

1  
2 -ej.

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN



DETERMINACION DE VALORES NORMALES DEL ACIDO  
FOLICO EN SANGRE DE CAPRINOS DE LA FACULTAD  
DE ESTUDIOS SUPERIORES DE CUAUTITLAN

**FALLA DE ORIGEN**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A

**FERNANDO ABAD MEDRANO**

DIRECTOR DE TESIS; RICARDO SANTIAGO DIAZ  
MEXICO, D. F. 1989



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## C O N T E N I D O

	HOJA Nº
RESUMEN .....	1
OBJETIVOS .....	1
INTRODUCCION .....	2
1.1 GENERALIDADES .....	2
1.2 HISTORIA .....	5
1.3 FISILOGIA DE LOS FOLATOS .....	5
1.4 FISIOPATOLOGIA .....	8
1.5 FUENTES NATURALES DE LOS FOLATOS .....	15
1.6 METODOS DE DETERMINACION DE NIVELES DE ACIDO FOLICO SERICO .....	16
2. HIPOTESIS .....	13
3. MATERIAL Y METODOS .....	19
3.1 MATERIAL BIOLÓGICO .....	19
3.2 METODO MICROBIOLÓGICO PARA LA DETERMINACION DE FOLATOS .....	19
3.3 CURVA ESTANDAR .....	22
3.4 ANALISIS ESTADÍSTICO .....	26
4. RESULTADOS .....	27
5. DISCUSION .....	32
6. CONCLUSION .....	36
7. BIBLIOGRAFIA .....	37

## I

### RESUMEN

Ante la ausencia de valores o rangos normales sanguíneos de los folatos en las cabras, se realizó el siguiente estudio, se trabajó con 59 cabras (19 machos, 40 hembras) y se utilizó el método microbiológico para detectar folatos, por medio del crecimiento del *Lactobacillus casei*, y se obtuvieron los resultados siguientes:

El intervalo fue de 0.32 ng/ml de suero, hasta 0.84 mg/ml.

La media ( $\bar{Y}$ ) fue de 0.5619 ng/ml de suero.

La media de los machos fue de 0.5142 ng/ml de suero.

La media de las hembras fue de 0.5845 ng/ml de suero.

Los resultados obtenidos, de acuerdo a la edad, fueron:

Animales de 2 años una media de 0.5507 ng/ml de suero.

Animales de 3 años una media de 0.6000 ng/ml de suero.

Animales de 4 años una media de 0.5369 ng/ml de suero.

La conclusión a la que se llegó en este trabajo, fue que del grupo con el que se trabajó, la media de las hembras fue mayor a la media obtenida para los machos, mientras que con respecto a la edad, se vio que la diferencia no es significativa para las medias obtenidas en estas edades.

## O B J E T I V O S

- 1.- Obtener los valores normales del Acido Fólico en el suero de los caprinos, hembras y machos de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.
- 2.- Denotar si existe diferencia significativa entre los valores obtenidos en hembras y machos.
- 3.- Determinar posibles diferencias en la concentración de Acido Fólico en el suero de los caprinos, de acuerdo a su edad.

## 1. INTRODUCCION

## 1.1 GENERALIDADES

Los folatos son un grupo de compuestos formados por pteridina-heterocíclica, el ácido paraaminobenzóico (PABA) y el ácido glutámico (47). Estos compuestos, a pesar de su importancia para el organismo(43), no pueden ser sintetizados por los ruminantes (43,55), en este caso por los caprinos, en forma natural, ya que solo les es posible obtenerlos por medio de la flora bacteriana intestinal(55), y por medio de fuentes exógenas como puede ser la adición del ácido fólico como tal, en el alimento concentrado(pellet).

Los folatos juegan un papel esencial en la síntesis normal de los ácidos nucleicos, por lo que una deficiencia de ellos en el organismo produce alteraciones como son:

- a) Anemia megaloblástica (15,21).
- b) Disminución de la eritropoyesis (15,21,43).
- c) Disminución de la leucopoyesis en ocasiones asociado con atrofia del tejido linfático. ( 15,21,52,64).
- d) Regresión de la formación de trombocitos (43,52,64).
- e) Trastornos gastrointestinales ( enteritis, estomatitis, mala absorción intestinal, ulceraciones de la mucosa con diarreas) (1,3,5,15,21,23,43,45,52,64).

f) Caída del pelo, lana y en las aves; caída de la pluma.

( 15,21,43,52,64).

g) Infertilidad (43,50).

