valores significativamente más elevados ($p<0,05$) en la camada dos con relación a las otras tres camadas, esto para los dos analitos. Así el BUN y la CREA presentaron promedios que se encuentran dentro de los rangos de referencia establecidos por otros autores (Grundy 2006, Von Dehn 2014). Los niveles de BUN y CREA tienden a regularse a los 28 días de edad, esto debido que al nacimiento y en los primeros días el neonato puede presentar transitoriamente niveles elevados de estos compuestos metabólicos (Von Dehn 2014), esta regulación se asocia a un incremento de la tasa de filtración glomerular la cual aumenta desde el nacimiento hasta en siete veces hasta la edad adulta de los perros (Von Dehn 2014, Brenten *et al.* 2016).

Se ha sugerido también que los niveles bajos de BUN en los cachorros obedecen a una mayor tasa de la síntesis de proteína a nivel hepático lo cual disminuye la producción de compuestos nitrogenados para ser eliminados por la orina (Von Dehn 2014). Con respecto a la concentración de CREA, se ha reportado la variación con respecto a la raza y a la especie, llegando a determinarse promedios más bajos de este metabolito en perros de raza pequeña y en gatos (Connolly *et al.* 2020, Von Dehn 2014, Grundy 2006), sin embargo, en un estudio realizado por Brenten *et al.* (2016), se encontró que a las ocho semanas el promedio de CREA en perros Schnauzer miniatura era ligeramente superior (38,9 $\mu\text{mol/L}$) que el promedio observado en perros Labrador Retriever (36,6 $\mu\text{mol/L}$), encontrándose promedios similares a las 16 semanas de edad. Al momento de valorar la función renal en los neonatos se deben tener en cuenta estas diferencias, cuando es necesario de emplear estos analitos para comprobar la función renal en animales enfermos, en aquellos que han recibido tratamientos con fármacos como antiinflamatorios no esteroideos, antibióticos de amplio espectro u otros medicamentos de alto depuramiento renal (Grundy 2006).

4.1.3 Parámetros Inmunológicos a los 30 días de edad

En la tabla 15, se aprecian los promedios de las inmunoglobulinas totales obtenidas de los cachorros a los 30 días de edad, observándose solo diferencias significativas ($p > 0,05$) entre camadas en las concentraciones de IgM e IgA, no así en las concentraciones de IgG e IgE las cuales no presentaron variación entre camadas ni entre sexos en los animales muestreados. Así las camadas uno y dos mostraron niveles medios de IgM similares los cuales fueron inferiores a la media observada en los animales de la camada cuatro y superiores a la media de la camada tres.

El promedio de la IgA presentó el nivel más alto en la camada tres mostrando una diferencia significativa ($p = 0,001$) con relación a las otras 3 camadas.

Tabla 15. Niveles de Inmunoglobulinas Totales (IgG, IgM, IgA, IgE) en cachorros de 30 días de edad

Parámetro	Sexo	Camada 1	Camada 2	Camada 3	Camada 4	Media	p valor	p valor
							Camada	Sexo
IgG (g/L)	C	0,367	0,564	0,850	0,630	0,610	0,163	0,655
	M	0,420	0,387	0,576	0,805	0,595		
	H	0,345	0,623	1,124	0,455	0,620		
IgM (g/L)	C	0,62a	0,738a	0,532b	0,771c	0,666	0,002	0,177
	M	0,698	0,923	0,549	0,782	0,714		
	H	0,588	0,676	0,515	0,761	0,637		
IgA (g/L)	C	0,027a	0,033a	0,049b	0,022a	0,032	0,001	0,339
	M	0,021	0,028	0,050	0,020	0,031		
	H	0,029	0,034	0,048	0,023	0,033		
IgE (UI/ml)	C	1,041	1,045	1,023	1,039	1,037	0,619	0,119
	M	1,020	1,050	1,030	1,003	1,023		
	H	1,050	1,043	1,015	1,055	1,042		

C: Camada; M: Machos; H: Hembras

El promedio de la concentración de la IgG total obtenido en cachorros a los 30 días de edad en el presente estudio fue de 0,61 g/L, el cual es parte de la inmunidad humoral que los cachorros recibieron de la madre por transmisión trans placentaria y por la ingestión de calostro.

El paso de inmunoglobulinas por vía placentaria es baja, se ha determinado que al momento del nacimiento la concentración de IgG en el suero de neonatos recién nacidos puede estar en un valor promedio de 1,2 g/L (Day 2007) el cual luego de 12 a 24 horas de la ingestión del calostro puede incrementarse a 2,3 g/L, llegando a alcanzar valores de entre 6 a 16 g/L a los dos días de nacidos (Chastant y Mila 2019, Day 2007), indica que la concentración de IgG disminuye paulatinamente hasta las 4 o 6 semanas de edad para luego volver a incrementarse como parte de la activación del sistema inmunológico del cachorro, así en la literatura los reportes de inmunoglobulinas en cachorros de esta edad son escasos, sin embargo, el promedio obtenido en este estudio es muy bajo en comparación con lo reportado en neonatos recién nacidos y en animales adultos (Seigneur *et al.* 2015), determinándose rangos para IgG en suero de 4,4 a 42,7 g/L en caninos adultos mestizos. Los estudios de Chastant *et al.* (2019) y Seigneur *et al.* (2015) fueron realizados empleando las técnicas de ELISA y NIRS respectivamente.

De acuerdo a lo presentado en la metodología de la presente investigación la técnica empleada para la medición de las inmunoglobulinas fue la inmunoturbidimetría, esta misma técnica se empleó en el estudio realizado por Tvarijonavičiute *et al.* (2013), donde se obtuvieron una concentración mínima de IgG en el suero de 0,35 g/L luego de analizar 14 caninos beagles sanos coincidiendo con el rango mínimo reportado en otros estudios (Schreiber *et al.* 1992). Sin embargo, el promedio de IgG obtenido en el estudio tras incluir pacientes sanos y con afecciones patológicas fue de 10,8 g/L (Tvarijonavičiute *et al.* 2013). A partir de la sexta semana de vida de los cachorros cuando ya el sistema inmune empieza a activarse al igual que en los animales adultos la IgG puede incrementar en respuesta a algunas enfermedades de tipo inflamatorio, infeccioso o parasitario (Mila *et al.* 2015, Paim *et al.* 2013).

En cuanto a la concentración de IgM en cachorros a los 30 días de vida obtenida en el estudio, se indica que el valor promedio fue de 0,66 g/L observándose algunas diferencias en las 4 camadas del estudio (Tabla 15), estas diferencias pueden responder a la concentración ofertada en el calostro la cual puede variar de una madre a otra (Mila *et al.* 2017). Como se indicó para la IgG, no se han reportado valores de IgM en cachorros de 30 días de edad, pero el resultado obtenido en esta investigación concuerda con los rangos presentados en el trabajo de Schreiber *et al.* (1992), en donde se establecen concentraciones en suero de 0,13

a 3,0 g/L de IgM en caninos adultos, resultados similares se han reportado en otros estudios así: 0,2 g/L (Day 2007), 0,25 g/L (Tvarijonavičiute *et al.* 2013), 1,32 g/L (Clemente *et al.* 2010).

El promedio de las concentraciones en suero de IgA obtenidas a los 30 días fue de 0,032 g/L, siendo esta una concentración inferior a lo reportada por Tvarijonavičiute *et al.* (2013) quienes reportan un valor promedio de 1,4 g/L en animales adultos con un valor mínimo de 0,2 g/L; concentraciones similares fueron reportadas por Schreiber *et al.* (1992) quien reporta un rango de 0,2 a 1,4 g/L de IgA en suero canino.

En un estudio se reportó una concentración sérica de IgA de 0,04 g/L valor similar al encontrado en los animales de estudio y a la vez en este trabajo se verificó un incremento de 0,04 a 1,2 g/L de IgA a los 10 días después del desarrollo de rengeliosis asociada a *R. vitally* (Paim *et al.* 2013). La baja concentración obtenida en los cachorros empleados en esta investigación puede estar asociada a la edad, coincidiendo con lo concluido por Clemente *et al.* (2010) en un trabajo realizado en perros de raza Pastor Alemán en donde se determinaron que los cachorros de menos de 7 semanas de vida presentaban niveles inferiores de IgA sérica, IgA fecal e IgE en relación a caninos de más de un año de vida.

Las concentraciones de IgE determinadas en los cachorros del presente estudio fueron bajas con relación a los valores reportados en animales adultos en donde generalmente se tienen valores de entre 20 a 40 UI/ml (Paim *et al.* 2013). Sin embargo, al momento de comparar los resultados de este estudio en relación a los resultados obtenidos por Deboer y Hill (1999), quienes midieron la concentración de IgE en 154 West High Land Terrier de 6 a 12 semanas de edad vemos que son similares a los presentados por algunos cachorros, ya que ellos obtuvieron una concentración media de 0,9 UI/ml con un rango de 0 a 27,7 UI/ml (Deboer y Hill 1999).

Con relación a las inmunoglobulinas específicas para distemper canino los resultados se observan en la Tabla 16, se pudieron determinar diferencias significativas ($p < 0,05$) dentro de las camadas, estas diferencias se observaron tanto en la concentración de IgGDC como de IgMDC para distemper, No se observaron diferencias en cuanto al sexo, observándose promedios similares en machos y en hembras.

Tabla 16. Niveles de Inmunoglobulinas específicas para Distemper Canino (IgGDC, IgMDC) en cachorros de 30 días de edad

Parámetro	Sexo	Camada 1	Camada 2	Camada 3	Camada 4	Media	p valor	p valor
							Camada	Sexo
IgG DISTEMPER	C	0.203a	0.290a	0.971b	0.528a	0,508	0,003	0,543
	M	0,181	0,319	0,909	0,760	0,640		
	H	0,213	0,281	1,033	0,295	0,424		
IgM DISTEMPER (g/L)	C	0.288a	0.358b	0.114c	0.248abc	0,251	0,007	0,871
	M	0,502	0,500	0,113	0,241	0,285		
	H	0,202	0,311	0,114	0,255	0,229		

C: Camada, M: Machos, H: Hembras

IgG

NEGATIVO: < 0,270

POSITIVO: > 0,271 a 0,540 (Títulos Bajos que corresponden con valores de IFI de 1/20 - 1/40)

> 0,541 a 1,081 (Títulos Medios que corresponden con valores de IFI de 1/80 - 1/160)

> 1,082 (Títulos Altos que corresponden con valores de IFI \geq 1/320)

IgM

NEGATIVO: < 0,252

POSITIVO: > 0,253 a 0,882 (Títulos Bajos / Medios que corresponden con valores de IFI de 1/20 - 1/80)

> 0,883 (Títulos Altos que corresponden con valores de IFI > 1/160)

Las concentraciones de inmunoglobulinas G y M para distemper canino (IgGDC - IgMDC) y para otros agentes particulares como el parvovirus, en un cachorro de 30 días de edad corresponden a la fracción de inmunoglobulinas específicas o inmunidad humoral que la madre otorga al neonato a través de la circulación y por vía calostrual por consiguiente los niveles encontrados en los cachorros dependerán de la concentración de inmunoglobulinas maternas y de la correcta ingestión de calostro de los neonatos (Mila *et al.* 2014, Chastant y Mila 2019). Así, probablemente por la influencia de estos factores se encontraron diferencias en la concentración de estas inmunoglobulinas entre las camadas en estudio así la camada uno presentó títulos bajos de IgGDC e IgMDC inferiores a 1/20, lo cual concuerda con lo reportado por Nova *et al.* (2018), quien realizó un estudio de titulación de anticuerpos post vacunales para esta enfermedad, y cita que cachorros de siete semanas de edad sin vacunas, presentaban títulos inferiores a 1/16 (Nova *et al.* 2018), los cuales incrementaron luego de la aplicación de las vacunas. La camada dos presentó niveles más elevados de las dos inmunoglobulinas los cuales coinciden con títulos bajos de animales positivos para distemper canino (Blixenkrone-Moller *et al.* 2015, Nova *et al.* 2018); al igual que las camadas tres y cuatro, las cuales presentaron estos niveles, pero solo para la IgGDC; sin embargo, los animales no mostraron signología clínica por lo que se asume que esta titulación puede ser parte de la inmunidad humoral materna (Chastant y Mila 2020). De

acuerdo a varios autores estos resultados deben ser manejados con precaución, ya que los cachorros pueden ser reportados como falsos positivos de la enfermedad (Latha *et al.* 2007, Litster *et al.* 2012, Martella *et al.* 2008). Por otro lado, con estos títulos se deben tener en cuenta las recomendaciones de la primera vacunación a aplicar en estos cachorros, ya que, si se aplica una vacuna que esté destinada a proteger para esta enfermedad puede ocasionarse una reacción cruzada con los anticuerpos maternos y disminuir los niveles de protección que se busca con las vacunas (Pardo *et al.* 2020, Morein *et al.* 2002); más aún, cuando en algunos animales del estudio se determinaron absorbancias entre 0,541 - 1,081 que reflejan títulos medios positivos de IgGDC; sin embargo, los animales no mostraron signos clínicos de la enfermedad y en los cuales más aún se deben tener en cuenta las recomendaciones analizadas anteriormente.

4.2 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE GLUTAMINA Y BBKA SOBRE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E INMUNOLÓGICOS DE LOS CACHORROS A LOS 100 Y 120 DÍAS DE EDAD

En la etapa final de la investigación, se evaluaron los cambios en el hemograma, en la bioquímica sanguínea y en los niveles de inmunoglobulinas después de la suplementación de 90 días de glutamina y BBKA, estos resultados se presentan en las Tablas 17, 18 y 19 respectivamente.

4.2.1 Efecto de la suplementación sobre los parámetros hematológicos

En la investigación, se observó que en el leucograma los leucocitos (WBC) y sus componentes: neutrófilos (Neu), linfocitos (Lin), monocitos (Mon), eosinófilos (Eos) y basófilos (Bas) presentaron un efecto ($p < 0,05$) en el bloque (camada); sin embargo, no presentaron diferencias ($p > 0,05$) en relación al tratamiento a un intervalo de confianza del 95 por ciento. Aun así, se determinó que los WBC del T2 (BBKA) presentaron un promedio de $10,33 (10^9 / L)$. el cual es superior al grupo control y al T1 y T3, de igual manera se determinó que los caninos del T2 presentaron un mayor promedio de neutrófilos ($7,17 10^9 / L$) el cual es superior a los demás tratamientos ($p = 0,052$) y de acuerdo a los resultados obtenidos con R, si se emplea un intervalo de confianza del 90 por ciento podría llegar a ser significativo ($p < 0,05$), tal como se expresa en la Tabla 17.

Tabla 17. Parámetros del hemograma por tratamiento a los 120 días de edad

Parámetro *Estandar	HEMOGRAMA 120 DIAS				Media/DS	p valor	p valor
	Control	Glutamina	BCCA	Glutamina+BCCA		Bloque	Tratamiento
WBC(10*9/L) (16,3)	8,37 5,45 - 9,48	8,25 5,33 - 10,25	10,33 8,08 - 16,72	8,26 5,18 - 13,25	8,79 ±2,53	0,002**	0,317
Neu(10*9/L) (8,9)	5,12 3,55 - 7,40	5,12 3,11 - 7,01	7,17 4,96 - 13,28	5,22 3,30 - 8,02	5,67±1,96	0,002**	0,052 ,
Lin(10*9/L) (4,5)	2,59 1,43 - 4,80	2,56 1,85 - 3,87	2,5 1,76 - 3,28	2,29 1,43 - 3,65	2,48 ±0,85	0,002**	0,456
Mon(10*9/L) (0,8)	0,36 0,19 - 0,68	0,36 0,16 - 0,57	0,45 0,34 - 0,76	0,5 0,22 - 1,06	0,42 ±0,21	0,013*	0,302
Eos(10*9/L) (0,3)	0,16 0,09 - 0,23	0,17 0,06 - 0,28	0,19 0,06 - 0,32	0,22 0,10 - 0,45	0,18±0,09	0,815	0,626
Bas(10*9/L) (--)	0,05 0,02 - 0,08	0,04 0,01 - 0,08	0,03 0,00 - 0,07	0,04 0,00 - 0,07	0,04 ±0,02	0,002**	0,876
RBC(10*12/L) (6,93)	5,01 3,96 - 6,81	4,45 3,91 - 5,22	4,52 3,84 - 4,99	4,56 3,25 - 6,17	4,62±0,74	0,502	0,831
HGB(g/dL) (16,0)	11,17 8,4 - 16,2	9,78 8,3 - 11,6	9,94 8,7 - 10,9	10,1 7,5 - 13,8	10,22 ±1,81	0,236	0,794
HCT(%) (43,0)	31,4 23,1 - 45,1	27,94 23,9 - 32,4	28,13 23,9 - 29,9	28,65 20,7 - 38,5	28,95 ±4,94	0,236	0,794
MCH(pg) (23,5)	22,13 21,2 - 23,7	21,99 20,8 - 23,1	22 21 - 24	22,16 21,2 - 23	22,07 ±0,88	0,004**	0,75300
MCHC(g/dL) (34,8)	35,46 33,4 - 36,7	34,99 33,9 - 36,5	35,36 33,5 - 36,6	35,28 34,1 - 36,1	35,26±0,99	0,000***	0,362
PLT(10*3/uL) (--)	350,57 307 - 500	328 176 - 530	329,13 194 - 422	359,63 192 - 518	341,55±97,64	0,000***	0,706

*Rangos estándar cachorros 120 días: Von Dehn (2014),
Signif, codes: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 ' , ' 0,1 ' ' 1

En el estudio, se valoró la suplementación oral de glutamina y BCCA por separado y en conjunto para evidenciar un efecto sinérgico de estos aminoácidos al ser empleados en cachorros caninos en la etapa del destete tal como se ha realizado en otras especies, teniendo en cuenta que esta suplementación al momento del destete en cachorros no ha sido evaluada.

En la Tabla 17, se observa un incremento en el promedio de la población de leucocitos de los individuos que pertenecen al T2 (BCCA), de la misma manera se determinó un promedio superior en el conteo de neutrófilos de este tratamiento en relación al grupo control y a los tratamientos uno y tres con los que a un IC del 90 por ciento mostró ser diferente ($p < 0,05$). Sin embargo, el efecto sinérgico de los aminoácidos no fue observado en este estudio ya que los individuos de T1 y T3 no mostraron variaciones en referencia al grupo control, demostrando que la suplementación con glutamina por sí sola y junto a los BCCA no influyen en el desarrollo ni en el sistema inmunológico de los cachorros al destete, similares resultados se obtuvieron en un estudio en el cual se suplementó a ratones anoréxicos con glutamina y BCCA, evidenciándose efectos en el desarrollo solo en los ratones suplementados con BCCA (Huillier *et al.* 2020), confirmando así la no esencialidad de la glutamina en animales cuyo requerimiento de este aminoácido se encuentre cubierto con el aporte nutricional adecuado, difiriendo con lo encontrado en un estudio, donde se valoró el efecto de la suplementación de glutamina en rumiantes y monogástricos encontrando un incremento significativo en la producción de leucocitos y particularmente linfocitos en los animales suplementados con glutamina por vía oral (Lobley *et al.* 2018).