La deficiencia de folatos en el organismo puede deberse a varias causas, entre las causas primarias tenemos, una dieta pobre en folatos (9,43) y el alcoholismo crónico(9) que solo es en humanos. Entre las causas secundarias tenemos, problemas de mala absorción (3) como en el caso del sprúe y de la enfermedad celíaca. Mala absorción específica del folato (congénita y adquirida), Síndrome del asa ciega(9), degeneración de la flora intestinal (3), uso de medicamentos por tiempos prolongados como son las sulfas y el trimetropin(3,43), presencia de antagonistas de los folatos(metrotexato, pirimetamina, triamterene, trimetropin)(9,43), deficiencia enzimática(congénita y adquirida). deficiencia de B<sub>12</sub>(9), por requerimientos aumentados como en el embarazo, la infancia y procesos malignos(9). También es una causa secundaria, la hematopoyesis aumentada(9) y una excreción aumentada de folatos(9).

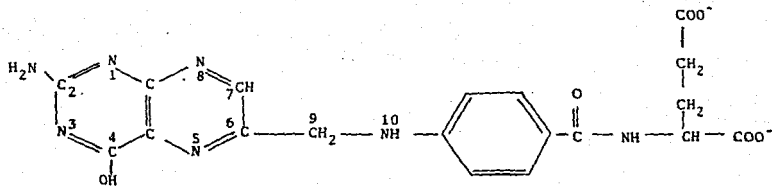


FIGURA NO. 1

CONFIGURACION DEL FOLATO  
(1,5,7,8)



## 1.2 HISTORIA

Dentro del grupo de los folatos, el más conocido y por tanto el más estudiado ha sido el ácido fólico, el cual es una vitamina cristalina de color anaranjado, del grupo de las vitaminas del complejo B (hidrosolubles), y que se encontró en las hojas de las plantas (45,47) por lo que recibió tal nombre (folium-hoja) (70), se le han dado varios nombres como vitamina Be, vitamina B, vitamina M (17), factor de Willis (71), factor U (62) factor R (49), factor del eluado de la norita (factor que mantiene el crecimiento del Lactobacillus casei (61), Folacina y por fin en 1941, recibió el nombre de Acido Fólico por Mitchell, Snell y Williams (49).

## 1.3 FISIOLOGIA DE LOS FOLATOS

Los derivados del ácido fólico tienen la característica estructural de poseer grupos glutamatos adicionales y otros cambian en la posición pterilo. Los primeros se localizan en sus fuentes naturales como los vegetales, y los otros se forman durante el metabolismo del folato en el organismo (33).

En los piensos se encuentran conjugados del ácido fólico, en los que el radical carboxilo del ácido glutámico lleva una o varias moléculas de ácido glutámico, esto sobre todo en los vegetales verdes (43). En la cabra y otros animales, el ácido fólico se hidrogena en las posiciones 7 y 8 del anillo pteridínico, formándose el ácido tetrahidrofólico, que es la verdadera forma activa (43).

El sitio principal para la absorción del folato es en el Yeyuno (5,29), donde son convertidos a monoglutamatos (Acido 5-metiltetrahidrofólico). El compuesto posteriormente es transportado de la sangre al hígado, médula ósea y después a los demás órganos, los cuales están involucrados en la síntesis de bases púricas y otros compuestos de importancia en el metabolismo: proteínas y aminoácidos (11,26,43). Después de atravesar la membrana plasmática, el ácido fólico es utilizado en procesos de síntesis de bases púricas (5,33).

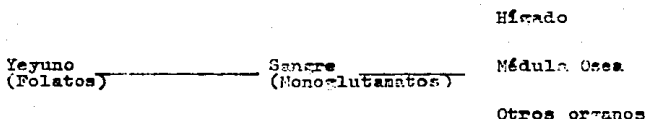
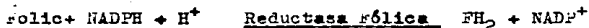


FIGURA No. 2

Los monoglutamatos se absorben por medio del transporte activo, pero si la concentración aumenta, pueden llegar a atravesar la mucosa intestinal sin haber sufrido cambios (33). La absorción intestinal de los folatos, se ve favorecida e incrementada, tanto en cantidad como en tiempo por la presencia de un pH ácido (59).

Kill y colaboradores en 1979, utilizando perros, trataron de descubrir el pasaje hepático de los folatos. El monoglutamato no reducido fue extraído del hígado, convertido inmediatamente a metiltetrahidrofolato y regresado de nuevo al plasma, donde fue tomado lentamente por los tejidos periféricos. Los folatos reducidos fueron rechazados por el hígado. Los tri-glutamatos fueron extraídos exclusivamente de la circulación sistémica, convertidos a monoglutamatos no reducidos, para más tarde ser reducidos en el hígado (41).

Los productos reducidos del ácido fólico, son las formas reales de la coenzima. La reductasa fólica reduce el ácido fólico a ácido dihidrofólico, este a su vez es reducido por la reductasa dihidrofólica a ácido tetrahidrofólico (FH<sub>4</sub>). Ambos son reducidos por el NADPH (11,47).