Así, si la alimentación cumple con los requerimientos de glutamina para los cachorros en la etapa de desarrollo, el destete es un estresor fisiológico cuyas consecuencias en el sistema inmunológico y en el desarrollo de estos individuos no podrán ser estabilizadas tras la suplementación de este aminoácido como sí se ha observado en estudios realizados en personas y en perros, en donde, la suplementación parenteral de glutamina en pacientes convalecientes, ha demostrado eficacia en la disminución de los síntomas de algunas enfermedades que cursan con estados hipercatabólicos (sepsis, enfermedad inflamatoria intestinal, cáncer) (Mundi *et al.* 2016) y una disminución en el tiempo de convalecencia al estimular la inmunidad celular de los mismos (Humbert *et al.* 2002, Kang *et al.* 2012).

Los aminoácidos de cadena ramificada: leucina, isoleucina y valina han demostrado tener una influencia positiva en el sistema inmunológico de personas y animales (Brosnan y

Brosnan 2006, Nie *et al.* 2018). Estos corresponden a aminoácidos esenciales para el organismo, así el valor fisiológico de estas moléculas es motivo de estudio de muchos investigadores, principalmente se estudia su función y los efectos de suplementación en varias enfermedades como el cáncer, la diabetes, la insuficiencia renal, enfermedades que se presentan actualmente en personas y animales (Michael *et al.* 2016).

Los BCCA regulan la síntesis de proteínas por lo que ejercen un efecto protector en pacientes con enfermedad hepática o en aquellos pacientes que cursan con cuadros de inmunodepresión (Zhang *et al.* 2018), desde hace algunos años se ha evidenciado el efecto positivo de los BCCA por ejemplo en animales que sufrieron varios tipos de trauma o infecciones, demostrando su efecto regenerativo e inmuno regulador tras su suplementación (Freund 1985).

En otros estudios se determinó un efecto positivo de la suplementación de isoleucina en el sistema inmunológico (Mao *et al.* 2018), en donde al igual que en este trabajo se observó un incremento en el conteo de células blancas y de los neutrófilos en los animales del T2, sin embargo, en el estudio realizado por Mao *et al.* (2018), realizado en cerdos al destete afectados por rotavirus se evidenció también un incremento en la población de linfocitos, lo cual se contrapone a lo encontrado en esta investigación en donde no se observaron diferencias ($p < 0,05$) entre el grupo control y los tres tratamientos en estudio, esta diferencia puede estar asociada a que en nuestra investigación los animales se mantuvieron en un entorno saludable durante los 90 días del experimento, lo cual pudo influir para que este grupo celular no presente variación entre los tratamientos.

4.2.2 Efecto de la suplementación sobre los parámetros bioquímicos

Las comparaciones de los parámetros de la bioquímica sanguínea entre los tratamientos en estudio y el grupo control no mostraron diferencias ni interacciones ($p < 0,05$) entre tratamientos o entre bloques, pero sí se observaron diferencias del promedio general de proteínas totales el cual fue superior a los valores de referencia citados por otros autores, tal como se muestra en la Tabla 5. De igual manera con relación a estos valores, los tres tratamientos y el grupo control presentaron niveles ligeramente elevados de las enzimas hepáticas (TBIL, ALT, AST y GGT) y de los metabolitos renales (BUN y CREA).

Tabla 18. Parámetros bioquímicos por tratamiento a los 120 días de edad

Parámetro Estándar	BIOQUÍMICA 120 DIAS				Media/DS	p valor Bloque	p valor Tratamiento
	Control	Glutamina	BCCA	Glutamina+BCCA			
TP(g/L) (46,5 - 48,8)	61,64 53,5 - 78,5	56,56 46,4 - 77	55,89 31,3 - 72,3	54,2 45,8 - 69,9	63,36 ±29,36	0,511	0,612
ALB(g/L) (24,5 - 26,1)	32,96 28,3 - 41,8	31,04 26,5 - 41,9	30,5 18 - 37,4	28,96 23,5 - 36,2	32,89 ±10,09	0,510	0,589
GLO(g/L) (23 - 39)	28,69 24,1 - 36,7	25,51 19,9 - 35,1	25,39 13,3 - 34,9	25,24 22,2 - 33,7	30,47 ±19,55	0,490	0,611
A,G (0,78 - 1,46)	1,16 1,1 - 1,2	1,21 1,1 - 1,3	1,23 1,1 - 1,4	1,18 1,1 - 1,3	1,16 ±0,14	--	--
TBIL(mmol/L) (1,7 - 5,16)	3,04 2,05 - 4,44	3,39 2,22 - 4,44	3,34 2,22 - 4,44	3,61 2,56 - 5,13	3,37 ±0,89	0,875	0,851
ALT(U/L) (19,3 - 25,0)	43,71 28 - 71	42,86 24 - 71	36,86 14 - 50	35,25 21 - 44	43,97 ±22,68	0,229	0,599
AST(U/L) (26,2 - 31,2)	61,43 31 - 90	48 34 - 85	49 28 - 71	60,38 47 - 88	60,32 ±28,51	0,303	0,965
GGT(U/L) (0 - 11)	1,14 0,1 - 1,9	1,13 0,1 - 1,9	0,9 0,1 - 1,8	1 0,3 - 1,8	2,25 ±5,17	0,557	0,647
BUN(mmol/L) (2,47 - 4,16)	4,21 2,18 - 7,4	4,01 3,17 - 6,64	4,27 3 - 5,73	3,78 2,62 - 4,67	4,72±3,18	0,473	0,676
CRE(umol/L) (40,1 - 48,4)	57,29 37 - 93	48 37 - 58	49,86 39 - 57	53,75 40 - 86	59,06 ±32,89	0,866	0,787

*Rangos estándar cachorros 120 días: Brenten *et al.* (2016), Von Dehn (2014)

También se evaluó el comportamiento de los parámetros de la bioquímica sanguínea tras la suplementación de 90 días de glutamina y BCCA determinándose que las proteínas totales en el grupo control y en los tres tratamientos en estudio fueron superiores a los rangos de referencia establecidos por varios autores para animales de esta edad, pero se resalta el incremento observado en los animales del T2, los cuales como se puede apreciar desde el día 30 al día 120, fueron los que mostraron un mayor incremento en la concentración de las proteínas, coincidiendo con varios estudios en donde se indica un efecto positivo de la suplementación de BCCA en la síntesis de proteínas (Brosnan y Brosnan 2006, Nie *et al.* 2018, Zhang *et al.* 2018).

Las transaminasas hepáticas ALT, AST, GGT presentaron niveles ligeramente superiores a los rangos establecidos en animales sanos por otros autores (Brenten *et al.* 2016, Harper *et al.* 2003) tanto en el grupo control como en los tres tratamientos, así, estos niveles no reflejan una toxicidad asociada a la suplementación de los aminoácidos en estudio, esto coincide con un estudio en el que se evaluó la tolerancia a la suplementación de BCCA en humanos y cerdos en donde se concluyó que bajo un sustrato proteico adecuado la suplementación era muy bien tolerada (Baker 2005). Los parámetros que evalúan la función renal: BUN y CRE tuvieron un comportamiento similar a las transaminasas hepáticas mostrando ligeros incrementos en el grupo control y en los tres tratamientos, descartando así, que la suplementación con glutamina y BCCA a las dosis empleadas en este estudio llegen a producir un daño hepático o renal de los animales en estudio (Cruzat *et al.* 2018).

4.2.3 Efecto de la suplementación sobre los parámetros inmunológicos

En la Tabla 19, se pueden observar los promedios de la concentración serológica de las inmunoglobulinas totales y su variación desde los 30 días de edad (antes de la suplementación de los aminoácidos) hasta los 100 y 120 días de edad correspondientemente,

Con referencia al tiempo la concentración de IgG presentó una diferencia significativa ($p < 0,05$) en todos los tratamientos, observándose un incremento gradual en las muestras tomadas a los 30, 100 y 120 días de edad de los cachorros; sin embargo, la concentración promedio de IgG total, se obtuvo en los animales del tratamiento tres con una concentración de 2,2 g/L a los 120 días de edad, el cual, al compararlo con lo reportado por otros autores corresponde a una concentración normal de esta inmunoglobulina para cachorros de esta edad (Seigneur *et al.* 2015, Tvarijonaviciute *et al.* 2013). También se observó una diferencia

significativa ($p=0,002$) en la concentración de IgG total entre las camadas (bloques) en estudio en la muestra tomada a los 120 días de edad, no así en la muestra tomada a los 100 días de edad, presentando las concentraciones más altas en la camada cuatro y los valores más bajos en la camada uno, como se aprecia en la figura 3, siendo esta respuesta intrínseca de la camada asociada a una mejor actividad del sistema inmunológico en las camadas de mejor respuesta (Pardo *et al.* 2020).

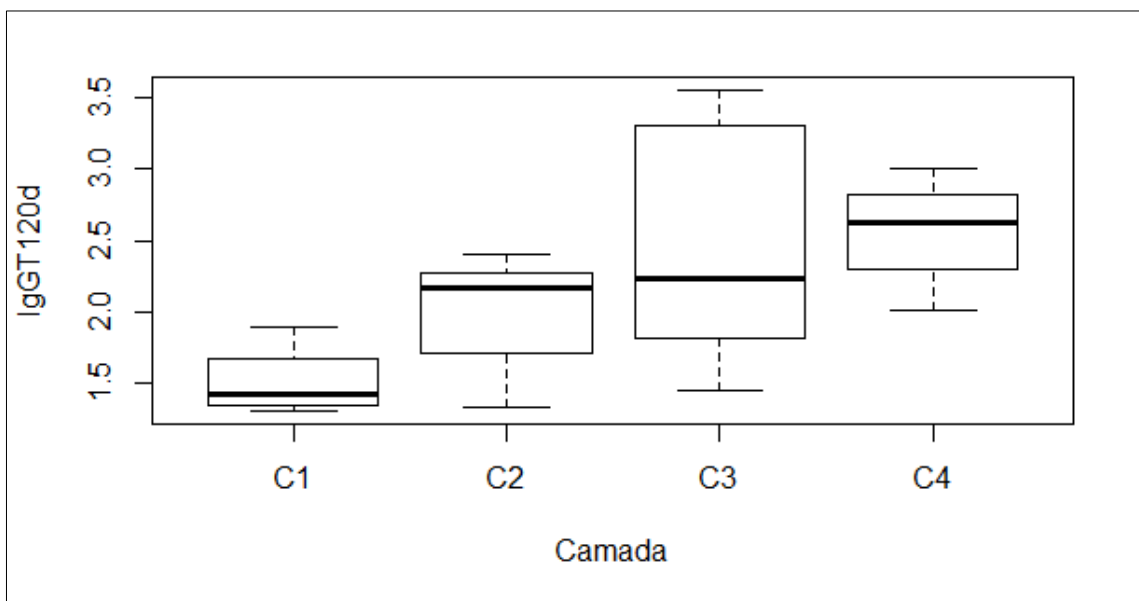


Figura 3. Concentración de IgGT (g/L) por camada en cachorros de 120 días de edad

Con respecto a la respuesta de los cachorros dentro de los tratamientos y en relación del grupo control, no se observaron diferencias ($p>0,05$) a los 100 y 120 días de edad, luego de haber recibido la suplementación de aminoácidos; aun así, los promedios y los valores máximos de la concentración de IgG se encontraron en los cachorros de los tratamientos dos y tres, como se observa en la Figura 4.

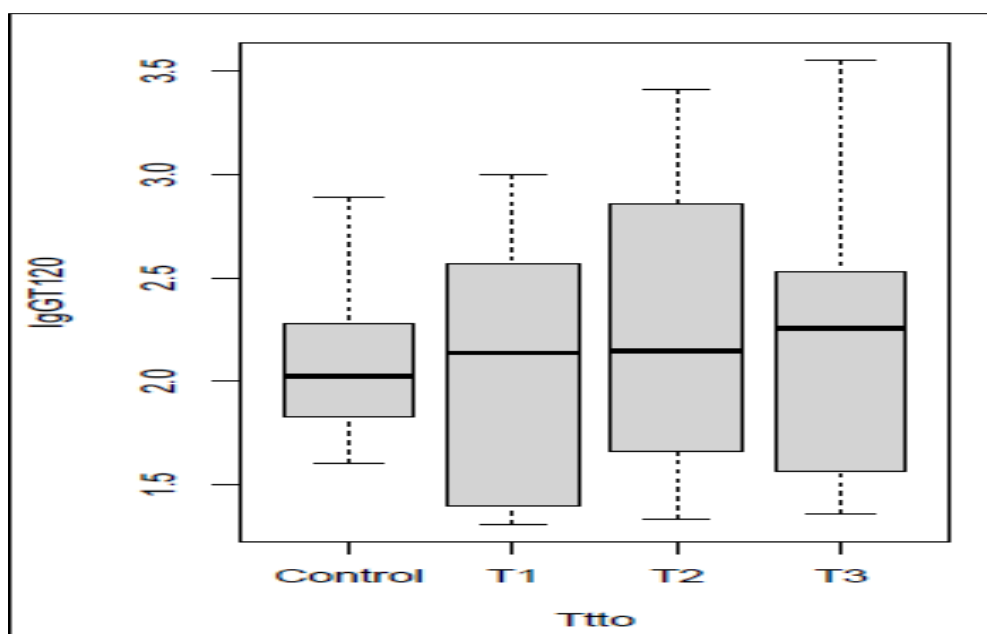


Figura 4. Concentración de IgGT (g/L) por tratamiento en cachorros de 120 días de edad

Se ha reportado el efecto inmuno estimulante de la glutamina y los BCCAs en el sistema inmunitario (Huillier *et al.* 2020), este efecto ha sido reportado en varias especies y en animales que están atravesando por procesos de inmunosupresión o por estrés de tipo catabólico como fue en el destete (Mundi *et al.* 2016, Marante 2005).

En un estudio realizado en lechones, los cuales fueron suplementados con glucosa, soya y glutamina, se determinó que en los animales que recibieron glutamina a una dosis de 2,5 por ciento del total de la energía metabólica de la dieta, esta fue capaz de estimular la inmunidad innata reportando concentraciones plasmáticas de IgG, IgM e IgA significativamente superiores a los animales que recibieron glucosa y soya (Lv *et al.* 2018), en el presente estudio si bien no se observaron diferencias significativas, la glutamina por sí sola no mostró ningún efecto sobre la concentración de las inmunoglobulinas totales, observándose un incremento en la concentración de IgG al ser suplementada junto a los BCCAs y durante 120 días de suplementación, Por otro lado, se ha reportados en estudios realizados en humanos (atletas sometidos a estrés) que la suplementación de glutamina aumenta la población de linfocitos (DC4+, CD8+) pero no produce cambios en la concentración de IgG, IgM e IgA (Coster *et al.* 2004), tal como se ha observado en la presente investigación.

La concentración de IgM mostró una diferencia significativa entre camadas a los 100 días ($p=0,047$) y a los 120 días de edad ($p=0,008$), pero no se observó una diferencia entre el grupo control y los tratamientos, Un punto a destacar es que en los tres tratamientos la concentración de IgM aumentó en las muestras tomadas a los 100 días para luego disminuir en la muestra de los 120 días de edad. Este comportamiento fue diferente al observado en las concentraciones de IgG donde el incremento de esta inmunoglobulina fue gradual en las 3 muestras tomadas. El comportamiento de la IgM, se debe a que corresponde a la primera inmunoglobulina en reaccionar frente a los antígenos de las vacunas pero al no producirse una infección sus niveles decaen al mismo tiempo que las concentraciones de IgG aumentan para dejar al organismo protegido frente a las diferentes enfermedades (Hogenesch y Thompson 2010, Mitchell *et al.* 2012).

Con respecto a la concentración de IgA total, se obtuvo una diferencia significativa ($p<0,05$) entre las camadas (figura 5), los tres tratamientos en estudio, si bien, no presentaron diferencias significativas, evidenciaron niveles más elevados que el grupo control, pero este incremento se observó de manera particular a los 100 días de edad, disminuyendo su concentración a los 120 días de edad como puede apreciarse en la figura 6, siendo más evidente en los tratamientos dos y tres, los cuales fueron suplementados con BCCA, coincidiendo con lo reportado en un estudio realizado por Song *et al.* (2019) donde se demostró que ratas alimentadas con dietas suplementadas con leucina incrementaron los niveles de IgA a nivel de intestino, mejorando su inmunidad (Song *et al.* 2019).

Sin embargo, los resultados presentes en este estudio pueden ser preocupantes, porque ninguno de los tratamientos superó los 0,08 g/L de IgA, valor que será considerado como un valor mínimo de IgA en adultos, siendo un factor de predisposición para algunas enfermedades bacterianas y virales que pueden afectar a los cachorros (Ellis 2019). Se ha reportado una deficiencia en el Pastor Alemán y en el Sharpei en los cuales se han determinado concentraciones inferiores a 0,07 g/L de IgA, por lo que algunos animales no presentan alteraciones clínicas (Olsson *et al.* 2014); sin embargo, no hay datos reportados particularmente en cachorros mestizos para compararlos con los resultados de la investigación.

Son varios los estudios que se han realizado con el fin de estimular el sistema inmune de los cachorros; sin embargo, en algunos de ellos se ha determinado, que el efecto en la

concentración de las inmunoglobulinas no ha sido el esperado, así se ha probado la incorporación de probióticos en base a lactobacillus, pero el incremento de la concentración de IgG e IgA no ha sido significativa con y sin la suplementación (Vilson *et al.* 2018).