La función principal del ácido tetrahidrofólico es transportar una unidad de carbono (C1) al nivel de oxidación del formiato (formaldehído), el cual se utiliza en la biosíntesis de purinas, serina y glicina. En la formación de las purinas hay un paso de glicinamida ribonucleótido a formilglicinamida ribonucleótido, la cual se efectúa gracias a la transferencia

de un grupo formílico (ácido metenil- $\alpha$ -10 tetrahidrofólico) de la enzima transformilasa (5,11,47).

El otro punto en el que intervienen los folatos es, al momento de adquirir un átomo de carbono final antes de que el anillo de seis miembros de la purina se pueda cerrar. Este átomo lo da el grupo formílico a través de un metabolismo de un carbono del sistema del ácido fólico (11,43).

Los folatos son llevados a los lugares de su utilización metabólica en el organismo, por medio de los fluidos corporales. Este transporte se efectúa por medio de tres proteínas séricas, que son en orden cuantitativo, una macroglobulina, la transferrina y la albúmina (26), realizándose una unión de tipo electrostático entre los grupos carboxilo del folato y las cargas positivas de las proteínas, esta forma es débil y de baja afinidad. En la actualidad se menciona otro tipo de enlace, denominado FABP (Folic Acid Binding Protein) y consiste en la unión entre la porción pteróilo del folato y la proteína, este enlace es de tipo covalente y de alta afinidad.

#### 1.4 FISIOPATOLOGIA

La deficiencia de folatos, aunada a una deficiencia de vitamina B<sub>12</sub>, produce anemia megaloblástica, ya que se producen trastornos en la síntesis de purín y pirimidin nucleótidos, los cuales sirven para la síntesis del DNA, la falta de este DNA, disminuye la mitosis (48). La duplicación del DNA y la división celular se encuentran bloqueadas, mientras que la síntesis del

citoplasma es normal (14,57). Si esto se prolonga, hay divisiones anormales en la célula o incluso muerte celular(57,70).

En la anemia por deficiencia de folato, se producen una disminución de la eritropoyesis como consecuencia de la escasez de hemoglobina y del entorpecimiento de los procesos de maduración en la médula ósea (64,70). Se ha visto que la presencia de Riboflavina y ácido fólico en el tratamiento, juntos, elevan la concentración de hemoglobina, los valores del hematocrito y el conteo de glóbulos rojos (16).

La deficiencia del folato parece no ser responsable de una mala absorción de vitamina  $B_{12}$ , hasta que algún otro factor etiológico esté presente, como el alcohol o una ileopatía (9). Sin embargo la deficiencia de vitamina  $B_{12}$  sí altera el metabolismo del folato, ya que la vitamina  $B_{12}$  actúa como una coenzima en la síntesis de metionina, por lo que su ausencia, interrumpe la formación de la coenzima folato (Folato poliglutamato) (14).

Algunos autores dicen que es la deficiencia de folatos, más que la de la vitamina  $B_{12}$ , la que produce cambios estructurales en el intestino, los que pueden afectar la absorción de la vitamina  $B_{12}$  (3,8,22). En cambio, investigadores con Batt(3), dicen que las bajas concentraciones de folatos y vitamina  $B_{12}$  producen atrofia marcada de las vellosidades yeyunales y anormali-

bioquímicas en los bordes en cepillo, lisómas y retículo endoplásmico (3). Al llegar a presentarse una deficiencia de folatos el primer lugar en el que se detectan es en el hígado. Después se presenta a nivel sérico y por último a nivel eritrocitario (39).

En los ruminantes, se han presentado casos con ulceraciones de la mucosa intestinal, con diarrea (43,55), esto se presenta más en terneros jóvenes y en cabritos cuyo rúmen no se halla aún en completo desarrollo y tiene la necesidad del folato, que les debería ser proporcionado por la flora bacteriana casi nula en estos casos (55). Algunos animales, para obtener folato de la síntesis bacteriana intestinal, probablemente practiquen la coprofagia (1), alimentándose del excremento de los adultos.

Los trastornos del intestino delgado, como son la diarrea, esteatorrea y la estomatitis, así como daño pancreático, alteran la absorción normal del folato (18, 22).

Un trabajo realizado en pollos con una dieta baja en folatos mostró un decremento en la concentración de aminoácidos libres en el plasma sanguíneo, (alanina, arginina, glutamato, metionina), sin embargo la glicina en el plasma se encontró elevada en concentración (8). Esta deficiencia ejerce un efecto detrimental más grande en el crecimiento de los pollos, comparado con el causado por una deficiencia de glicina y serina (8, 21).

En las aves, la deficiencia de folatos provoca casos de piernas débiles, parálisis cervical y el síntoma del dedo rugoso (15,45). En las aves adultas, los problemas se manifiestan con la caída de la pluma por una deficiencia, debido a una inflamación cutánea, además de decoloración en las plumas, trastornos en el crecimiento y anemias (11,43).

Un papel importante del folato, es el que juega en la reproducción, por lo que es importante saber que, en gallinas, codornices y monas reshus folato deficientes, se presentaron, folículos ovaricos atáxicos y quísticos con deplesión de las células de la granulosa (43,50). El epitelio cervicovaginal en las monas, mostró megaloblastosis, multinucleación y disminución de la proliferación ordenada y de la maduración (43,50).

Las deficiencias de folatos en las ratas, produce una marcada alteración en la síntesis del colágeno (30), además hay una disminución de la leucopoyesis, con atrofia del tejido linfático, regresión en la formación de trombocitos y tendencia a las hemorragias (52), ya que se reducen las unidades formadoras de placas en el bazo y perjudica severamente las respuestas inmunes de los anticuerpos hemaglutinantes ante un desafío de células rojas (52).

así como las deficiencias causan un sin número de alteraciones y patologías, también el exceso puede llegar a ser perjudicial ya que se ha visto que dietas de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de peso en ratas, produjo alteraciones en las características morfológicas en los túbulo renales y en la función renal(42). Todo lo anterior fue proporcional a la dosis recibida.

Ante lo anterior, podemos decir que el daño tubular agudo, inducido por el exceso de folatos, puede ser modificado por un diurético (53).

Si pensamos en la leche de cabra como una fuente de folatos tanto para su cría como para el hombre, debemos tener en cuenta su concentración; esta varía de acuerdo a la raza y al tipo de alimentación al que este sometida, pero se reportan algunos valores que van desde 3.24 ng a 7.13 ng por cada 100g de leche(58).

Anteriormente se aseguraba que la leche de cabra era deficiente en folatos y por lo tanto provocaba severos casos de anemia sin embargo estudios recientes demostraron que no es el déficit de folatos en la leche de cabra, sino que es relativamente resistente a la digestión por las enzimas gástricas e intestinales de los bebés (10,56), estos estudios se realizaron en niños de 5 días de nacidos.

Posteriormente se ha seguido estudiando este aspecto, y se ha visto por ejemplo que, existen defectos en la inmunidad se-



cundaría de los niños, que presentaron casos de enterocolitis y eran alimentados con leche de cabra, ya que estos efectos eran reversibles (25).

Existen reportes de la presencia de anemia megaloblástica severa en niños de año y medio, atribuida a que desde las seis semanas de edad, fueron alimentados exclusivamente con leche de cabras, o también solo con leche de vaca, siempre que estas sean deficientes en Fe, y pueda verse acentuado por concentraciones bajas en folatos (24). Además se ha reportado que los valores de folatos en la leche de vacas son similares a los de las cabras (57).

Estudios realizados por Johan y Magnus en 1932, demostraron que el requerimiento normal de folatos durante el primer mes de vida, en infantes, es de 75 ng, diarios (36) y debemos tener en cuenta que nunca se considera en un bebé una alimentación con un solo elemento como totalidad de la dieta (leche).

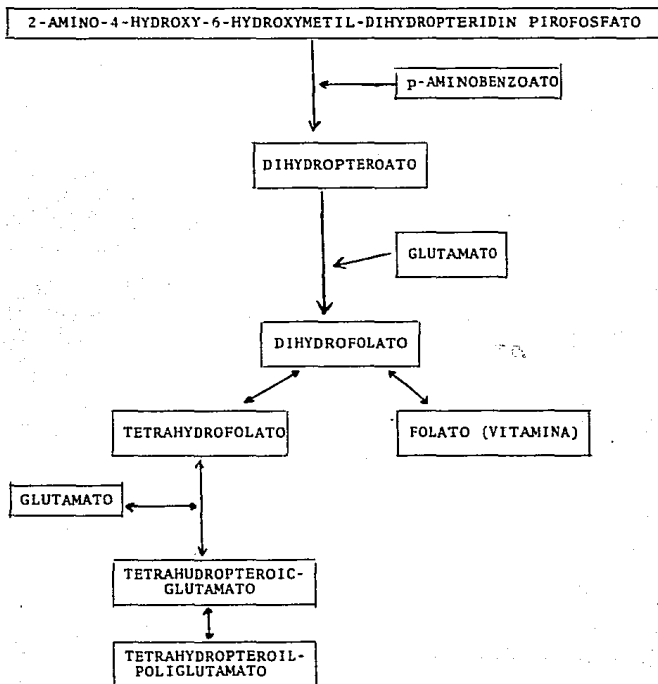


FIGURA NO. 3  
MECANISMO DE PRODUCCION DE FOLATOS EN LAS PLANTAS Y  
BACTERIAS (45)