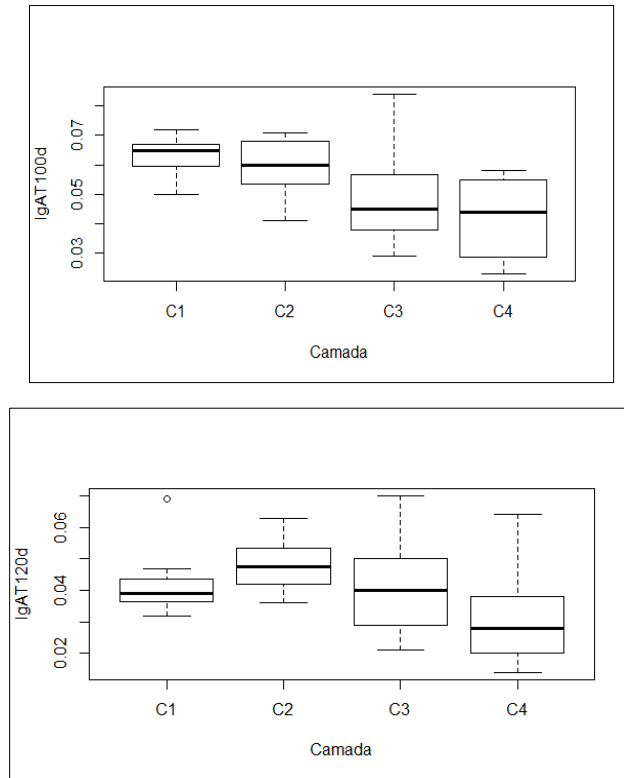


Figura 5. Concentración de IgA (g/L) por camada a los 100 y 120 días de edad

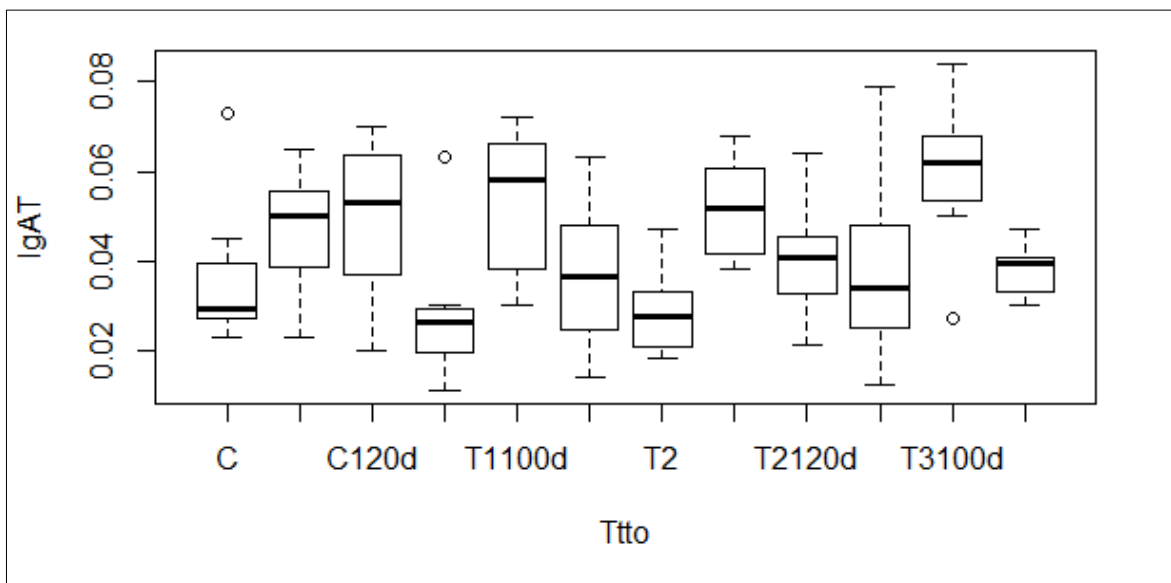


Figura 6. Concentración de IgA (g/L) por tratamiento a los 30, 100 y 120 días de edad

Las concentraciones de IgE generalmente son inferiores a la de IgG o de IgM, debido a que esta inmunoglobulina fue estimulada en células especializadas (He *et al.* 2015). Como puede observarse en la Tabla 18 en el estudio, al medir las concentraciones de IgE total, no se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre camadas ni tampoco entre tratamientos. Algo interesante a destacar, fue el comportamiento anacrónico de esta inmunoglobulina con relación al comportamiento de la IgG, ya que, en relación al tiempo, ha presentado una depresión gradual en su concentración, presentando los niveles más altos en las muestras tomadas a los 30 días de edad y los niveles más bajos en las muestras tomadas a los 120 días de edad.

Los animales que fueron parte de la presente investigación por su edad y condiciones de manera fisiológica tenían que presentar niveles elevados de IgE asociados a algunas condiciones que son comunes en cachorros de esta edad como: parasitosis, reacción frente a los nuevos alimentos que son incluidos en la dieta, los cuales pueden presentar un efecto alergénico (Olivry y Mueller 2019); sin embargo, en el organismo animal al igual que en el ser humano se producen mecanismos adaptativos, lo cual hace que las concentraciones de esta inmunoglobulina descendan conforme avanza la edad de los animales (He *et al.* 2015), El objetivo de la incorporación de esta inmunoglobulina en este trabajo fue determinar su variación frente al proceso de adaptación del alimento balanceado con el que los cachorros fueron alimentados y descartar una reacción alérgica a los suplementos empleados en cada tratamiento, los mismos que con los resultados obtenidos han sido descartados.

Tabla 19. Resultados de la concentración plasmática de inmunoglobulinas totales antes y después de la suplementación glutamina y BCCA en los diferentes tratamientos

INMUNOGLOBULINAS TOTALES																	
Parámetro	Edad días	Control			Tratamiento1			Tratamiento 2			Tratamiento 3			Valor p			
		30	100	120	30	100	120	30	100	120	30	100	120	Bloque 100 días	Bloque 120 días	Ttto 100 días	Ttto 120 días
IgG (g/L)	Media	0,848	1,817	2,105	0,417	1,644	2,065	0,564	1,867	2,259	0,642	1,886	2,202	0,246	0,002	0,550	0,781
	Mínimos	0,242	1,325	1,606	0,202	1,251	1,310	0,300	1,470	1,420	0,223	1,570	1,360				
	Máximos	2,056	2,790	2,790	0,735	2,000	3,000	1,333	2,437	3,410	1,451	2,090	3,550				
IgM (g/L)	Media	0,674	1,181	0,919	0,649	1,077	0,841	0,685	1,150	0,971	0,660	1,157	0,947	0,047	0,008	0,889	0,219
	Mínimos	0,402	0,873	0,792	0,367	0,850	0,652	0,505	0,620	0,720	0,543	0,712	0,670				
	Máximos	0,981	1,960	1,110	0,938	1,780	1,240	0,864	1,506	1,120	0,843	1,830	1,162				
IgA (g/L)	Media	0,037	0,047	0,049	0,028	0,053	0,037	0,028	0,052	0,040	0,038	0,060	0,038	0,015	0,109	0,360	0,277
	Mínimos	0,023	0,023	0,020	0,011	0,030	0,014	0,018	0,038	0,021	0,012	0,027	0,030				
	Máximos	0,073	0,065	0,070	0,063	0,072	0,063	0,047	0,068	0,064	0,079	0,084	0,047				
IgE (UI/ml)	Media	1,041	0,910	0,916	1,031	0,918	0,899	1,035	0,950	0,909	1,030	0,933	0,904	0,201	0,225	0,490	0,909
	Mínimos	1,020	0,730	0,810	1,000	0,870	0,840	1,000	0,910	0,870	1,000	0,880	0,840				
	Máximos	1,100	0,990	0,970	1,060	0,990	0,970	1,070	0,980	0,950	1,090	0,990	0,960				

Tabla 20. Resultados de las inmunoglobulinas específicas para Distemper Canino antes y después de la suplementación de glutamina y BCCAs en los diferentes tratamientos

IMNUMOGLOBULINAS ESPECIFICAS DISPEMPEM CANINO																	
		Control			Tratamiento1			Tratamiento 2			Tratamiento 3			Valor p			
Parámetro	Edad días	30	100	120	30	100	120	30	100	120	30	100	120	Bloque 100 días	Bloque 120 días	Ttto 100 días	Ttto 120 días
	Media	0,633	0,930	1,619	0,442	0,727	1,370	0,526	0,874	1,489	0,445	0,634	1,431	0,296	0,063	0,091.	0,921
IgGDC*	Mínimos	0,100	0,490	0,876	0,189	0,459	0,695	0,180	0,624	0,420	0,174	0,443	0,858				
	Máximos	2,067	1,693	3,164	1,304	1,033	3,500	1,450	1,071	3,650	1,103	0,736	2,151				
	Media	0,348	0,564	0,633	0,260	0,472	0,672	0,257	0,407	0,797	0,151	0,473	0,663	0,236	0,052	0,336	0,640
IgMDC*	Mínimos	0,102	0,301	0,320	0,116	0,308	0,278	0,117	0,280	0,364	0,103	0,299	0,310				
	Máximos	0,792	0,921	0,930	0,453	0,759	1,105	0,550	0,603	1,266	0,270	0,657	1,282				

*Valores de absorbancia mediante la técnica de ensayo inmunoenzimático de tipo indirecto.

IgG

NEGATIVO: < 0,270

POSITIVO: > 0,271 a 0,540 (Títulos Bajos que corresponden con valores de IFI de 1/20 - 1/40)

> 0,541 a 1,081 (Títulos medios que corresponden con valores de IFI de 1/80 - 1/160)

> 1,082 (Títulos Altos que correspondes con valores de IFI >= 1/320)

IgM

NEGATIVO: < 0,252

POSITIVO: > 0,253 a 0,882 (Títulos Bajos / Medios que corresponden con valores de IFI de 1/20 - 1/80)

> 0,883 (Títulos Altos que correspondes con valores de IFI > 1/160)

En la Tabla 20, se exponen los resultados correspondientes a la concentración de las inmunoglobulinas G (IgGDC) y M (IgMDC) específicas para el virus de Distemper canino (moquillo canino), una vez tabulados los resultados, no se han determinado diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias entre tratamientos, ni de estos con el grupo control. Tampoco se observaron variaciones entre el factor de bloque que corresponde a las cuatro camadas en estudio.

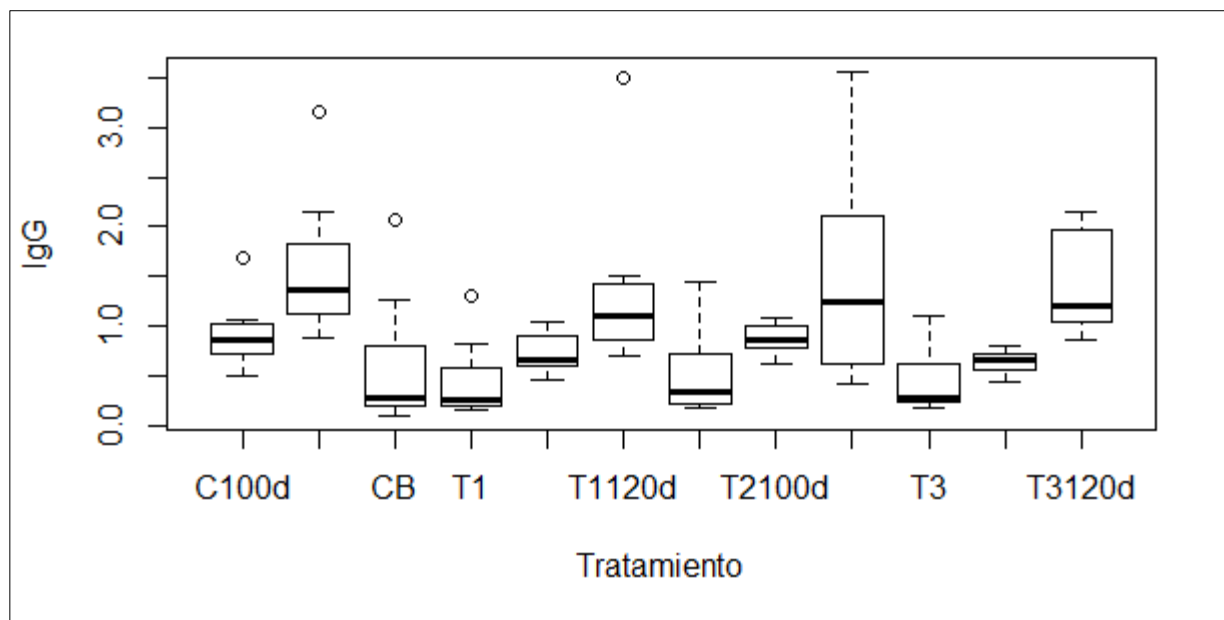


Figura 7. Niveles de absorbancia ELISA INDIRECTO para IgG de Distemper canino a los 100 y 120 días de suplementación

A los 100 y 120 días de edad los cachorros habían recibido 2 vacunas quíntuples dentro de las cuales se incluye al virus del Distemper canino, así de observó que en el muestreo de los 100 días los animales del grupo control y de los tres tratamientos en estudio mostraron niveles de absorbancia que reflejan títulos medios de valores de IFI, los cuales se encuentran entre 1/80 - 1/160, mostrando un efecto de protección no influenciado por la glutamina y los BCCA empleados como suplemento adicional al alimento recibido por los cachorros, sino más bien como un efecto de la respuesta humoral individual (Nova *et al.* 2018). A los 120 días de edad, luego de la aplicación de la segunda vacuna para Distemper canino se obtuvieron títulos altos de absorbancia de IgG que corresponden con valores de IFI $\geq 1/320$, valores que pueden ser encontrados en animales positivos para esta enfermedad; sin embargo, todos los animales del estudio al momento

de realizar el muestreo se encontraban sanos, siendo entonces estos niveles sugerentes a la respuesta del sistema inmune humoral a la vacuna (Pardo *et al.* 2020, Mitchell *et al.* 2012).

En un estudio realizado por Cunha *et al.* (2020), se aplicó un diseño similar con la medición de los títulos de anticuerpos al día 0 y después de la aplicación de dos vacunas cada una con un intervalo de 21 días, en el mismo se determinó un incremento gradual en los títulos de anticuerpos contra Distemper canino (Cunha *et al.* 2020) efecto que se puede observar en el presente estudio tras comparar las absorbancias de IgG e IgM para distemper canino en las figuras 6 y 7 respectivamente.

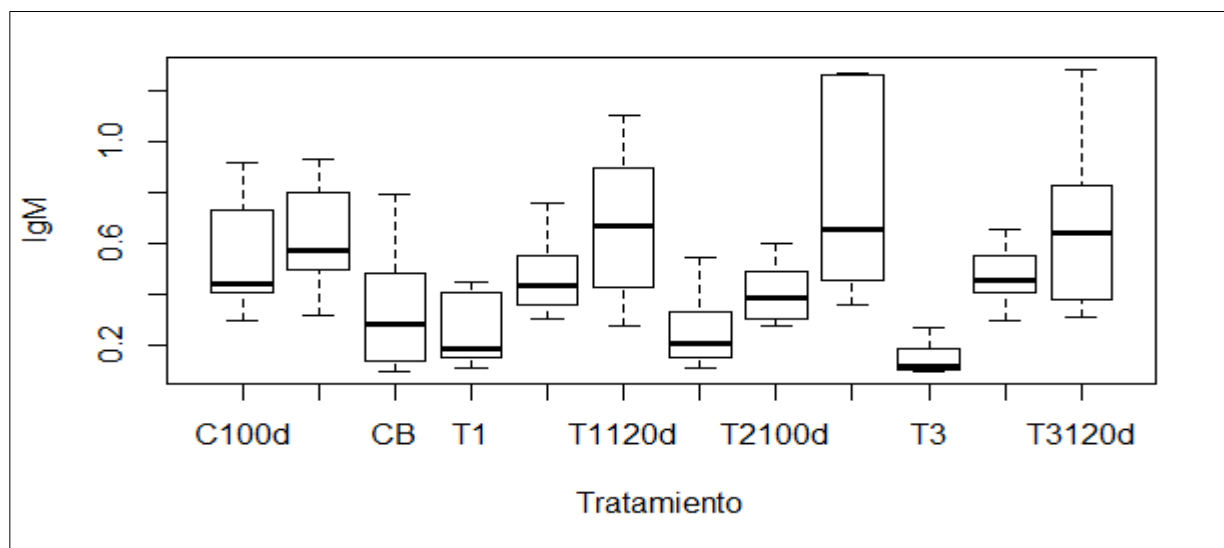


Figura 8. Niveles de absorbancia ELISA INDIRECTO para IgM de Distemper canino a los 100 y 120 días de suplementación

La respuesta a la vacunación medida a través de las concentraciones de IgM específica para distemper canino mostró que todos los animales presentaron absorbancias entre 0,253 a 0,882, tanto en las muestras tomadas a los 100 y 120 días de edad, lo cual refleja títulos Bajos / Medios que corresponden con valores de IFI de 1/20 - 1/80, los cuales son protectivos frente a esta enfermedad (Waner *et al.* 1998, Cunha *et al.* 2020).

En la Figura 8, se observan las absorbancias correspondientes a las concentraciones de IgM para Distemper canino por tratamiento, si bien no se observaron diferencias significativas entre el grupo

control y los tratamientos, pude observarse que la concentración de IgM del T2 a los 120 días es superior a todos los otros grupos, este efecto puede estar relacionado con la suplementación de glutamina y BCCA.

No existen estudios que evalúen la respuesta de estas inmunoglobulinas de manera específica en cachorros, por lo que de manera indirecta se podría indicar que esta respuesta puede ser interpretada como parte del incremento de las IgG e IgM totales analizadas anteriormente.

4.3 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE GLUTAMINA Y BCCA SOBRE EL DESARROLLO DE LOS ANIMALES EN ESTUDIO

Como se mencionó en la metodología, todos los cachorros fueron alimentados a partir de los 30 días de edad con un alimento de tipo Premium durante todo el tiempo que duró el experimento (12 semanas), y los animales de los diferentes tratamientos fueron suplementados con los aminoácidos correspondientes. De manera semanal se registró el consumo de alimento y los pesos de manera individual en los animales del grupo control y en los animales de los tres tratamientos, así con los datos obtenidos se tienen los siguientes resultados:

Tabla 21. Variación de peso por tratamiento en 12 semanas y consumo total de alimento

Indicador	Glutamina	BCCA	Glutamina+BCCA	Control	P valor
PI (kg)	1,01±0,36	1,03±0,21	1,03±0,20	0,96±0,14	–
PF (kg)	6,47±0,71	6,55±0,52	6,24±0,37	6,23±0,94	NS
VP (kg)	5,46±0,42	5,52±0,57	5,21±0,32	5,27±0,98	NS
GSP (kg/tratamiento/semana)	0,42±0,27	0,42±0,26	0,40±0,29	0,41±0,32	NS
CON (kg/ tratamiento /semana)	9,03±5,50	9,01±5,48	8,86±5,55	7,72±4,85	–

Media PI = Peso inicial

Media PF= Peso final

Media VP = Variación de peso

GSP = Ganancia de peso semanal

CON = Consumo de alimento

Los datos corresponden al promedio ± desviación estándar,

De acuerdo a los resultados observados en la tabla 20 no se observó una diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los promedios de peso final del grupo control y los tratamientos en estudio, es importante recalcar que las camadas de cachorros estudiadas eran animales mestizos sin un estandar de raza en particular por lo que el desarrollo fue evaluado en base a su peso. A pesar de haber significancia en la diferencia de pesos se pudo observar que los promedios de peso al finalizar el estudio fueron superiores en los tratamientos uno y dos, los cuales fueron suplementados con glutamina y BCCA, datos que de acuerdo a estudios evidenciados en humanos y en otros animales estos aminoácidos incrementan la síntesis de proteínas y un incremento en la masa muscular, siendo reflejada en la ganancia de peso (Zhou *et al.* 2018),

Así en todas las camadas en estudio (Figuras 9,10,11,12) se puede apreciar que en general los animales suplementados presentan una mayor curva de peso que refleja un mayor desarrollo de estos individuos en relación a los a los animales del grupo control.