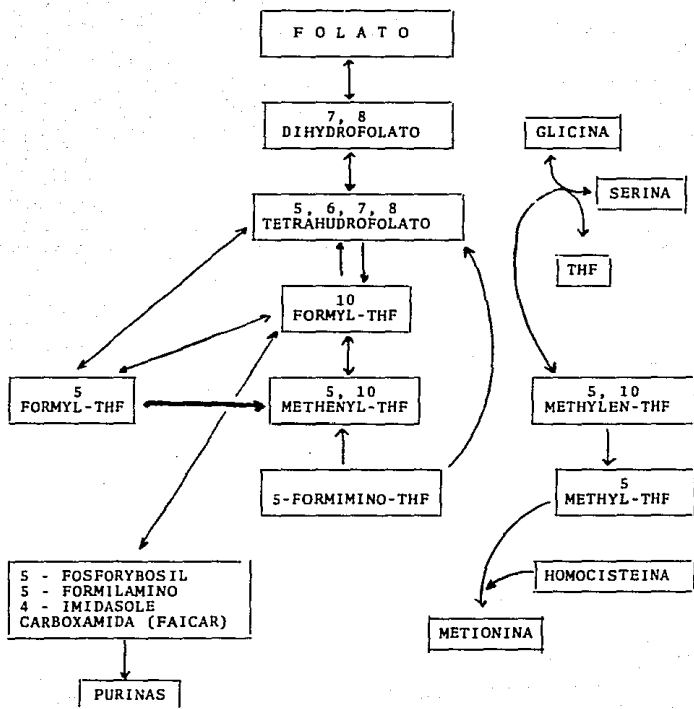


FIGURA NO. 4

ESQUEMA DE LOS PASOS O CAMBIOS QUE LOS FOLATOS REALIZAN DENTRO DEL ORGANISMO DE LA CABRA. (46)

### 1.5 FUENTES NATURALES DE FOLATOS

Como se dijo con anterioridad, la cabra no es capaz por si misma de sintetizar los folatos que requiere, por lo que lo toma de otras fuentes como son, la leche materna (1,47), la flora bacteriana(47,53), la coprofagia(1) y ademas puede ser tomado de otras fuentes como son las colas, papas, cereales y lavaduras (1, 45, 47, 55), aunque no son alimentos frecuentes de las cabras. Podemos agregar además los alimentos balanceados, los cuales en su mayoría tienen en su composición la adición de ciertos elementos como el ácido fólico.

En los humanos podemos considerar la leche materna como una fuente principal del ácido fólico, con valores promedio de 141 ng/ml de leche (63).

Además la leche de la cabra y vaca, así como sus derivados (quesos, cremas, yogurt ,etc.), y la misma carne, son una fuente importante de folatos para el ser humano.

### 1.6 METODOS DE DETERMINACION DE NIVELES DE ACIDO FOLICO SERICO.

Para la determinación del folato sérico de las cabras, se puede usar el método microbiológico que utiliza al Lactobacillus casei ya que es el menos costoso y con un menor riesgo de error (28), aunque existen otros como los radioisotópicos y los cromatográficos (69).

La razón de utilizar al Lactobacillus casei es porque este microorganismo es el que utiliza para su crecimiento a la mayoría de los derivados de los folatos, que se encuentran en la sangre (33).

El Lactobacillus casei es un bacilo gram positivo, inmóvil, anaerobio facultativo, aunque crece mejor en anaerobiosis o con un 10% de CO<sub>2</sub>, es catalasa negativo y crece mejor a un ph de 6 y entre los 15 y 37 °C, lo más importante es que para su crecimiento es esencial el folato (12).

## 2. HIPÓTESIS

La virtud de la escasa información mundial sobre los niveles normales de folatos (y por lo tanto de ácido fólico) en animales exóticos por el hombre, entre ellos la cabra y el dromedario, estos animales necesitan de los compuestos anteriores ya que forman un papel importante en el establecimiento de los genes, se decide:

- a) Obtener el rango del ácido fólico en la sangre de los caprinos de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.
- b) Tomado como variantes el sexo y la edad de los animales, se espera encontrar valores o rangos parecidos a los reportados por Allen (1) y Sawaya (53).

### 3. MATERIAL Y METODO

#### 3.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Se utilizaron los caprinos de la facultad de Estudios superiores de Cuautitlán, pertenecientes a las razas saanen, nubia, Alpina y cruza de estas mismas.

El lote se compuso de 19 machos y 40 hembras, de los cuales 29 tenían 2 años, 17 eran de 3 años y 13 eran de 4 años. Todos los animales se encontraban clínicamente sanos y recibieron el mismo manejo.