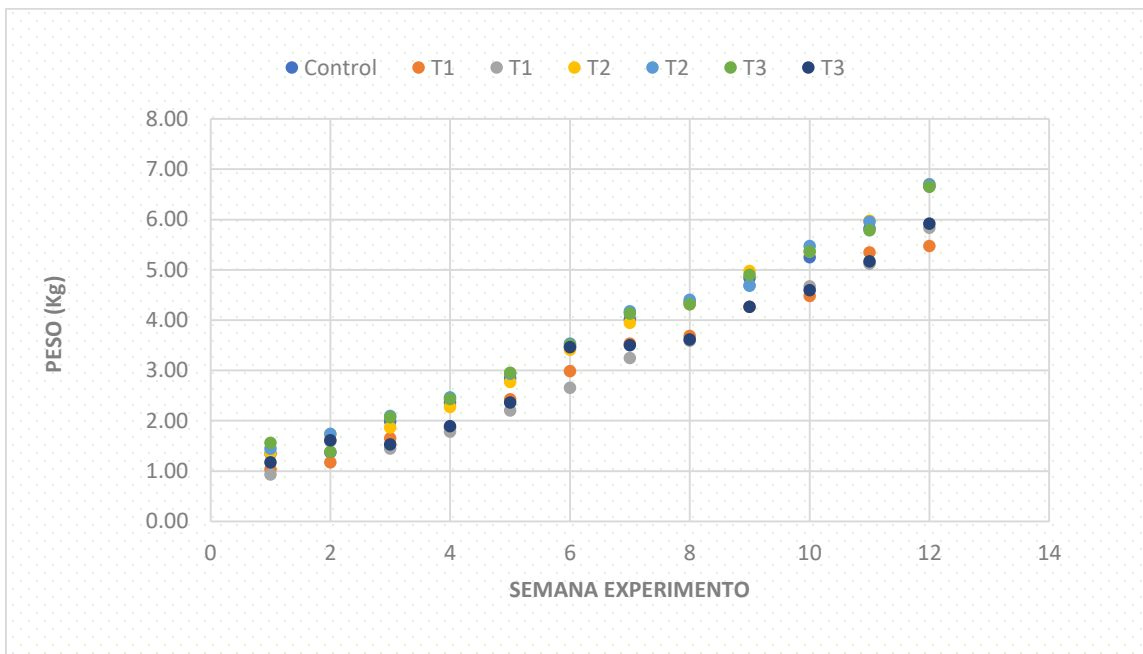


Figura 9. Curva de pesos de los animales de la camada uno

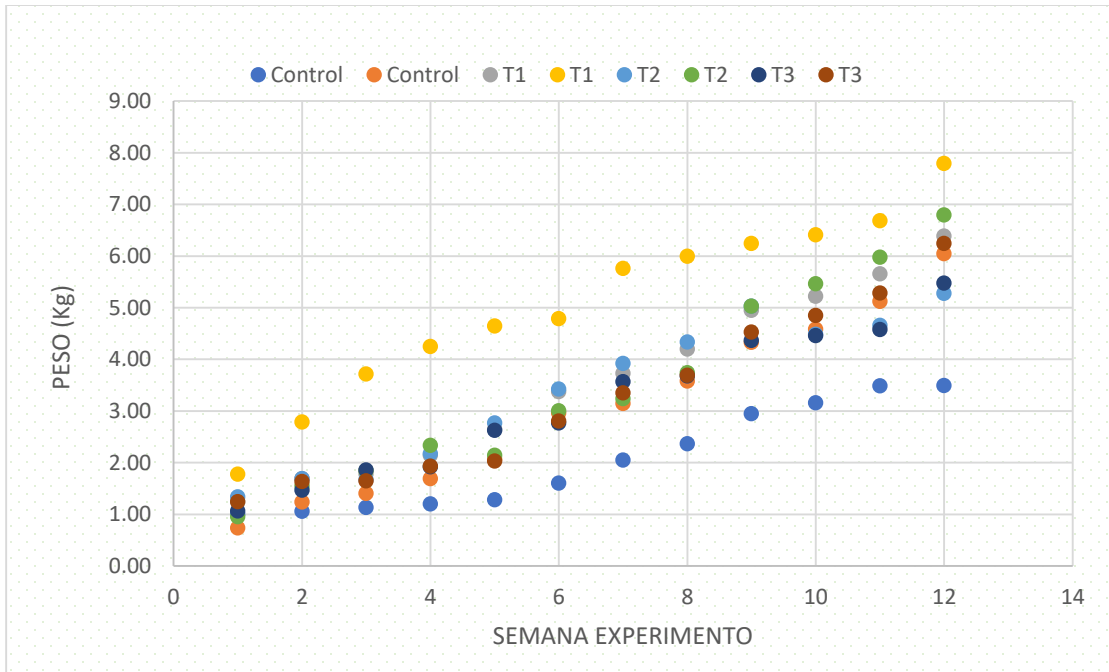


Figura 10. Curva de pesos de los animales de la camada dos

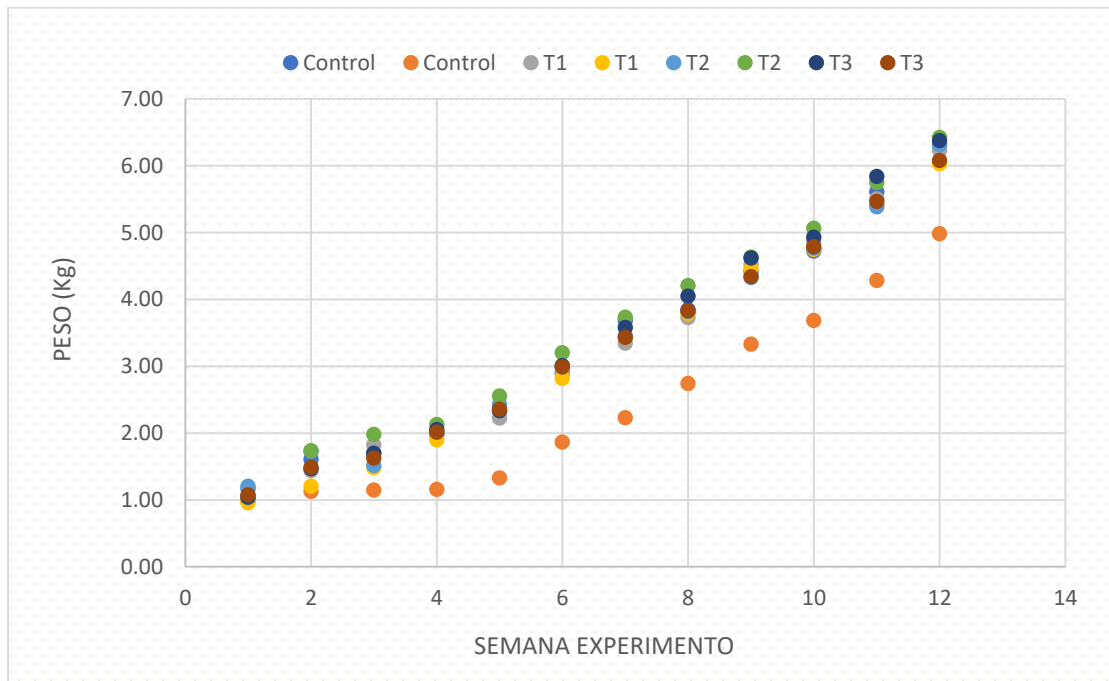


Figura 11. Curva de pesos de los animales de la camada tres

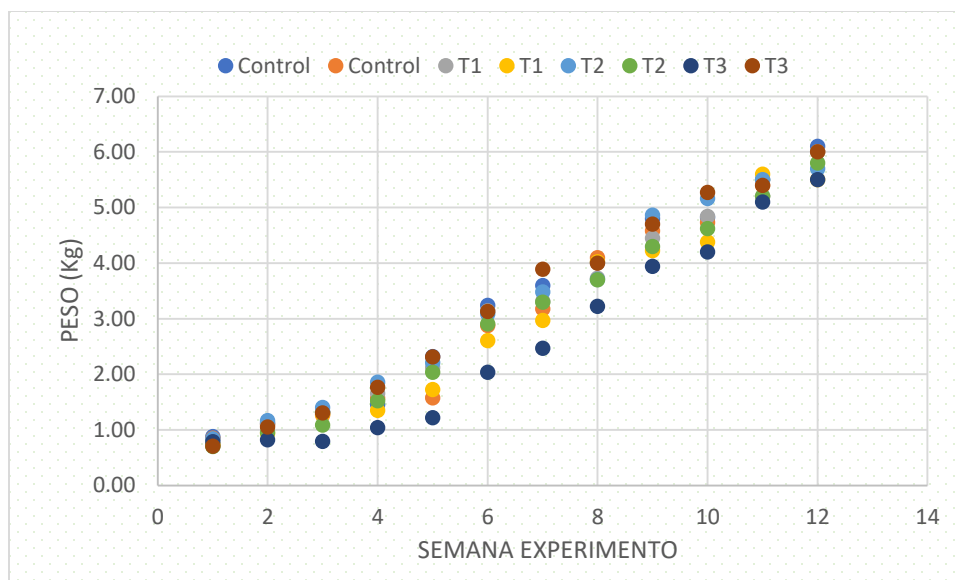


Figura 12. Curva de pesos de los animales de la camada cuatro

Tabla 22. Características de crecimiento de cachorros en 12 semanas por tratamiento

Tratamiento	R²	Media de crecimiento semanal (porcentaje)
Glutamina	0,961	15,53
BCCA	0,987	15,45
Glutamina+BCCA	0,989	15,62
Control	0,962	15,04

En la Tabla 22 y en las Figuras 9,10,11 y 12, se evidencia que el peso promedio de los animales en cada uno de los tratamientos tuvo un crecimiento lineal, característico de cachorros a esta edad, observándose una regresión lineal superior y más cercana a 1 en los tratamientos dos y tres los cuales fueron suplementados con BCCA.

En los últimos años se ha pensado que los BCCA incrementan la síntesis de proteínas induciendo un aumento de la masa muscular y la ganancia de peso, sin embargo, se ha determinado que este efecto puede ser observado solo en personas y animales en los cuales el músculo se encuentre en

actividad, como ocurre en los atletas que se encuentran en entrenamiento (Santos y Nascimento, 2019), o en cerdos en desarrollo, ya que en animales adultos la suplementación con BCCAs parece tener un efecto negativo en la síntesis de proteínas por interferir con ciertos receptores como los de serotonina (Habibi *et al.* 2021).

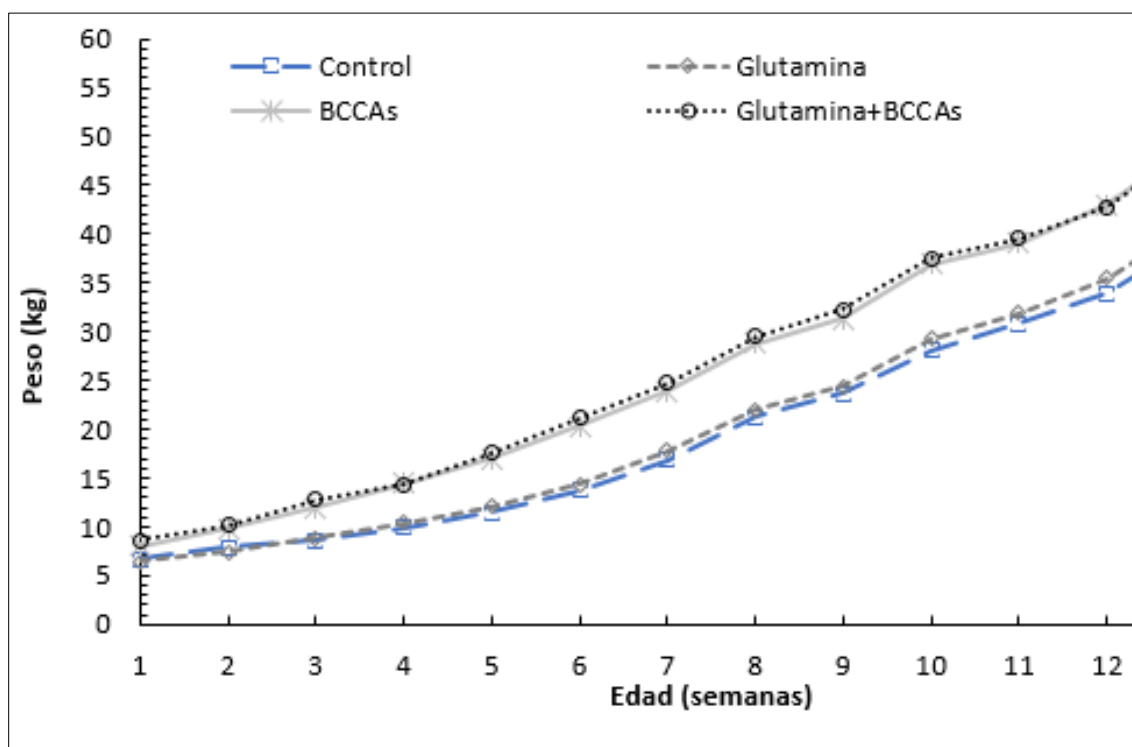


Figura 13. Curva de pesos acumulados por tratamiento de los cachorros incluidos en el estudio

Sin embargo en el presente trabajo al observar el comportamiento del peso por tratamiento, los animales de los tratamientos T2 (BCCA) y T3 (Glutamina+BCCA) mostraron una mayor ganancia de peso tras el periodo de suplementación que si bien no fue significativo con relación al grupo control y a los animales del T1 (glutamina), esta mayor ganancia de peso podría asumirse al efecto de los BCCA sobre el músculo de los cachorros que en esta etapa se encuentra en desarrollo continuo (Yoshizawa 2004).

V. CONCLUSIONES

1. Los resultados de los parámetros hematológicos y bioquímicos determinados en los cachorros a los 30 días de edad, mostraron ser diferentes a los establecidos para animales adultos observándose una diferencia por efecto del sexo en las células blancas de hemograma con una mayor población de monocitos, eosinófilos y basófilos en los machos, algunos componentes de la línea roja del hemograma y de la bioquímica sanguínea mostraron cambios de una camada a otra.
2. Los niveles de inmunoglobulinas totales determinadas a los 30 días de edad no mostraron variaciones asociadas al sexo, sin embargo, se determinaron variaciones asociadas a la camada solo en las concentraciones de IgM e IgA. De manera particular se presentaron niveles muy bajos de IgG total (<2,3 g/L).
3. Los anticuerpos específicos de las inmunoglobulinas G y M para Distemper canino a los 30 días de edad mostraron ser diferentes de una camada a otra, evidenciándose en el 45,16 por ciento de animales (14/31) títulos inferiores a 1/16 (IFI) de IgG y en el 64,52 por ciento (20/31) de IgM, los cuales indican una baja protección para esta enfermedad.
4. Hubo un efecto de la suplementación de aminoácidos de cadena ramificada (T2) sobre la población de neutrófilos 7,17 ($10^9/L$) con un valor $p=0,052$ a un IC de 90 por ciento, mostrando un aumento en el sistema de defensa innato de los animales, sin embargo, la población de linfocitos no fue afectada por la suplementación de glutamina o BCCA.
5. Estadísticamente la suplementación de los aminoácidos en los tres tratamientos no tuvo un efecto sobre los promedios de las concentraciones de las inmunoglobulinas totales (IgG, IgM e IgA) con relación al grupo control.

6. Hubo un incremento gradual en la concentración de las inmunoglobulinas específicas para Distemper canino, a los 100 días 87,10 por ciento (27/31) alcanzó títulos medios (valores de IFI de 1/80 - 1/160) de IgGDC, mientras que 12,90 por ciento presentó títulos bajos (valores de IFI de 1/20 – 1/40), los valores de IgM a esta edad presentaron en casi el 100 por ciento de animales títulos bajos/medios (valores de IFI 1/20 – 1/80), a los 120 días la respuesta a la vacunación fue más efectiva con niveles de IgGDC con títulos altos en más del 90 por ciento de animales, no se evidenciaron diferencias de los tratamientos con el grupo control descartando un efecto estimulante de la glutamina y los BCCA sobre la respuesta inmunológica post vacunal.
7. El desarrollo del peso individual y por tratamientos fue mayor en los tratamientos dos y tres, tratamientos que tienen dentro de su suplementación BCCA, aun así, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos y el grupo control.
8. El proceso de adaptación y transición de los cachorros desde los 30 días de edad hasta los 120 días desde el punto de vista inmunológico fue adecuado, presentando una depresión gradual en el promedio general de IgE de 0,13 UI/ml desde los 30 hasta los 120 días de edad, descartando la presencia de condiciones como alergia al nuevo alimento suministrado, parasitosis o enfermedades respiratorias durante el periodo trabajado con los animales del estudio.
9. La tolerancia a la suplementación de los aminoácidos en estudio fue aceptable, sin embargo, los rangos superiores y los promedios de ALT ($43,97 \pm .22,68$ U/L), AST ($60,32 \pm 28,51$ U/L), BUN ($4,72 \pm 3,18$ mmol/L) y CREA ($59,06 \pm 32,89$ umol/L) mostrados en todos los tratamientos incluyendo al grupo control sugieren un ligero esfuerzo hepático y renal para metabolizar y eliminar los productos del alimento consumido solo y con los suplementos. No se observaron incrementos en estos analitos que sugieran enfermedad hepática o renal.

VI. RECOMENDACIONES

1. Emplear alimentos premium en Ecuador, como base de la alimentación de cachorros, ya que contienen el perfil de aminoácidos adecuado y los macronutrientes adecuadamente balanceados, fomentando la salud y el bienestar de los animales.
2. Realizar más estudios para analizar las concentraciones de IgG e IgM en los neonatos y en los cachorros con el fin de evaluar la calidad nutricional del calostro y de la leche materna, problemas en la lactación u otros factores que pueden conllevar a una baja concentración de estas inmunoglobulinas en los cachorros. Al mismo tiempo se recomienda tomar en cuenta las bajas concentraciones de IgGDC e IgMDC en los cachorros con el fin de ajustar los calendarios vacunales aplicados en el Ecuador.
3. Replicar el estudio con la suplementación de glutamina y BCCA en cachorros alimentados con balanceados comerciales o con dietas caseras para observar si la respuesta es similar a la encontrada en este estudio.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adkins, Y; Lepine, AJ; Lönnerdal, B. 2001. Changes in protein and nutrient composition of milk throughout lactation in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 62(8), 1266–1272. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2001.62.1266>
- Agar, S. 2008. *Small Animal Nutrition*. Meriland.Elsiever.
- Akers, M. R., & Denbow, M. (2013). *Anatomy & Physiology Of Domestic Animals*. Iowa: Wiley Blackwell.
- Araujo, J. 2004. Comparison of the Cognitive Palatability Assesment Protocol and the Two Pan Test for Use in Assessing Palatability of Two Silimar Foods in Dogs. *Am J Vet Res Vol 65*, 1490-1496.
- Arendt, M; Cairns, KM; Ballard J, WO; Savolainen, P; Axelsson, E. 2016. Diet adaptation in dog reflects spread of prehistoric agriculture. *Heredity*, 117(5), 301–306. <https://doi.org/10.1038/hdy.2016.48>
- AAFCO (Association of American Feed Control Officials). 2003. Official Publication. AAFCO Inc., Atlanta, USA. 464 p.
- AAFCO (Association of American Feed Control Officials). 2016. *Association of American Feed Control Officials 2016 AAFCO Annual Meeting Committee Reports*. 2–4.
- Baker, DH. 2005. Tolerance for branched-chain amino acids in experimental animals and humans. *Journal of Nutrition*, 135(6 SUPPL.), 1585–1590. <https://doi.org/10.1093/jn/135.6.1585s>
- Barrera, V. 2004. Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, 115-119.
- Blixenkroner-Moller, M; Pedersen, IR; Appel, MJ; Griot, C. 2015. *Detection of IgM antibodies against canine distemper virus in dog and mink sera employing enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)*. 9(1991), 3–9.
- Bommer, NX; Shaw, DJ; Milne, EM; Ridyard, AE. 2008. Platelet distribution width and mean platelet volume in the interpretation of thrombocytopenia in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 49(10), 518–524. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2008.00636.x>

- Breheeny, CR; Handel, I; Banner, S; Milne, EM; Morrison, LR; Smith, SH; Kilpatrick, S; Gow, A; Mellanby, RJ. 2020. Neutrophilia is associated with a poorer clinical outcome in dogs with chronic hepatitis. *Veterinary Record*, 187(6), 234. <https://doi.org/10.1136/vr.105533>
- Brenten, T; Morris, PJ; Salt, C; Raila, J; Kohn, B; Schweigert, FJ; Zentek, J. 2016. Age-associated and breed-associated variations in haematological and biochemical variables in young Labrador retriever and miniature schnauzer dogs. *Veterinary Record Open*, 3(1), 1–9. <https://doi.org/10.1136/vetreco-2015-000166>
- Brosnan, JT; Brosnan, ME. 2006. *Branched-Chain Amino Acids : Metabolism , Physiological Function , and Application Branched-Chain Amino Acids : Enzyme and Substrate Regulation 1 – 3*. 3, 207–211.
- Buff, PR; Carter, RA; Bauer, JE; Kersey, JH. 2014. Natural pet food: A review of natural diets and their impact on canine and feline physiology. *Journal of Animal Science*. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7789>
- Burns, RA; Carton RA, YL; Milner, AA. 1984. Leucine, Isoleucine and Valine Requirements Immature Beagle Dogs¹. *American Institute of Nutrition.*, July 1983, 204–209. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/jn/114.1.204>
- Burrin, D. 2008. Emerging aspects of dietary glutamate metabolism in the developing gut. *Asia Pac J Clin Nutr*, 368-371.
- Canul, G. 2009. Glutamina en nutrición clínica . *Revista de Endocrinología y Nutrición* Vol. 17, No. 4 , 161-169.
- Case, L. 2011. *Canine and Feline Nutrition*. Maryland Heights, Missouri . United States of America: MOSBY, ELSEVIER.
- Castro, TX; De Cubel G, RCN; Gonçalves, LRS; Costa, EM; Marcello, GCG; Labarthe, NV; Mendes-De-Almeida, F. 2013. Clinical, hematological, and biochemical findings in puppies with coronavirus and parvovirus enteritis. *Canadian Veterinary Journal*, 54(9), 885-888. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3743577/>
- Chandler, ML; Takashima, G. 2014. Nutritional concepts for the veterinary practitioner. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 44(4), 645–666. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2014.03.009>
- Chastant, S; Mila, H. 2019. Passive immune transfer in puppies. *Animal Reproduction Science*, 207(June), 162–170. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.06.012>

- Chastant, S; Mila, H. 2020. *Passive immune transfer in puppies. January.*
- Clemente M; Marín L; Lasbik, MC; Couto, G. 2010. Serum concentrations of IgG, IgA, and IgM in retired racing Greyhound dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 4, 436–439. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2010.00267.x>
- Connolly, SL; Nelson, S; Jones, T; Kahn, J; Constable, PD. 2020. The effect of age and sex on selected hematologic and serum biochemical analytes in 4804 elite endurance-trained sled dogs participating in the Iditarod Trail Sled Dog Race pre-race examination program. *PLoS ONE*, 15(8 August), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237706>
- Costa, TB; Da Moraes, NG; De Pedrosa, ALF; De Albuquerque SD, CG; De Castro MC; AB; Pereira, VRA; Cavalcanti, MDP; De Castro CM, MB. 2016. Neonatal malnutrition programs the oxidant function of macrophages in response to *Candida albicans*. *Microbial Pathogenesis*, 95, 68–76. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.02.012>
- Coster, J; McCauley, R; Hall, J. 2004. Glutamine: Metabolism and application in nutrition support. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 13(1), 25–31.
- Cotter, DG; Ercal, B; D'Avignon, DA; Dietzen, DJ; Crawford, PA. 2013. Impact of peripheral ketolytic deficiency on hepatic ketogenesis and gluconeogenesis during the transition to birth. *Journal of Biological Chemistry*, 288(27), 19739–19749. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.454868>
- Couto, G. 2010. *Medicina Interna de Pequenos Animales*. Barcelona - Espana: Elsevier.
- Crane, C; Rozanski, EA; Abelson, AL; deLaforcade, A. 2017. Severe brachycephalic obstructive airway syndrome is associated with hypercoagulability in dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 29(4), 570–573. <https://doi.org/10.1177/1040638717703434>
- Cruzat, V; Rogero, MM; Keane, KN; Curi, R; Newsholme, P. 2018. *Glutamine: Metabolism and Immune Function, Supplementation and Clinical Translation*. 1–31. <https://doi.org/10.3390/nu10111564>
- Cunningham's. 2014. *Textbook of Veterinary Physiology*. Barcelona: Elsevier.
- Cunha, RDS; Camilo, L; Junior, S; Costa, CA; Aguiar HM, De; Júnior, DGJ. 2020. *Comparison of immunity against canine distemper, adenovirus and parvovirus after vaccination with two multivalent canine vaccines*. 330–334. <https://doi.org/10.1002/vms3.274>
- CVN (Clínicas Veterinarias de Norteamérica). 2007. *Control Alimentario y Nutrición*. Barcelona: ELSIEVER MASSON.

- Daumas, C; Paragon, B-M; Thorin, C; Martin, L; Dumon, H; Ninet, S; Nguyen, P. 2014. Evaluation of eight commercial dog diets. *Journal of Nutritional Science*, 3, 1–5. <https://doi.org/10.1017/jns.2014.65>
- Day, MJ. 2007. Immune System Development in the Dog and Cat. *Journal of Comparative Pathology*, 137(SUPPL. 1), 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2007.04.005>
- Day, MJ; Crawford D, C; MarConDes, M; Squires, R. 2020. *Recommendations on vaccination for Latin American small animal practitioners: a report of the WSAVA Vaccination Guidelines Group*. 1–35. <https://doi.org/10.1111/jsap.13125>
- De Caprariis, D; Dantas-Torres, F; Capelli, G; Mencke, N; Stanneck, D; Breitschwerdt, EB; Otranto, D. 2011. Evolution of clinical, haematological and biochemical findings in young dogs naturally infected by vector-borne pathogens. *Veterinary Microbiology*, 149(1–2), 206–212. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.10.006>
- De Godoy, MRC; Hervera, M; Swanson, KS; Fahey, GC. 2016. Innovations in canine and feline nutrition: Technologies for food and nutrition assessment. *Annual Review of Animal Biosciences*, 4, 311–333. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-021815-111414>
- De la Torre, D; Mafla, E; Puga, B; Erazo, L; Astolfi-Ferreira, C; Ferreira, AP. 2018. Molecular characterization of canine parvovirus variants (CPV-2a, CPV-2b, and CPV-2c) based on the VP2 gene in affected domestic dogs in Ecuador. *Veterinary World*, 11(4), 480–487. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.480-487>
- Deboer, DJ; Hill, PB. 1999. Serum immunoglobulin E concentrations in West Highland White Terrier puppies do not predict development of atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 10, 275–281. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3164.1999.00156.x>
- Deng, P; Swanson, KS. 2015. Companion animals symposium: Future aspects and perceptions of companion animal nutrition and sustainability. *Journal of Animal Science*, 93(3), 823–834. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8520>
- Di Cerbo, A; Morales-Medina, JC; Palmieri, B; Pezzuto, F; Cocco, R; Flores, G; Iannitti, T. 2017. Functional foods in pet nutrition: Focus on dogs and cats. *Research in Veterinary Science*, 112, 161–166. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.03.020>
- Dobenecker, B; Endres, V; Kienzle, E. 2013. Energy requirements of puppies of two different breeds for ideal growth from weaning to 28 weeks of age. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 97(1), 190–196. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2011.01257.x>

- Duijvestijn, M; Mughini-Gras, L; Schuurman, N; Schijf, W; Wagenaar, JA; Egberink, H. 2016. Enteropathogen infections in canine puppies: (Co-) occurrence, clinical relevance and risk factors. *Veterinary Microbiology*, 195, 115–122.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.09.006>
- Dust, J. (2005). Chemical composition, protein quality, palatability, and digestibility of alternative protein sources for dogs. *Journal Animal Science*, 2414-2422.
- Ellis, JA. 2019. Canine IgA and IgA deficiency: Implications for immunization against respiratory pathogens. *Canadian Veterinary Journal*, 1305–1311.
- Engelking, L. 2011. *Textbook Of Veterinary Physiological Chemistry*. Second Edition. Oxford, EE UU: Elsevier.
- Ettinger, S. 2006. *Tratado de Medicina Interna Veterinaria*. Barcelona-Espana : Elsevier.
- FDA (Food and Drug Administration). 2016. *Hazard Analysis and Risk-Based Preventive Controls for Human Food : Guidance for Industry*. 3(January 2018), 1–185.
<http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/FSMA/ucm459719.htm>.
- FEDIAF (Federación Europea de Fabricantes de Alimentos para Animales de Compañía). 2017. *Guías Nutricionales para alimentos completos y complementarios para perros y gatos*. 102.
<https://www.um.es/documents/14554/744854/Guias-Nutricionales-FEDIAF-es-2017.pdf/410142b0-9ad7-4752-a0a7-3b102b1dc3c0>
- Fisher, EW. 1982. Neonatal diseases of dogs and cats. *The British Veterinary Journal*, 138(4), 277–284. [https://doi.org/10.1016/s0007-1935\(17\)31031-x](https://doi.org/10.1016/s0007-1935(17)31031-x)
- Fontaine, E. 2012. Food intake and nutrition during pregnancy, lactation and weaning in the dam and offspring. *Reproduction in Domestic Animals*, 47 (SUPPL. 6), 326–330.
<https://doi.org/10.1111/rda.12102>
- Fretwell, LK; Mccune, S; Fone, JV; Yates, DJ. 2006. *The WALTHAM International Nutritional Sciences Symposia The Effect of Supplementation with Branched-Chain Amino Acids on Cognitive Function in Active Dogs 1 , 2*. 2069–2071.
- Freund, HR. 1985. Effect of branched-chain amino acids and insulin on postinjury protein catabolism in growing animals. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 9(1), 71.
<https://doi.org/10.1177/014860718500900171>
- Freyburger, L; Marcheteau, E; Thoumire, S; Ravier, JF; Reynaud, K. 2012. Timing of the Intestinal Barrier Closure in Puppies. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 190–193.

<https://doi.org/10.1111/rda.12008>

- Fusi, J; Faustini, M; Bolis, B; Veronesi, MC. 2020. Apgar score or birthweight in Chihuahua dogs born by elective Caesarean section: Which is the best predictor of the survival at 24 h after birth? *Acta Veterinaria Scandinavica*, 62(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13028-020-00538-y>
- Garnsworthy, P. 2009. Recent Advances in Animal Nutrition. Nottingham: British Library Cataloguing in Publication Data.
- Gizzi, A; Oliveira, S; Leutenegger, CM; Estrada, M; Kozemjakin, D; Stedile, R; Marcondes, M; Biondo, A. 2014. Presence of infectious agents and co-infections in diarrheic dogs determined with a real-time polymerase chain reaction-based panel. *BMC Veterinary Research*, 10(1), 23. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-23>
- Glaus, TM; Hässig, M; Baumgartner, C; Reusch, CE. 2003. Pulmonary hypertension induced in dogs by hypoxia at different high-altitude levels. *Veterinary Research Communications*, 27(8), 661–670. <https://doi.org/10.1023/A:1027380614534>
- Gómez, L. 2013. Introducción a la Nutrición de Caninos y Felinos. 1(1), 52–61. <https://doi.org/10.1590/1518-8345.0979.2734>
- Grandjean, D; Butterwick, R. 2009. *Libro de bolsillo WALTHAM® sobre nutrición esencial de gatos y perros nutrición esencial de gatos y perros*. 64. https://www.waltham.com/dyn/_assets/_docs/waltham-booklets/essential-nutrition-for-cats-and-dogs/nutritionpocketbookspanish.pdf
- Greco, DS. 2008. *Nutritional supplements for pregnant and lactating bitches*. 70, 393–396. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.013>
- Greco, DS. 2009. Nutritional Supplements for Pregnant and Lactating Bitches. *Topics in Companion Animal Medicine*, 24(2), 46–48. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2009.02.001>
- Greco, DS. 2014. Pediatric nutrition. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 44(2), 265–273. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2013.11.001>
- Grellet, A; Heilmann, RM; Polack, B; Feugier, A; Boucraut-Baralon, C; Grandjean, D; Grützner, N; Suchodolski, JS; Steiner, JM; Chastant-Maillard, S. 2016. Influence of Breed Size, Age, Fecal Quality, and Enteropathogen Shedding on Fecal Calprotectin and Immunoglobulin A Concentrations in Puppies During the Weaning Period. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(4), 1056–1064. <https://doi.org/10.1111/jvim.14255>

- Grellet, A; Chastant-Maillard, S; Robin, C; Feugier, A; Boogaerts, C; Boucraut-Baralon, C; Grandjean, D; Polack, B. 2014. Risk factors of weaning diarrhea in puppies housed in breeding kennels. *Preventive Veterinary Medicine*, 117(1), 260–265.
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.07.016>
- Grundy, SA. 2006. Clinically relevant physiology of the neonate. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 36(3), 443–459.
<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2005.12.002>
- Grze, Ł; Endo, A; Beasley, S; Salminen, S. 2020. Microbiota and probiotics in canine and feline welfare Łukasz. *Anaerobe*, 34(January), 14–25.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.04.002>
- Habibi, M; Shili, C; Sutton, J; Goodarzi, P; Maylem, ER; Spicer, L; Pezeshki, A. 2021. Branched-chain amino acids partially recover the reduced growth of pigs fed with protein-restricted diets through both central and peripheral factors. *Animal Nutrition*, 7(3), 868–882.
<https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.02.002>
- Harper, EJ; Hackett, RM; Wilkinson, J; Heaton, PR. 2003. Age-related variations in hematologic and plasma biochemical test results in Beagles and Labrador Retrievers. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223(10), 1436–1442.
<https://doi.org/10.2460/javma.2003.223.1436>
- Hasler, CM. 2000. The Changing Face of Functional Foods. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(September 2014), 499S-506S.
<https://doi.org/10.1080/07315724.2000.10718972>
- He, J; Narayanan, S; Subramaniam, S; Ho, WQ. 2015. Biology of IgE Production : IgE Cell Differentiation and the Memory of IgE Responses. *Springer International Publishing Switzerland*, 1–19. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-13725-4>
- Heird, WC; Hansen, IH. 1981. *Colostrum-Induced Enteric Mucosal Growth in Beagle Puppies*. 274(1980), 3–6. <https://doi.org/10.1203/00006450-198406000-00005>
- Hill, RC; Choate, CJ; Scott, KC; Molenberghs, G. 2009. Comparison of the guaranteed analysis with the measured nutrient composition of commercial pet foods. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Vol 234, No. 3, 347–351.
<https://doi.org/10.2460/javma.234.3.347>
- Hogenesch, H; Thompson, S. 2010. Effect of Ageing on the Immune Response of Dogs to

- Vaccines. *Journal of Comparative Pathology*, 142, S74–S77.
<https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2009.09.006>
- Huillier, L; Jarbeau, M; Pingeon, F; Bahlouli, W; Rego, J; Pierre, D; Coë, M. 2020. Influence of Glutamine and Branched-Chain Amino Acids Supplementation during Refeeding in Activity-Based Anorectic Mice. *Nutrients*, 1–14. <https://doi.org/10.3390/nu12113510>
- Humbert, B; Nguyen, P; Dumon, H; Deschamps, JY; Darmaun, D. 2002. Does enteral glutamine modulate whole-body leucine kinetics in hypercatabolic dogs in a fed state? *Metabolism: Clinical and Experimental*, 51(5), 628–635. <https://doi.org/10.1053/meta.2002.32018>
- Hutter, ER. 1991. Nutrición en caninos y felinos. In *Veterinarios en web.com* (Segunda Ed, pp. 1–115).
- Ishii, T; Hori, H; Ishigami, M; Mizuguchi, H; Watanabe, D. 2013. Background data for hematological and blood chemical examinations in juvenile beagles. *Experimental Animals*, 62(1), 1–7. <https://doi.org/10.1538/expanim.62.1>
- Johnson, LN; Linder, DE; Heinze, CR; Kehs, RL; Freeman, LM. 2016. Evaluation of owner experiences and adherence to home-cooked diet recipes for dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 57(1), 23–27. <https://doi.org/10.1111/jsap.12412>
- Kanakubo, K; Fascetti, AJ; Larsen, JA. 2015. Assessment of protein and amino acid concentrations and labeling adequacy of commercial vegetarian diets formulated for dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 247(4), 385–392. <https://doi.org/10.2460/javma.247.4.385>
- Kang, JH; Kim, SS; Yang, MP 2012. Effect of parenteral L-alanyl-L-glutamine administration on phagocytic responses of polymorphonuclear neutrophilic leukocytes in dogs undergoing high-dose methylprednisolone sodium succinate treatment. *American Journal of Veterinary Research*, 73(9), 1410–1417. <https://doi.org/10.2460/ajvr.73.9.1410>
- Kelly, D; Coutts, AGP. 2000. *Early nutrition and the development of immune function in the neonate*. 44, 177–185.
- Kimball, SR; Jefferson, LS 2001. Regulation of protein synthesis by branched-chain amino acids. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 4:39±43., 39–43. <https://doi.org/10.1097/00075197-200101000-00008>
- Kimura, T; Kotani, K. 2018. Perinatal veterinary medicine-related evaluation in hematological and serum biochemical profiles of experimental beagles throughout pregnancy and

- parturition. *Animal Models and Experimental Medicine*, 1(4), 282–294.
<https://doi.org/10.1002/ame2.12043>
- Kobayashi, S; Hanada, N; Matsuzaki, M; Takehara, K; Ota, E; Sasaki, H; Nagata, C; Mori, R. 2017. Assessment and support during early labour for improving birth outcomes [Systematic Review]. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 8.
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD011516.pub2.www.cochranelibrary.com>
- Laflamme, DP. 2005. Nutrition for aging cats and dogs and the importance of body condition. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 35(3), 713–742.
<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2004.12.011>
- Latha, D; Geetha, M; Ramadass, P; Narayanan, RB. 2007. *Development of recombinant nucleocapsid protein based IgM-ELISA for the early detection of distemper infection in dogs*. 119, 278–286. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2007.06.006>
- Lauten, SD. 2006. Nutritional Risks to Large-Breed Dogs: From Weaning to the Geriatric Years. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 36(6), 1345–1359.
<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2006.09.003>
- Leiva, A; Molina, A; Redondo-Solano, M; Artavía, G; Rojas-Bogante, L; Granados-Chinchilla, F. 2019. *Pet Food Quality Assurance and Safety and Quality*.
<https://doi.org/10.3390/ani9110980>
- Litster, AL; Pressler, B; Volpe, A; Dubovi, E. 2012. Accuracy of a point-of-care ELISA test kit for predicting the presence of protective canine parvovirus and canine distemper virus antibody concentrations in dogs. *The Veterinary Journal*, 193(2), 363–366.
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.01.027>
- Lobley, GE; Hoskin, SO; Mcneil, CJ. 2018. *Glutamine Metabolism : Nutritional and Clinical Significance Glutamine in Animal Science and Production 1*. April, 2525–2531.
- Lv, D; Xiong, X; Yang, H; Wang, M; He, Y; Liu, Y; Yin, Y. 2018. Effect of dietary soy oil , glucose , and glutamine on growth performance , amino acid profile , blood profile , immunity , and antioxidant capacity in weaned piglets. *Science China Life Sciences*.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11427-018-9301-y>
- Mao, X; Gu, C; Ren, M; Chen, D; Yu, B; He, J; Yu, J; Zheng, P; Luo, J; Luo, Y; Wang, J; Tian, G; Yang, Q. 2018. L-isoleucine administration alleviates rotavirus infection and immune response in the weaned piglet model. *Frontiers in Immunology*, 9(JUL), 1–12.