Todos los animales se trabajaron en igual forma, en ayunas se les tomó una muestra sanguínea de 10 ml. aproximadamente de la vena angular. La muestra se recolectó por medio de Vacutainer B-D estéril sin anticoagulante, de 100 x 16 mm con 10 ml. de succión.

Las muestras obtenidas se colocaban en una caja de unicel para cubrirlas del sol antes de ser transportadas al laboratorio. a cada animal se le tomaron dos muestras con intervalos de 15 días entre una y otra.

#### 3.2 METODO MICROBIOLÓGICO PARA LA DETERMINACION DE FOLATOS

El método microbiológico utilizado se basa en el crecimiento del Lactobacillus casei, en función de la concentración de folatos en el suero de las muestras.

- 1.- La sangre sin anticoagulante se pone en baño maría a 37°C durante una hora, hasta coagular bien.

- 2.- Se centrifugan las muestras a 2500 rpm durante 10 minutos.
- 3.- Se toma 0.6 ml. del suero y se pone en un tubo libre de hierro, al que se le adicionan 4.5 ml. de buffer con ácido ascórbico (el suero queda diluido 1:10). El buffer es de fosfatos con un pH de 6.1, puesto que valores más bajos inhiben la coagulación de las proteínas (68). A cada ml. de buffer se le adicionan 2 mg. de ácido ascórbico, para proteger a los folatos de la oxidación.
- 4.- Ya preparadas las muestras, se agitan y se ponen en ebullición por ocho minutos.
- 5.- Se centrifugan a 2500 rpm por 20 minutos.
- 6.- Se toma el sobrenadante y se diluye en agua desmineralizada a razón de 1:4.
- 7.- Del suero diluido, se toman 2 ml. y se le agregan 2 ml. de medio sin ácido fólico, todo esto se prepara por duplicado.
- 8.- Se esterilizan a 15 libras durante 15 minutos.
- 9.- A cada suero problema se le inocula con una gota (pipeta Paster) de Lactobacillus casei, en una zona estéril y se ponen a incubar a 37°C por 18 a 22 horas.
- 10.- Las lecturas de los sueros se realizan a un punto de 660 mμ, dentro de las horas antes mencionadas.

Los resultados obtenidos en la lectura, deben ser restados del tubo blanco y luego graficarlos, se multiplican por 20 que es el factor de dilución para el suero.

La actividad del folato en el material biológico se debe principalmente al derivado 5-metil-H<sup>4</sup> folato (28), compuesto microbiológicamente activo para el Lactobacillus casei.



SUEROS PROBLEMA

TUBOS	1	2	3	4	5
Extracto Diluido (ml)	2	2	2	2	2
Medio sin Acido Fólico (ml).	2	2	2	2	2
ESTERILIZACION					
Inóculo (gotas)	1	1	1	1	1

Figura N° 1

Tabla de la preparación de los sueros con el fin de las cabras estériles.

### 3.3 PREPARACION DE LA CURVA ESTANDAR

Para su realización se llevan a cabo los siguientes pasos:

- 1.- Se hace una solución (A) que contiene 10 mg. de Acido Pteroilglutámico, al que se le agrega gota a gota NaOH al 0.2 Normal de concentración, hasta que se disuelve, una vez disuelto se agregan agua desmineralizada hasta aforar a 10 ml.
- 2.- De la solución anterior, se toma 1 ml. y se lleva a 100 ml. con etanol al 20%, esta es la solución (B).
- 3.- De la solución anterior, se toma 1 ml. y se lleva a 100 ml. con agua desmineralizada, esta es la solución (C).
- 4.- De la solución anterior, se toma 1 ml. y se lleva a 100 ml. con agua desmineralizada, obteniendo al final una concentración de 1 ng/ml. Esta es la solución (D).
- 5.- Enseguida se prepara el medio de ensayo (Folic Acid Casei Medium, DIFCO.) en relación de 9.4 g/ 100 ml. de agua desmineralizada.
- 6.- El Lactobacillus casei se resiembró en un medio sólido 2 días antes de la prueba, y un día antes se pasa a un medio líquido, el día de la prueba se centrifuga, se quita el sobrenadante y el paquete restante se lava cinco veces con el medio de ensayo (9.4 g/ 100 ml) pero diluido al doble.
- 7.- Por último se resuspende en 10 ml. del medio anterior y se toma con una pipeta Pasteur una gota, que se agrega a 10ml. de medio de ensayo diluido al doble.
- 8.- Este medio deberá tener un 97% de transmitancia, para ello se hacen las lecturas a 650 nm y se calibra el aparato a 97% de transmitancia, si la lectura fuera mayor, se agregan una gota de inóculo hasta llegar a 97% T.
- 9.- De este último tubo, se toma el inóculo para prepararse a cada tubo de la curva estandar.

10.- Después de inoculados, se incuban a 37°C por 18 a 22 horas y se realizan las lecturas.

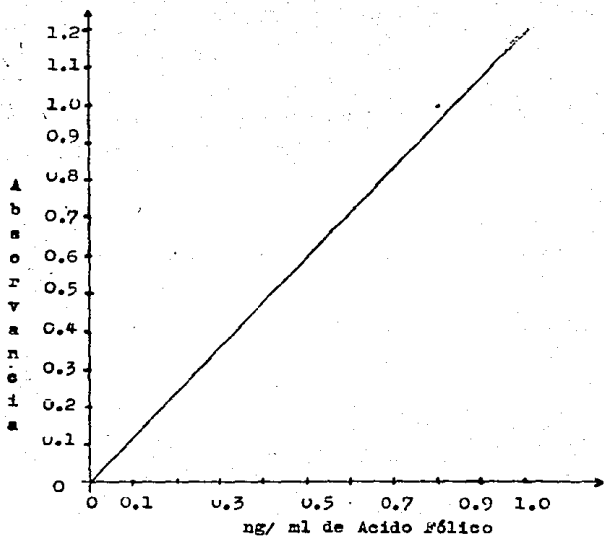
Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro Carl Zeiss modelo PHQ II a 660 nm, esto con el fin de eliminar el color amarillo ambar del medio y así cuantificar la turbidez producida por el crecimiento de la bacteria.

Las lecturas de transmitancia se convirtieron en absorbancia y se grafican contra la concentración de folatos de estandar, en papel semilogarítmico para obtener la curva estandar.

Las lecturas de absorbancia de los sueros de las cabras, a las que también se les restó el valor del tubo 1, se interpolan en la curva estandar para conocer su concentración de folatos y se multiplican por el factor de dilución que es igual a 20.

REALIZACION DE LA CURVA ESTANDAR

TUBOS	1	2	3	4	5	6	B
CONCENTRACION DE FOLATOS EN ng/ml.	0	0.1	0.2	0.4	0.8	1.0	-
SOLUCION D DE FOLATOS (ml)	0	0.1	0.2	0.4	0.8	1.0	-
AGUA DESMINERALIZADA (ml)	2	1.9	1.8	1.6	1.2	1.0	2
MEDIO DE ENSAYE 9.4 g/100 ml	2	2	2	2	2	2	2
TODO ES POR DUPLICADO, SE TAPAN LOS TUBOS CON ALGODON Y PAPEL ALUMINIO Y SE ESTERILIZAN A 15 lb/ 5 MINUTOS.							
INOCULO (GOTAS)	1	1	1	1	1	1	-



Gráfica N° 1: Curva estándar de crecimiento del *Lactobacillus casei*.

## 3.4 ANALISIS ESTADISTICO

El análisis estadístico que se realizó en este trabajo, fue el siguiente:

Obtención de la Media

$$\bar{X} = \frac{\sum x_i}{n}$$

Varianza  $S^2$ 

$$S^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{X})^2}{n-1}$$

Desviación Estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

Coeficiente de Variancia

$$C.V. = \frac{S}{\bar{X}} \cdot 100$$

Además de lo anterior se realizó la prueba "t" de Student

$$\bar{X} - \frac{ts}{\sqrt{n}} \leq \mu \leq \bar{X} + \frac{ts}{\sqrt{n}}$$

y el análisis de Varianza ( ANDEVA )

FV	GL	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	FC
Pi edad	i-1(2)	SC-FC	$\frac{SC}{2}$	CM EDAD CM ERROR
Ej Error	55	SC-FC	$\frac{SC}{55}$	
Total	ij-1		$\frac{SC \text{ Totales}}{57}$	

## 4. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, son explicados y detallados por medio de cuadros como a continuación se muestra:

## Cuadro Nº 1

Niveles de Acido Fólico en la población total muestrada.

## Cuadro Nº 2

Niveles de Acido Fólico en la población de machos.

## Cuadro Nº 3

Niveles de Acido Fólico en la población de hembras.

## Cuadro Nº 4

Niveles de Acido Fólico de acuerdo a las edades de la población estudiada.

POBLACION TOTAL	ng / ml
15 ANIMALES	0.32
15 ANIMALES	0.49
21 ANIMALES	0.68
8 ANIMALES	0.84
$\bar{x}$	0.5619
D. E.	0.1794
INTERVALO DE CONFIANZA	0.5152 a 0.6086

CUADRO NO. 1

NIVELES DE ACIDO FOLICO EN LA POBLACION TOTAL MUESTREADA



A

MACHOS

ng / ml

7 ANIMALES	0.32
5 ANIMALES	0.49
5 ANIMALES	0.68
2 ANIMALES	0.84
$\bar{x}$	0.5142
D. E.	0.1852

CUADRO NO. 2

NIVELES DE ACIDO FOLICO EN LA POBLACION DE MACHOS.