<https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01654>

- Marante, J. 2005. *Usos de la glutamina en pediatría*. 37–43.
- Martella, V; Elia, G; Buonavoglia, C. 2008. Canine Distemper Virus. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 38, 787–797. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2008.02.007>
- Martí, S. 2013). *Medicina pediátrica en pequeños animales*. Zaragoza: SERVET GRUPO ASIS.
- Matute, L. 2013. Digestibilidad del Camote y su efecto sobre la digestibilidad de concentrados usados en la alimentación de perros. *Rev Inv Perú*, 13-17.
- Maya, GC. 2007. Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación. *Medicina & Laboratorio*, 13(11–12), 511–550.
- Mehain, SO; Haines, JM; Lee, PM. 2019. Platelet indices as biomarkers for characterization and determination of severity in canine chronic enteropathy. *Veterinary Journal*, 248, 37–41. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.04.003>
- Mehlhorn, H; Hanser, E; Harder, A; Hansen, O; Mencke, N; Schaper, R. 2003. Synergistic Effects of Pyrantel and the Febantel Metabolite Fenbendazole on Adult *Toxocara canis*. *Parasitol Res*, 151–153. <https://doi.org/10.1007/s00436-003-0923-5>
- Michael, N; Danielle, M; Zoltan, A. 2016. Branched Chain Aminoacides. *Physiology & Behavior*, 176(1), 139–148. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-020518-114455>. Branched
- Mila, H; Feugier, A; Grellet, A; Anne, J; Gonnier, M; Martin, M; Rossig, L; Chastant-Maillard, S. 2014. Inadequate passive immune transfer in puppies: Definition, risk factors and prevention in a large multi-breed kennel. *Preventive Veterinary Medicine*, 116(1–2), 209–213. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.05.001>
- Mila, H; Feugier, A; Grellet, A; Anne, J; Gonnier, M; Martin, M; Rossig, L; Chastant-Maillard, S. 2015. Immunoglobulin G concentration in canine colostrum: Evaluation and variability. *Journal of Reproductive Immunology*, 112, 24–28. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2015.06.001>
- Mila, H; Grellet, A; Delebarre, M; Mariani, C; Feugier, A; Chastant-Maillard, S. 2017. Monitoring of the newborn dog and prediction of neonatal mortality. *Preventive Veterinary Medicine*, 143, 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.05.005>
- Mila, H; Grellet, A; Mariani, C; Feugier, A; Guard, B; Suchodolski, J; Steiner, J; Chastant-Maillard, S. 2017. Natural and artificial hyperimmune solutions: Impact on health in

- puppies. *Reproduction in Domestic Animals*, 52, 163–169.
<https://doi.org/10.1111/rda.12824>
- Mitchell, S; Zwijnenberg, R; Huang, J; Hodgeb, A; Dayc, M. 2012. *Duration of serological response to canine parvovirus-type 2, canine distemper virus, canine adenovirus type 1 and canine parainfluenza virus in client-owned dogs in Australia*. 90(12).
<https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2012.01009.x>
- Morein, B; Abusugra, I; Blomqvist, G. 2002. *Immunity in neonates*. 87, 207–213.
- Moreno-Cadena, D., Mena-Pérez, R; Quisirumbay-Gaibor, J. 2018. Comparative study of endoparasitosis in canines in two localities of the ecuadorian coast | Estudio comparativo de las endoparasitosis en caninos de dos localidades de la costa ecuatoriana. *Revista Electronica de Veterinaria*, 19(6), 1–11.
- Morris, PJ; Salt, C; Raila, J; Brenten, T; Kohn, B; Schweigert, FJ. 2012. *Safety evaluation of vitamin A in growing dogs*. 1800–1809. <https://doi.org/10.1017/S0007114512000128>
- Mugnier, A; Mila, H; Guiraud, F; Brévaux, J; Lecarpentier, M; Martinez, C; Mariani, C; Adib-Lesaux, A; Chastant-Maillard, S; Saegerman, C; Grellet, A. 2019. Birth weight as a risk factor for neonatal mortality: Breed-specific approach to identify at-risk puppies. *Preventive Veterinary Medicine*, 171(February), 104746.
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104746>
- Mundi, MS; Shah, M; Hurt, RT. 2016. When is it appropriate to use Glutamine in critical illness? *Nutrition in Clinical Practice*, 31(4), 445–450.
<https://doi.org/10.1177/0884533616651318>
- Nie, C; He, T; Zhang, W; Zhang, G; Ma, X. 2018. Branched chain amino acids: Beyond nutrition metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4).
<https://doi.org/10.3390/ijms19040954>
- Nova, BV; Cunha, E; Sepúlveda, N; Oliveira, M; Braz, BS; Tavares, L; Almeida, V; Gil, S. 2018. Evaluation of the humoral immune response induced by vaccination for canine distemper and parvovirus : a pilot study. *BMC Veterinary Research*, 1–8.
- Olivry, T; Mueller, RS. 2019. Critically Appraised Topic on Adverse Food Reactions of Companion Animals (8): Storage Mites in Commercial Pet foods. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 1–5. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2102-7>
- Olsson, M; Frankowiack, M; Tengvall, K; Roosje, P; Fall, T; Ivansson, E; Bergvall, K; Hansson-

- Hamlin, H; Sundberg, K; Hedhammar, Å; Lindblad-toh, K; Hammarström, L. 2014. The dog as a genetic model for Immunoglobulin A (IgA) deficiency: Identification of several breeds with low serum IgA concentrations. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.05.010>
- Paim, FC; Da, AS; Breno, C; Paim, V; Franc, RT; Costa, MM; Duarte, MMF; Silva, CB; Mazzanti, CMA; Monteiro, SG; Lopes, STA. 2013. *Veterinary Parasitology Serum proteinogram , acute phase proteins and immunoglobulins in dogs experimentally infected with Rangelia vitalii*. 192, 137–142. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.09.036>
- Pardo, MC; Tanner, P; Bauman, J; Silver, K; Fischer, L. 2020. *Immunization of Puppies in the Presence of Maternally Derived Antibodies Against Canine Distemper Virus*. January. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2007.04.015>
- Reyes R, G. 2013. *Umami y Glutamato*. Sao Paolo: Pleiade.
- Rojas C, M. 2015. Tipos de investigación: Una simplificación de la complicada incoherente nomenclatura y clasificación. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, vol. 16, núm. 1, pp. 1-14 Veterinaria Organización, España. Redalyc. En: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63638739004.pdf>
- Rørtveit, R; Sævik, BK; Eggertsdóttir, AV; Skancke, E; Lingaas, F; Thoresen, SI; Jansen, JH. 2015. Age-related changes in hematologic and serum biochemical variables in dogs aged 16-60 days. *Veterinary Clinical Pathology*, 44(1), 47–57. <https://doi.org/10.1111/vcp.12220>
- Santos, CdeS; Nascimento, FEL. 2019. Isolated branched-chain amino acid intake and muscle protein synthesis in humans: a biochemical review. *Einstein (Sao Paulo, Brazil)*, 17(3), eRB4898. https://doi.org/10.31744/einstein_journal/2019RB4898
- Satyaraj, E; Reynolds, A; Pelker, R; Labuda, J; Zhang, P; Sun, P. 2013. Supplementation of diets with bovine colostrum influences immune function in dogs. *British Journal of Nutrition*, 110(12), 2216–2221. <https://doi.org/10.1017/S000711451300175X>
- Schleicher, M; Cash, SB; Freeman, LM. 2019. Determinants of pet food purchasing decisions. *Canadian Veterinary Journal*, 60(6), 644–650.
- Schreiber, BM; Kantimm, D; Kirchhoff, D; Heimann, G; Bhargava, AS. 1992. *Concentrations in Serum of IgG , IgM and IgA and Their Age-Dependence in Beagle Dogs as Determined by a Newly Developed Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA)*. 30, 775–778.
- Seigneur, A; Hou, S; Shaw, RA; McClure, JT; Gelens, H; Riley, CB. 2015. Use of Fourier-

- transform infrared spectroscopy to quantify immunoglobulin G concentration and an analysis of the effect of signalment on levels in canine serum. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 163(1–2), 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.10.011>
- Sheerer, KN; Couto, CG; Marin, LM; Zaldívar-Lopez, S; Iazbik, MC; Dillberger, JE; Frye, M; Denicola, DB. 2013. Haematological and biochemical values in North American Scottish deerhounds. *Journal of Small Animal Practice*, 54(7), 354–360. <https://doi.org/10.1111/jsap.12086>
- Shimomura, Y; Kitaura, Y. 2018. Physiological and pathological roles of branched-chain amino acids in the regulation of protein and energy metabolism and neurological functions. *Pharmacological Research*, 133(May), 215–217. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.05.014>
- Song, B; Zheng, C; Zha, C; Hu, S; Yang, X; Wang, L; Xiao, H. 2019. *Dietary leucine supplementation improves intestinal health of mice through intestinal SIgA secretion. Corthesy 2010*. <https://doi.org/10.1111/jam.14464>
- Stombeck, D. 1995. Enfermedades digestivas de los animales pequeños. Intermédica: Buenos Aires.
- Suchodolski, J. (2011). Microbes and gastrointestinal health of dogs and cats. *Journal Animal Science*, 1520-1530.
- Swanson, KS; Carter, RA; Yount, TP; Aretz, J; Buff, PR. 2013. Nutritional Sustainability of Pet Foods. 141–150. <https://doi.org/10.3945/an.112.003335.ability>
- Syvetsen, GR; Harris, JA. 1973. Erythropoietin production in dogs exposed to high altitude and carbon monoxide. *American Journal of Physiology*, 225(2), 293–299. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1973.225.2.293>
- Szatmári, V; van Leeuwen, MW; Teske, E. 2015. Innocent Cardiac Murmur in Puppies: Prevalence, Correlation with Hematocrit, and Auscultation Characteristics. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29(6), 1524–1528. <https://doi.org/10.1111/jvim.13632>
- Taweethavonsawat, P; Chungpivat, S; Schaper, R. 2010. Efficacy of a combination product containing pyrantel, febantel and praziquantel (Drontal ® Plus Flavour, Bayer Animal Health) against experimental infection with the hookworm *Ancylostoma ceylanicum* in dogs. *Parasitol Res*, 533–537. <https://doi.org/10.1007/s00436-009-1665-9>
- Thompson, A. 2008. *Ingredients : Where Pet Food Starts*. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2008.04.004>

- Tjernsbekk, MT; Tauson, AH; Matthiesen, CF; Ahlstrøm. 2016. Protein and amino acid bioavailability of extruded dog food with protein meals of different quality using growing mink (*Neovison vison*) as a model. *Journal of Animal Science*, 94(9), 3796–3804. <https://doi.org/10.2527/jas.2016-0526>
- Tvarijonaviciute, A; Mart, S; Caldin, M; Tecles, F; Ceron, JJ. 2013. *Evaluation of automated assays for immunoglobulin G , M , and A measurements in dog and cat serum*. 3, 270–280. <https://doi.org/10.1111/vcp.12069>
- Van Rooijen, C. 2014. Reactive lysine content in commercially available pet foods. *Journal Of Nutritional Science*, 1-6.
- Vendramini, THA; Pedrinelli, V; Macedo, HT; Zafalon, RVA; Risolia, LW; Rentas, MF; Macegoza, MV; Gameiro, AH; Brunetto, MA. 2020. Homemade versus extruded and wet commercial diets for dogs: Cost comparison. *PLoS ONE*, 15(7 July), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236672>
- Venturini, KS; Sarcinelli, MF; Baller, MA; Putarov, TC; Malheiros, EB; Carciofi, AC. 2018. Processing traits and digestibility of extruded dog foods with soy protein concentrate. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(4), 1077–1087. <https://doi.org/10.1111/jpn.12894>
- Vilson, Å; Ramadan, Z; Li, Q; Hedhammar, Å; Reynolds, A; Dicksved, J; Spears, J; Labuda, J; Pelker, R; Bjo, B; Hansson-Hamlin, H. 2018. *Disentangling factors that shape the gut microbiota in German Shepherd dogs*. 1–16.
- Vinassa, M; Vergnano, D; Valle, E; Giribaldi, M; Nery, J; Prola, L; Bergero, D; Schiavone, A. 2020. Profiling Italian cat and dog owners' perceptions of pet food quality traits. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02357-9>
- Von Dehn, B. 2014. Pediatric clinical pathology. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 44(2), 205–219. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2013.10.003>
- Waner, T; Gal, K; Megiddo, MP. 1998. *Assessment of Immunization Response to Canine Distemper Virus Vaccination in Puppies Using a Clinic- based Enzyme-linked Immunosorbant Assay*. 171–175.
- Wayne, RK; Vonholdt, BM. 2012. Evolutionary genomics of dog domestication. *Mammalian Genome*, 23(1–2), 3–18. <https://doi.org/10.1007/s00335-011-9386-7>
- Wolford, ST; Schroer, RA; Gohs, FX; Gallo, PP; Brodeck, M; Falk, HB; Ruhren, R. 1986.

- Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 18(2), 161–188.
<https://doi.org/10.1080/15287398609530859>
- WSABA (World Small Animal Veterinary Association). 2011. Nutritional assessment guidelines. *Clin. Vet. Anim.*, 91-102.
- Wu, G. 2010. Functional Amino Acids in Growth , Reproduction, and Health. *Advances in Nutrition*, Nov;1(1):3(4), 31–37. <https://doi.org/10.3945/an.110.1008.1>
- Yoshizawa, F. 2004. *Regulation of protein synthesis by branched-chain amino acids in vivo*. 313, 417–422. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.07.013>
- Zhang, ZY; Monleon, D; Verhamme, P; Staessen, JA. 2018. Branched-chain amino acids as critical switches in health and disease. *Hypertension*, 72(5), 1012–1022.
<https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.10919>
- Zhou, H; Yu, B; Gao, J; Htoo, JK; Chen, D. 2018. Regulation of intestinal health by branched-chain amino acids. *Animal Science Journal*, 89(1), 3–11. <https://doi.org/10.1111/asj.12937>
- Zhou, QQ; Verne, ML; Fields, JZ; Lefante, JJ; Basra, S; Salameh, H; Verne, GN. 2019. Randomised placebo-controlled trial of dietary glutamine supplements for postinfectious irritable bowel syndrome. *Gut*, 68(6), 996–1002. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-315136>

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Nivel de nutrientes recomendado para perros - Unidades para 1000 kcal de energía metabolizable (EM).

Nutrientes	UNIDADES	Mínimo Recomendado				Máximo	
		Adulthood/Adulto en RER/día		Etapas inicial de crecimiento (0-24 semanas) y Reemplazables	Etapas posterior de crecimiento (2-18 semanas)	(*) = límite legal (L) establecido en el ME. Ver la tabla 01-02) = nutricional	
		95 kcal/kg ^{0.75}	130 kcal/kg ^{0.75}			(L)	(N)
Proteína*	g	82.00	88.00	82.00	88.00	-	-
Arginina*	g	1.83	1.80	2.04	1.84	-	-
Metionina	g	0.87	0.93	0.98	0.89	-	-
Isuleucina	g	1.88	1.91	1.83	1.29	-	-
Leucina*	g	2.87	2.89	3.21	3.00	-	-
Lisina*	g	1.23	1.29	1.20	1.79	Crecimiento	2.00 (N)
Metionina*	g	1.58	1.00	0.88	0.89	-	-
Metionina + cisteína*	g	2.23	1.81	1.79	1.88	-	-
Isovalerina	g	1.98	1.91	1.81	1.29	-	-
Isovalerina + leucina*	g	2.98	2.21	1.29	2.90	-	-
Treonina	g	1.91	1.90	2.01	1.80	-	-
Triptófano	g	0.89	0.81	0.98	0.91	-	-
Valina	g	1.71	1.68	1.70	1.80	-	-
Sesqu*	g	28.78	28.78	21.28	21.28	-	-
Ácido linoleico (n-6) **	g	0.82	0.27	0.29	0.29	Crecimiento (usual)	38.25 (N)
Ácido araquidónico (n-6)	mg	-	-	79.00	79.00	-	-
Ácido eico-saturo (n-3) **	g	-	-	0.20	0.20	-	-
EPA+DHA(n-3) *	g	-	-	0.11	0.11	-	-
Minerales							
Calcio*	g	1.89	1.29	2.90	2.00 ¹ 1.50 ²	Adulto	8.25 (N)
						Crecimiento (usual)	8.00 (N)
						Crecimiento (posterior)	8.50 (N)
Fósforo	g	1.58	1.00	2.29	1.79	Adulto	4.00 (N)
Relación Ca / P		1.6/1				Adulto	2/1 (N)
						Crecimiento (usual y mayor)	3.8/1 (N)
						Crecimiento (posterior)	1.8/1 ¹ (N) o 1.8/1 ² (N)
Potasio	g	1.89	1.29	1.90	1.10	-	-
Sodio*	g	0.28	0.29	0.91	0.91	-	-
Cloruro	g	0.88	0.88	0.81	0.89	-	-
Magnesio	g	0.20	0.18	0.10	0.10	-	-
Oligoelementos*							
Cobalto*	mg	0.08	1.80	1.79	1.79	-	(L)
Yodo*	mg	0.80	0.29	0.98	0.98	-	(L)
Níquel*	mg	20.80	8.00	21.00	21.00	-	(L)
Manganeso	mg	1.87	1.84	1.80	1.80	-	(L)
Selenio*	µg	87.00	79.00	900.00	900.00	-	(L)
Zinc*	mg	20.80	28.00	21.00	29.00	-	(L)
Vitaminas							
Vitamina A*	UI	1791.00	1518.00	1290.00	1290.00	300.000.00 (N)	-
Vitamina D*	UI	598.00	518.00	588.00	129.00	(L)	800.00 (N)
Vitamina E*	UI	30.80	8.00	21.90	12.90	-	-
Tiamina	mg	0.82	0.91	0.91	0.89	-	-
Riboflavina*	mg	1.74	1.90	1.91	1.09	-	-
Ácido Panototémico	mg	8.21	1.91	1.90	8.00	-	-
Vitamina B6 (piridoxina)	mg	0.82	0.98	0.90	0.90	-	-
Vitamina B12	µg	9.88	8.98	7.00	7.00	-	-
Niacina	mg	8.78	8.09	1.80	8.80	-	-
Ácido Fólico	µg	28.70	84.90	94.00	94.00	-	-
Biotina*	µg	-	-	-	-	-	-
Colina	mg	878.00	808.00	878.00	829.00	-	-
Vitamina B7	µg	-	-	-	-	-	-

Fuente: Guías Nutricionales, Federación Europea de Fabricantes de Alimentos para Animales de Compañía.

Anexo 2. Registro de datos de los cachorros que participaron en el estudio

Nombre	Sexo	Código	Camada	Ttto	Peso kg
EVA	H	101	C1	Control	1.058
SNOW	M	103	C1	T1	0.826
DANY	H	104	C1	T1	0.729
MANCHAS	M	105	C1	T2	1.000
NEGRA	H	106	C1	T2	1.165
MIEL	H	107	C1	T3	1.275
CHOCO	H	108	C1	T3	1.002
MARVEL	H	201	C2	Control	1.004
MAPACHE	M	202	C2	Control	0.740
DULCE	H	203	C2	T1	1.770
ALICE	H	204	C2	T1	1.240
LEYA	H	205	C2	T2	1.338
ROCKY	M	206	C2	T2	0.954
CHIMUELA	H	207	C2	T3	1.064
FURIA	H	208	C2	T3	1.244
VENUS	H	301	C3	Control	0.880
POSEIDON	M	302	C3	Control	0.850
KRONOS	M	303	C3	T1	0.730
AFRODITA	H	304	C3	T1	0.740
HERA	H	305	C3	T2	0.830
ZEUS	M	306	C3	T2	0.700
ARES	M	307	C3	T3	0.780
ARTEMIS	H	307	C3	T3	0.700
STEVE	M	401	C4	Control	0.880
HOPPER	H	402	C4	Control	0.850
ONCE	H	403	C4	T1	0.730
MYKE	M	404	C4	T1	0.740
MANE	H	405	C4	T2	0.836
DUSTIN	M	406	C4	T2	0.700
JOYCE	H	407	C4	T3	0.780
BILLY	M	408	C4	T3	0.700

H: Hembra, M: Macho.

Anexo 3. Base de datos Leucograma a los 30 días de edad.

Nombre	Ttto	WBC	Neu	Lin	Mon	Eos	Bas
EVA	Control	13,69	8,22	4,69	0,57	0,16	0,05
SNOW	T1	26,92	13,90	8,62	2,07	0,34	1,99
DANY	T1	14,09	8,50	4,68	0,77	0,05	0,09
MANCHAS	T2	14,85	9,18	4,92	0,66	0,07	0,02
NEGRA	T2	4,37	2,17	1,80	0,36	0,04	0,00
MIEL	T3	9,22	5,51	2,93	0,69	0,06	0,03
CHOCO	T3	9,71	6,10	2,79	0,68	0,14	0,00
MARVEL	Control	20,29	12,85	6,13	1,15	0,12	0,04
MAPACHE	Control	16,52	11,26	3,36	1,61	0,26	0,03
DULCE	T1	11,35	7,55	3,29	0,43	0,07	0,01
ALICE	T1	13,71	8,59	4,24	0,60	0,24	0,04
LEYA	T2	12,61	6,94	4,89	0,74	0,03	0,01
ROCKY	T2	19,20	14,98	2,79	1,31	0,11	0,01
CHIMUELA	T3	13,83	7,36	5,40	0,82	0,20	0,05
FURIA	T3	15,89	8,24	6,76	0,76	0,07	0,03
VENUS	Control	11,70	5,67	5,14	0,79	0,07	0,03
POSEIDON	Control	30,01	13,42	11,73	2,25	0,84	1,77
KRONOS	T1	9,12	5,28	2,66	0,91	0,27	0,00
AFRODITA	T1	8,18	4,72	2,74	0,61	0,10	0,01
HERA	T2	10,71	5,31	4,51	0,76	0,08	0,05
ZEUS	T2	12,57	6,64	4,72	0,94	0,22	0,05
ARES	T3	9,57	4,97	3,55	0,96	0,08	0,01
ARTEMIS	T3	5,94	3,22	2,32	0,27	0,10	0,03
STEVE	Control	12,61	8,16	3,20	1,04	0,13	0,08
HOPPER	Control	8,83	5,53	2,29	0,76	0,09	0,16
ONCE	T1	21,17	15,27	4,09	1,59	0,12	0,10
MYKE	T1	15,46	10,75	3,17	1,24	0,10	0,20
MANE	T2	16,34	11,95	2,64	1,47	0,11	0,17
DUSTIN	T2	11,31	6,88	2,75	1,55	0,07	0,06
JOYCE	T3	7,48	4,38	2,47	0,49	0,07	0,07
BILLY	T3	13,75	9,29	2,90	1,25	0,12	0,19

WBC: Contaje Leucocitos, Neu: Neutrófilos, Lin: Linfocitos, Mon: Monocitos, Eos: Eosinófilos, Bas: Basófilos

Anexo 4. Base de datos Leucograma a los 120 días de edad

Nombre	Ttto	WBC	Neu	Lin	Mon	Eos	Bas
EVA	Control	9.48	5.17	3.69	0.42	0.17	0.03
SNOW	T1	8.52	5.60	2.14	0.47	0.28	0.03
DANY	T1	8.58	4.56	3.54	0.29	0.18	0.01
MANCHAS	T2	8.11	4.96	2.45	0.44	0.24	0.02
NEGRA	T2	9.05	5.09	3.28	0.34	0.32	0.02
MIEL	T3	5.37	3.62	1.43	0.22	0.10	0.00
CHOCO	T3	5.18	3.30	1.49	0.28	0.10	0.01
MARVEL	Control	5.45	3.55	1.60	0.19	0.09	0.02
MAPACHE	Control	9.72	5.74	3.07	0.68	0.19	0.04
DULCE	T1	7.70	4.67	2.18	0.57	0.20	0.08
ALICE	T1	8.62	6.23	1.85	0.32	0.17	0.05
LEYA	T2	8.57	6.31	1.76	0.36	0.14	0.00
ROCKY	T2	9.52	6.90	1.77	0.76	0.06	0.03
CHIMUELA	T3	13.25	8.02	3.65	1.06	0.45	0.07
FURIA	T3	10.01	6.08	2.66	0.98	0.26	0.03
VENUS	Control	12.69	7.40	4.80	0.28	0.16	0.05
POSEIDON	Control	16.72	13.28	2.65	0.63	0.13	0.03
KRONOS	T1	10.18	7.01	2.55	0.43	0.15	0.04
AFRODITA	T1	10.25	5.93	3.87	0.37	0.06	0.02
HERA	T2	10.46	6.65	3.11	0.37	0.30	0.03
ZEUS	T2	12.16	8.76	2.84	0.37	0.17	0.02
ARES	T3	8.20	5.72	1.99	0.33	0.14	0.02
ARTEMIS	T3	8.67	4.76	3.23	0.25	0.39	0.04
STEVE	Control	6.04	3.90	1.79	0.22	0.10	0.03
HOPPER	Control	7.31	4.97	1.74	0.29	0.23	0.08
ONCE	T1	5.33	3.11	1.91	0.16	0.11	0.04
MYKE	T1	6.78	3.82	2.42	0.29	0.20	0.05
MANE	T2	7.19	5.12	1.43	0.42	0.15	0.07
DUSTIN	T2	8.08	5.44	2.11	0.34	0.12	0.07
JOYCE	T3	6.52	4.43	1.49	0.35	0.18	0.07
BILLY	T3	8.89	5.79	2.39	0.49	0.16	0.06

WBC: Contaje Leucocitos, Neu: Neutrófilos, Lin: Linfocitos, Mon: Monocitos, Eos: Eosinófilos,
Bas: Basófilos

Anexo 5. Base de datos del Eritrograma y Plaquetograma a los 30 días de edad.

Nombre	Ttto	RBC	HGB	HCT	MCV	MCHC	PLT	PDW	PCT
EVA	Control	4,29	11,10	31,00	72,20	35,90	206,00	19,10	0,314
SNOW	T1	4,00	11,00	27,70	69,20	39,70	203,00	18,60	0,280
DANY	T1	4,86	13,10	36,10	74,30	36,40	190,00	19,50	0,289
MANCHAS	T2	4,03	10,90	29,20	72,30	37,30	152,00	19,80	0,232
NEGRA	T2	1,14	3,70	7,70	67,90	48,00	3,00	NA	NA
MIEL	T3	4,13	11,20	30,20	73,00	37,20	213,00	19,60	0,324
CHOCO	T3	3,97	10,70	28,80	72,60	37,20	127,00	18,90	0,191
MARVEL	Control	3,36	8,80	22,30	66,50	39,20	643,00	20,10	0,919
MAPACHE	Control	5,29	11,80	32,50	61,50	36,40	329,00	16,50	0,436
DULCE	T1	3,72	9,50	24,10	64,70	39,30	615,00	18,60	0,881
ALICE	T1	4,11	10,20	27,10	65,90	37,70	667,00	16,00	0,861
LEYA	T2	4,20	10,60	27,50	65,50	38,60	399,00	21,10	0,586
ROCKY	T2	5,05	11,40	31,70	62,70	36,10	79,00	12,40	0,084
CHIMUELA	T3	3,75	8,60	24,20	64,40	35,70	580,00	24,70	0,817
FURIA	T3	3,37	9,40	23,60	70,10	39,90	646,00	16,40	0,861
VENUS	Control	4,84	11,70	32,00	66,10	36,50	97,00	11,10	0,105
POSEIDON	Control	3,43	10,00	25,40	74,10	39,40	253,00	21,20	0,378
KRONOS	T1	3,42	8,30	22,40	65,50	36,80	76,00	10,20	0,081
AFRODITA	T1	3,63	9,30	25,20	69,40	36,90	65,00	10,20	0,073
HERA	T2	4,14	10,90	29,90	72,20	36,50	62,00	9,30	0,069
ZEUS	T2	3,75	9,90	26,30	70,20	37,70	330,00	19,50	0,501
ARES	T3	4,11	9,90	28,00	68,00	35,30	144,00	10,60	0,156
ARTEMIS	T3	2,98	8,00	20,30	68,20	39,60	20,00	10,20	0,018
STEVE	Control	4,76	24,50	34,30	72,00	71,60	553,00	18,90	0,810
HOPPER	Control	3,93	20,10	28,50	72,60	70,60	791,00	13,40	0,954
ONCE	T1	4,06	24,30	29,50	72,70	82,40	851,00	17,20	1,224
MYKE	T1	4,42	22,10	32,80	74,30	67,20	707,00	14,90	0,917
MANE	T2	5,42	23,10	38,20	70,40	60,50	781,00	12,70	0,893
DUSTIN	T2	4,46	22,40	32,40	72,70	69,00	692,00	15,40	0,950
JOYCE	T3	4,79	21,70	33,30	69,60	65,20	494,00	20,50	0,719
BILLY	T3	4,71	21,90	34,10	72,40	64,40	640,00	14,00	0,789

RBC: Contaje de células rojas, HGB: Hemoglobina, HCT: Hematocrito, MCV: Volumen corpuscular medio, MCHC: Concentración corpuscular media de hemoglobina, PLT: Plaquetas, PDW: Ancho de distribución de plaquetas, PCT: Plaquetocrito

Anexo 6. Base de datos del Eritrograma y Plaquetograma a los 120 días de edad

Nombre	Ttto	RBC	HGB	HCT	MCV	MCHC	PLT	PDW	PCT
EVA	Control	5.28	12.00	33.40	63.30	35.80	342.00	14.40	0.410
SNOW	T1	4.59	10.60	29.00	63.30	36.50	234.00	19.10	0.319
DANY	T1	5.22	11.60	32.40	62.10	35.70	264.00	17.20	0.340
MANCHAS	T2	3.84	8.70	23.90	62.30	36.40	268.00	13.00	0.347
NEGRA	T2	4.57	9.90	28.20	61.60	35.30	221.00	18.10	0.295
MIEL	T3	4.10	9.00	25.20	61.40	35.80	268.00	15.80	0.346
CHOCO	T3	4.01	8.70	24.30	60.50	35.70	219.00	16.30	0.290
MARVEL	Control	3.96	8.40	23.80	60.20	35.10	329.00	13.00	0.391
MAPACHE	Control	4.01	8.60	23.40	58.50	36.70	307.00	17.60	0.431
DULCE	T1	3.95	8.30	23.90	60.50	34.90	176.00	17.70	0.244
ALICE	T1	4.14	8.60	24.80	59.90	34.80	330.00	13.40	0.385
LEYA	T2	4.99	10.90	29.70	59.60	36.60	316.00	14.10	0.396
ROCKY	T2	4.29	9.10	25.60	59.80	35.50	406.00	15.30	0.517
CHIMUELA	T3	6.17	13.80	38.50	62.40	35.90	337.00	15.80	0.411
FURIA	T3	3.25	7.50	20.70	63.70	36.10	401.00	12.70	0.483
VENUS	Control	5.97	13.50	36.50	61.10	37.00	309.00	20.90	0.435
POSEIDON	Control	6.81	16.20	45.10	66.20	35.90	339.00	15.00	0.422
KRONOS	T1	4.33	9.50	27.40	63.30	34.50	356.00	13.60	0.44
AFRODITA	T1	4.36	10.50	29.20	67.00	36.10	319.00	17.60	0.449
HERA	T2	4.73	10.30	30.60	64.80	33.50	194.00	19.80	0.278
ZEUS	T2	4.16	10.00	27.60	66.30	36.10	404.00	12.70	0.483
ARES	T3	4.34	9.90	28.40	65.30	34.80	470.00	14.60	0.599
ARTEMIS	T3	4.71	10.50	29.70	63.10	35.20	192.00	19.30	0.281
STEVE	Control	4.70	10.10	29.50	62.90	34.30	328.00	12.50	0.372
HOPPER	Control	4.35	9.40	28.10	64.70	33.40	500.00	10.90	0.518
ONCE	T1	3.91	8.60	25.40	64.90	33.90	415.00	12.70	0.489
MYKE	T1	5.06	10.50	31.40	62.10	33.50	530.00	11.10	0.569
MANE	T2	4.66	10.20	29.50	63.20	34.70	422.00	11.30	0.476
DUSTIN	T2	4.95	10.40	29.90	60.40	34.80	402.00	12.70	0.468
JOYCE	T3	4.53	10.00	29.00	64.00	34.60	472.00	10.40	0.485
BILLY	T3	5.38	11.40	33.40	62.20	34.10	518.00	14.90	0.673

RBC: Contaje de células rojas, HGB: Hemoglobina, HCT: Hematocrito, MCV: Volumen corpuscular medio, MCHC: Concentración corpuscular media de hemoglobina, PLT: Plaquetas, PDW: Ancho de distribución de plaquetas, PCT: Plaquetocrito

Anexo 7. Base de datos de la Bioquímica sanguínea a los 30 días de edad.

Nombre	TP	ALB	GLO	TBIL	ALT	AST	GGT	BUN	CRE	GLU
EVA	37,7	20,30	17,40	5,13	14,00	29,00	1,00	5,01	46,00	5,59
SNOW	36	19,80	16,20	4,79	17,00	50,00	0,60	4,06	44,00	5,05
DANY	38,5	21,90	16,60	4,27	18,00	33,00	0,20	5,02	38,00	5,12
MANCHAS	37,7	20,80	16,90	3,93	14,00	27,00	1,90	3,70	54,00	5,17
NEGRA	39	21,70	17,30	2,74	11,00	23,00	1,20	3,93	53,00	5,64
MIEL	40,1	22,60	17,50	5,13	13,00	28,00	2,00	4,54	36,00	6,43
CHOCO	37,3	20,90	16,40	3,25	16,00	28,00	1,70	3,47	43,00	5,68
MARVEL	43,9	21,50	22,40	5,13	15,00	40,00	1,80	6,94	75,00	4,35
MAPACHE	41,1	22,40	18,70	2,13	17,00	64,00	1,60	5,08	66,00	4,64
DULCE	37,6	22,20	15,40	3,93	11,00	23,00	0,80	6,67	75,00	5,99
ALICE	37,9	21,90	16,00	4,79	12,00	22,00	1,90	6,75	73,00	5,79
LEYA	37	22,00	15,00	2,67	28,00	30,00	0,10	4,49	84,00	5,32
ROCKY	37,4	20,70	16,70	3,93	19,00	46,00	1,80	5,71	67,00	3,73
CHIMUELA	38,4	21,40	17,00	4,10	11,00	45,00	0,30	6,19	74,00	5,76
FURIA	39,4	21,90	17,50	3,08	13,00	29,00	1,70	6,39	43,00	5,88
VENUS	40,7	24,20	16,50	3,76	18,00	26,00	0,90	4,83	53,00	7,78
POSEIDON	49,1	26,90	22,20	4,62	23,00	19,00	1,60	2,06	36,00	8,52
KRONOS	44,3	24,40	19,90	4,44	22,00	46,00	1,70	3,37	29,00	6,67
AFRODITA	41,8	22,50	19,30	4,44	18,00	25,00	0,20	3,48	40,00	7,13
HERA	47,9	25,40	22,50	4,79	16,00	23,00	1,70	4,18	27,00	7,04
ZEUS	41,5	23,00	18,50	3,08	18,00	28,00	0,10	2,70	31,00	5,71
ARES	39,9	22,00	17,90	3,93	19,00	35,00	0,50	4,01	72,00	6,92
ARTEMIS	39,4	20,30	19,10	3,08	20,00	22,00	1,70	3,56	82,00	6,46
STEVE	40	21,00	19,00	3,93	12,00	17,00	1,00	3,67	27,00	5,00
HOPPER	39,3	21,90	17,40	3,42	16,00	18,00	1,40	3,58	44,00	5,39
ONCE	37,6	21,70	15,90	3,06	18,00	36,00	0,90	5,05	28,00	3,62
MYKE	38,3	19,50	18,80	3,07	21,00	27,00	1,30	3,91	58,00	NA
MANE	38,5	22,60	15,90	4,30	32,00	43,00	1,70	2,37	60,00	3,77
DUSTIN	39	23,30	15,70	6,79	9,00	17,00	0,60	4,28	34,00	5,27
JOYCE	36,9	20,90	16,00	4,62	13,00	24,00	1,10	2,93	79,00	2,48
BILLY	38,3	20,30	18,00	3,93	19,00	20,00	0,30	4,35	37,00	3,15

TP: Proteínas totales, ALB: Albúmina, GLO: Globulinas, TBIL: Bilirrubinas totales, ALT:

Alanino amino transferasa, AST: Aspartato amino transferasa, GGT: Gama glutamil transferasa,

BUN: Nitrógeno ureico sanguíneo, CRE: Creatinina, GLU: Glucosa

Anexo 8. Base de datos de la Bioquímica sanguínea a los 120 días de edad.

Nombre	Ttto	TP	ALB	GLO	TBIL	ALT	AST	GGT	BUN	CRE	GLU
EVA	Control	54.6	29.70	24.90	2.91	37.00	42.00	1.90	2.67	60.00	3.34
SNOW	T1	56.6	31.70	24.90	2.22	37.00	34.00	1.40	3.59	53.00	3.09
DANY	T1	59.2	32.60	26.60	4.44	43.00	46.00	1.90	3.59	58.00	3.24
MANCHAS	T2	55.6	30.40	25.20	3.25	41.00	52.00	0.80	3.44	49.00	3.69
NEGRA	T2	54.9	30.60	24.30	2.22	48.00	36.00	0.10	3.66	57.00	4.15
MIEL	T3	51.6	29.40	22.20	4.27	44.00	88.00	1.00	3.27	54.00	3.53
CHOCO	T3	52.8	29.50	23.30	2.74	39.00	47.00	0.30	3.57	59.00	3.59
MARVEL	Control	53.6	28.30	25.30	4.44	36.00	31.00	1.70	4.13	53.00	3.09
MAPACHE	Control	53.5	29.40	24.10	2.51	36.00	78.00	0.90	3.39	37.00	2.98
DULCE	T1	54.2	28.80	25.40	3.25	36.00	45.00	0.10	3.18	52.00	2.79
ALICE	T1	52.6	27.90	24.70	3.76	43.00	46.00	1.60	3.74	36.00	2.93
LEYA	T2	55.5	30.60	24.90	3.76	31.00	35.00	0.60	3.70	45.00	3.54
ROCKY	T2	204.3	76.70	127.60	4.79	141.00	170.00	27.90	20.00	213.00	8.26
CHIMUELA	T3	54.2	27.90	26.30	2.56	23.00	54.00	1.50	2.62	47.00	1.97
FURIA	T3	57.5	31.20	26.30	2.91	36.00	51.00	0.70	4.32	55.00	2.93
VENUS	Control	77.1	39.90	37.20	3.08	48.00	74.00	0.10	5.98	93.00	3.79
POSEIDON	Control	57.9	31.40	26.50	2.05	28.00	40.00	0.30	2.18	42.00	2.97
KRONOS	T1	49.9	27.90	22.00	3.76	46.00	46.00	1.90	4.19	37.00	2.52
AFRODITA	T1	46.4	26.50	19.90	2.56	24.00	34.00	0.70	3.17	42.00	2.76
HERA	T2	58.7	32.30	26.40	3.42	28.00	55.00	1.70	5.69	45.00	2.53
ZEUS	T2	31.3	18.00	13.30	2.22	14.00	28.00	0.10	3.00	39.00	2.00
ARES	T3	69.9	36.20	33.70	4.27	44.00	78.00	1.00	4.67	86.00	4.20
ARTEMIS	T3	45.8	23.50	22.30	5.13	21.00	58.00	1.40	3.96	40.00	4.04
STEVE	Control	56.3	30.20	26.10	2.05	50.00	75.00	1.70	3.69	37.00	4.08
HOPPER	Control	78.5	41.80	36.70	4.27	71.00	90.00	1.40	7.40	79.00	3.64
ONCE	T1	77	41.90	35.10	3.76	71.00	85.00	0.30	6.64	58.00	5.22
MYKE	T1	107.7	49.70	58.00	2.40	76.00	108.00	11.80	8.79	102.00	7.16
MANE	T2	62.9	34.20	28.70	4.10	46.00	66.00	1.80	5.73	59.00	2.85
DUSTIN	T2	72.3	37.40	34.90	4.44	50.00	71.00	1.20	4.64	55.00	3.88
JOYCE	T3	50.9	26.60	24.30	3.25	36.00	57.00	0.30	3.71	40.00	2.86
BILLY	T3	50.9	27.40	23.50	3.76	39.00	50.00	1.80	4.09	49.00	3.58

TP: Proteínas totales, ALB: Albúmina, GLO: Globulinas, TBIL: Bilirrubinas totales, ALT:

Alanino amino transferasa, AST: Aspartato amino transferasa, GGT: Gama glutamil transferasa,

BUN: Nitrógeno ureico sanguíneo, CRE: Creatinina, GLU: Glucosa.

Anexo 9. Base de datos concentración de inmunoglobulinas totales y específicas para el virus de Distemper Canino a los 30 días de edad.

Nombre	Ttto	IgGT mg/dl	IgMT mg/dl	IgAT mg/dl	IgET UI/ml	IgGDC	IgMDC
EVA	Control	0,468	0,615	0,045	1,080	0,233	0,177
SNOW	T1	0,376	0,589	0,011	1,030	0,154	0,453
DANY	T1	0,202	0,367	0,025	1,000	0,202	0,186
MANCHAS	T2	0,463	0,807	0,030	1,010	0,207	0,550
NEGRA	T2	0,446	0,665	0,027	1,050	0,242	0,179
MIEL	T3	0,388	0,699	0,028	1,030	0,212	0,270
CHOCO	T3	0,223	0,596	0,022	1,090	0,174	0,198
MARVEL	Control	0,784	0,686	0,023	1,070	0,349	0,576
MAPACHE	Control	0,358	0,981	0,028	1,100	0,273	0,792
DULCE	T1	0,530	0,938	0,030	1,040	0,284	0,400
ALICE	T1	0,646	0,586	0,028	1,060	0,350	0,185
LEYA	T2	0,625	0,616	0,047	1,070	0,180	0,399
ROCKY	T2	0,415	0,864	0,028	1,000	0,364	0,207
CHIMUELA	T3	0,679	0,658	0,038	1,000	0,257	0,174
FURIA	T3	0,474	0,574	0,038	1,020	0,264	0,134
VENUS	Control	2,056	0,586	0,073	1,000	1,257	0,112
POSEIDON	Control	0,242	0,402	0,034	1,020	0,100	0,102
KRONOS	T1	0,216	0,691	0,063	1,000	1,304	0,119
AFRODITA	T1	0,374	0,427	0,027	1,060	0,811	0,116
HERA	T2	1,333	0,505	0,036	1,000	0,961	0,117
ZEUS	T2	0,396	0,511	0,023	1,100	1,450	0,129
ARES	T3	1,451	0,593	0,079	1,000	0,783	0,103
ARTEMIS	T3	0,734	0,543	0,058	1,000	1,103	0,111
STEVE	Control	1,414	0,719	0,026	1,080	2,067	0,394
HOPPER	Control	0,614	0,731	0,029	1,020	0,155	0,283
ONCE	T1	0,257	0,691	0,014	1,060	0,239	0,424
MYKE	T1	0,735	0,901	0,025	1,000	0,189	0,196
MANE	T2	0,300	0,851	0,018	1,050	0,48	0,209
DUSTIN	T2	0,536	0,664	0,018	1,000	0,326	0,263
JOYCE	T3	0,650	0,771	0,030	1,090	0,305	0,103
BILLY	T3	0,535	0,843	0,012	1,010	0,459	0,111

IgGT: Inmunoglobulina G Total, IgMT: Inmunoglobulina M Total, IgAT: Inmunoglobulina A Total, IgET: Inmunoglobulina E Total, IgGDC: Inmunoglobulina G específica para el virus de Distemper Canino (Absorbancia), IgMDC: Inmunoglobulina M específica para el virus de Distemper Canino (Absorbancia).

Anexo 10. Base de datos concentración de inmunoglobulinas totales y específicas para el virus de Distemper Canino a los 100 días de edad.

Nombre	Ttto	IgGT mg/dl	IgMT mg/dl	IgAT mg/dl	IgET UI/ml	IgGDC	IgMDC
EVA	Control	1.325	1.212	0.065	0.890	0.623	0.421
SNOW	T1	1.421	0.956	0.072	0.990	0.459	0.602
DANY	T1	1.274	0.896	0.058	0.870	0.619	0.308
MANCHAS	T2	1.663	1.452	0.068	0.910	0.624	0.3
NEGRA	T2	2.070	1.120	0.066	0.940	0.926	0.28
MIEL	T3	1.750	1.830	0.061	0.990	0.736	0.521
CHOCO	T3	2.090	1.720	0.050	0.960	0.501	0.426
MARVEL	Control	1.800	1.210	0.052	0.870	1.059	0.702
MAPACHE	Control	2.010	1.960	0.059	0.730	0.801	0.921
DULCE	T1	1.760	1.780	0.061	0.880	0.893	0.406
ALICE	T1	1.493	0.860	0.071	0.950	0.641	0.502
LEYA	T2	2.437	1.506	0.041	0.980	1.071	0.48
ROCKY	T2	1.505	0.995	0.055	0.940	0.777	0.603
CHIMUELA	T3	1.656	0.941	0.065	0.880	0.61	0.39
FURIA	T3	2.347	1.163	0.071	0.920	0.79	0.489
VENUS	Control	1.395	0.951	0.048	0.980	0.49	0.443
POSEIDON	Control	1.592	0.873	0.029	0.950	0.995	0.757
KRONOS	T1	1.251	0.850	0.037	0.870	0.686	0.426
AFRODITA	T1	1.972	0.875	0.039	0.900	0.894	0.322
HERA	T2	1.620	0.930	0.042	0.980	1.076	0.508
ZEUS	T2	1.470	0.620	0.050	0.950	0.943	0.308
ARES	T3	2.010	0.950	0.084	0.930	0.659	0.299
ARTEMIS	T3	2.090	1.120	0.063	0.910	0.643	0.422
STEVE	Control	1.809	0.998	0.023	0.990	1.693	0.403
HOPPER	Control	2.790	1.060	0.050	0.960	0.852	0.301
ONCE	T1	2.000	1.000	0.058	0.990	0.591	0.452
MYKE	T1	1.980	1.400	0.030	0.890	1.033	0.759
MANE	T2	1.770	1.250	0.053	0.970	0.788	0.383
DUSTIN	T2	2.400	1.330	0.038	0.930	0.784	0.39
JOYCE	T3	1.573	0.823	0.057	0.950	0.443	0.657
BILLY	T3	1.570	0.712	0.027	0.920	0.691	0.581

IgGT: Inmunoglobulina G Total, IgMT: Inmunoglobulina M Total, IgAT: Inmunoglobulina A Total, IgET: Inmunoglobulina E Total, IgGDC: Inmunoglobulina G específica para el virus de Distemper Canino (Absorbancia), IgMDC: Inmunoglobulina M específica para el virus de Distemper Canino (Absorbancia).

Anexo 11. Base de datos concentración de inmunoglobulinas totales y específicas para el virus de Distemper Canino a los 120 días de edad.

Nombre	Ttto	IgGT mg/dl	IgMT mg/dl	IgAT mg/dl	IgET UI/ml	IgGD	IgMD
EVA	Control	1.776	0.842	0.069	0.930	1.527	0.793
SNOW	T1	1.341	0.686	0.035	0.850	0.695	0.583
DANY	T1	1.310	0.765	0.038	0.840	1.224	0.278
MANCHAS	T2	1.900	0.720	0.047	0.900	1.263	0.542
NEGRA	T2	1.420	0.990	0.039	0.910	2.657	0.364
MIEL	T3	1.580	0.860	0.040	0.880	2.060	0.868
CHOCO	T3	1.360	0.760	0.032	0.920	1.891	0.427
MARVEL	Control	1.880	0.930	0.048	0.900	1.372	0.320
MAPACHE	Control	2.200	1.110	0.058	0.810	1.336	0.500
DULCE	T1	2.400	1.240	0.063	0.920	1.512	0.281
ALICE	T1	2.140	0.810	0.049	0.930	0.965	1.105
LEYA	T2	1.335	1.002	0.044	0.950	1.212	0.613
ROCKY	T2	2.278	0.959	0.036	0.900	0.461	0.696
CHIMUELA	T3	2.270	1.133	0.047	0.840	2.151	0.336
FURIA	T3	1.548	1.162	0.040	0.870	0.939	0.310
VENUS	Control	2.024	0.792	0.053	0.970	0.916	0.812
POSEIDON	Control	1.606	0.996	0.070	0.900	3.164	0.576
KRONOS	T1	2.135	0.884	0.047	0.880	3.500	0.604
AFRODITA	T1	1.455	0.652	0.029	0.970	1.322	0.901
HERA	T2	3.190	0.920	0.029	0.930	3.560	1.266
ZEUS	T2	3.410	1.120	0.021	0.870	1.573	1.259
ARES	T3	3.550	0.940	0.041	0.950	1.126	0.642
ARTEMIS	T3	2.340	0.670	0.039	0.890	1.286	0.789
STEVE	Control	2.357	0.876	0.026	0.960	0.876	0.500
HOPPER	Control	2.890	0.890	0.020	0.940	2.145	0.930
ONCE	T1	2.740	0.770	0.020	0.910	0.973	0.732
MYKE	T1	3.000	0.920	0.014	0.890	0.768	0.895
MANE	T2	2.520	1.030	0.064	0.870	0.764	1.265
DUSTIN	T2	2.015	1.025	0.042	0.940	0.420	0.372
JOYCE	T3	2.725	0.922	0.030	0.960	1.137	1.282
BILLY	T3	2.243	1.125	0.034	0.920	0.858	0.650

IgGT: Inmunoglobulina G Total, IgMT: Inmunoglobulina M Total, IgAT: Inmunoglobulina A Total, IgET: Inmunoglobulina E Total, IgGDC: Inmunoglobulina G específica para el virus de Distemper Canino (Absorbancia), IgMDC: Inmunoglobulina M específica para el virus de Distemper Canino (Absorbancia).

Anexo 12. Análisis de varianza y prueba de HSD para la variable IgG Total a los 120 días de edad.

Fuentes de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fc	Pr > F
Bloque	3	5.0223	1.67409	6.1477	0.002975
Tratamiento	3	0.2951	0.09837	0.3612	0.781517
Error	24	6.5355	0.27231		
Total	30	11.8529	2.04477		

Sig.	Promedio	N	Trat
A	2.10	7	Control
A	2.07	8	T1
A	2.26	8	T2
A	2.20	8	T3

Anexo 13. Análisis de varianza y prueba de HSD para la variable IgM Total a los 120 días de edad.

Fuentes de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fc	Pr > F
Bloque	3	0.24039	0.080131	4.901	0.008508
Tratamiento	3	0.07771	0.025902	0.219206	
Error	24	0.3924	0.01635		
Total	30	0.7105	0.122383		

Sig.	Promedio	N	Trat
A	0.91	7	Control
A	0.84	8	T1
A	0.97	8	T2
A	0.94	8	T3

Anexo 14. Análisis de varianza y prueba de HSD para la variable IgA Total a los 120 días de edad.

Fuentes de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fc	Pr > F
Bloque	3	0.0011893	0.00039644	2.2425	0.1092
Tratamiento	3	0.0007233	0.0002411	1.3638	0.2777
Error	24	0.0042428	0.00017678		
Total	30	0.0061554	0.00081432		

Sig.	Promedio	N	Trat
A	0.049	7	Control
A	0.036	8	T1
A	0.040	8	T2
A	0.037	8	T3

Anexo 15. Análisis de varianza y prueba de HSD para la variable IgE Total a los 120 días de edad.

Fuentes de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fc	Pr > F
Bloque	3	0.007922	0.00264073	1.5582	0.2254
Tratamiento	3	0.000915	0.00030483	0.1799	0.909
Error	24	0.040673	0.00169471		
Total	30	0.04951	0.00464027		

Sig.	Promedio	N	Trat
A	0.915	7	Control
A	0.898	8	T1
A	0.908	8	T2
A	0.903	8	T3

Anexo 16. Análisis de varianza y prueba de HSD para la variable IgGDC a los 120 días de edad.

Fuentes de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fc	Pr > F
Bloque	3	5.1300	1.70999	2.7704	0.06352 .
Tratamiento	3	0.2971	0.09904	0.1605	0.92188
Error	24	14.8139	0.61724		
Total	30	20.241	2.42627		

Sig.	Promedio	N	Trat
A	1.610	7	Control
A	1.360	8	T1
A	1.480	8	T2
A	1.430	8	T3

Anexo 17. Análisis de varianza y prueba de HSD para la variable IgMDC a los 120 días de edad.

Fuentes de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fc	Pr > F
Bloque	3	0.74002	0.246673	2.9667	0.05214 .
Tratamiento	3	0.14189	0.047296	0.5688	0.64092
Error	24	1.99553	0.083147		
Total	30	2.87744	0.377116		

Sig.	Promedio	N	Trat
A	0.630	7	Control
A	0.672	8	T1
A	0.797	8	T2
A	0.663	8	T3

Anexo 18. Glosario de términos.

Alimento casero	Comida preparada en casa en la cual se incluyen restos de comida de personas, para su elaboración no se sigue un proceso de formulación adecuada por lo que generalmente es una dieta desbalanceada
Alimento comercial	Cualquier ración mixta empleada para la alimentación de los animales, elaborados con sub productos de la industria, mantiene una calidad inferior que el alimento Premium con un costo inferior
Alimento mixto	Corresponde a una combinación de alimento casero con alimento comercial o premium
Alimento premium	Alimento de mejor calidad que un alimento comercial, elaborado en base a productos seleccionados ofrece una mejor calidad y digestibilidad de los nutrientes, mantiene un costo promedio superior a los alimentos comerciales
Cachorro	Canino en etapa juvenil desde los 28 días hasta el primer año de vida
Calostro	Líquido amarillento secretado por la glándula mamaria de las hembras mamíferas que se produce antes y después del parto, es rico en proteínas e inmunoglobulinas
Camada	Conjunto de crías que se tienen en un solo parto
Croqueta	Alimento balanceado, preparado tras un proceso de extrusión empleado para la alimentación de animales
Destete	Acción de destetar, periodo en que la madre alterna la lactancia con otro tipo de alimentación para destetar a la cría

Neonato	Canino entre el nacimiento y los 25 a 30 días de edad
Perinato	Canino en estadio fetal y las 24 primeras horas de vida