B

HEMBRAS	ng / ml
8 ANIMALES	0.32
10 ANIMALES	0.49
16 ANIMALES	0.68
6 ANIMALES	0.84
$\bar{X}$	0.5845
D. E.	0.1744

CUADRO NO. 3

NIVELES DE ACIDO FOLICO EN LA POBLACION DE HEMBRAS.

EDAD	NO. DE ANIMALES	CONCENTRACION ng / ml.
2 AÑOS	7	0.32
	9	0.49
	10	0.68
	3	0.84
	$\bar{X}$	0.5507
3 AÑOS	3	0.32
	4	0.49
	7	0.68
	3	0.84
	$\bar{X}$	0.60
4 AÑOS	5	0.32
	2	0.49
	4	0.68
	2	0.84
	$\bar{X}$	0.5369

CUADRO NO. 4

NIVELES DE ACIDO FOLICO DE ACUERDO A LAS EDADES DE LA POBLACION ESTUDIADA.

## 5. DISCUSION

De acuerdo al trabajo realizado, los valores obtenidos de Acido Fólico sérico en las cabras, van desde 0.32 ng/ml hasta 0.94 ng/ml, con un valor promedio de 0.5619 ng/ml. Se debe tener en cuenta que estos valores no pudieron ser cotejados con otros, ya que no existen reportes de niveles de Acido Fólico en las cabras.

Al realizar el análisis estadístico, se comprobó por medio de la prueba "t" de Student, que los valores promedio en las hembras estudiadas, son mayores que los valores promedio de los machos, siendo que se realizó a 0.1 y 0.05 de niveles de confianza. Similares resultados fueron obtenidos por Allen en un trabajo realizado en caballos (1), en el cual, las hembras también obtuvieron los valores más altos que los machos.

La diferencia entre sexos no puede ser explicada con la realización de este trabajo solamente, ya que hace falta ampliarlo, realizando los estudios en las diferentes fases reproductivas, de los animales. Lo que sí podemos tomar muy en cuenta es el aporte de folatos en cantidades normales, ya que como se comentó anteriormente, en las hembras, la deficiencia de folatos va a influir en la producción de folículos, óvulos y en la duplicación del cigoto. (43, 50).

Es importante recordar que algunos fármacos producen una absorción inadecuada de folatos, dando cuadros carenciales con todos los problemas antes mencionados; los fármacos son las sulfas, la fenitina, la primidona, los barbitúricos y la clocloserina.

Para observar si la edad influía en la concentración de folatos, se agruparon a los animales de acuerdo a su edad, obteniendo tres grupos, de dos años, de tres y de cuatro años.

De la media de cada grupo, se observó que los de tres años aparentemente tenían los valores más altos (cuadro Nº 6) de folato sérico, para determinar si en verdad existía una diferencia significativa entre los tres grupos, se realizó un análisis de varianza ( ANDEVA ), a un nivel de significancia de 0.05, observándose que las medias de los tres grupos son iguales o bien de otra forma, no existen diferencias significativas entre ellas.

Con base en los resultados anteriores, podría suponerse que la edad no es una condicionante en la concentración sérica de folatos en los caprinos, ya que es probable que la flora bacteriana mantenga un nivel de producción de folatos estable, durante la vida del animal. Como este trabajo solo abarca tres edades, es recomendable que se amplie el margen, desde el nacimiento del animal hasta el mayor número de años posible.

SEXO	$\bar{X}$	S
MACHOS	0.5142	0.1852
HEMBRAS	0.5845	0.1744

CUADRO NO. 5

VALORES PROMEDIO DE MACHOS Y HEMBRAS.

EDAD	$\bar{x}$	S
2 AROS	0.5507	0.1715
3 AROS	0.60	0.1770
4 AROS	0.5369	0.2053

CUADRO NO. 6

DIFERENCIA EN LA CONCENTRACION DE FOLATOS DE ACUERDO  
A LA EDAD

## 6. CONCLUSION

Los resultados que se obtuvieron fueron los siguientes: el rango abarca desde los 0.32 ng/ml de sangre hasta los 0.84 ng/ml de sangre, dando como resultado una media de 0.5619.

En los machos, el valor promedio es de 0.5142 ng/ml y en las hembras es de 0.5845 ng/ml de sangre.

Para los animales de dos años de edad, su valor promedio es de 0.5507, para los de tres años es de 0.60 y para los de cuatro años es de 0.5369 ng/ml de sangre.

Al analizar los resultados obtenidos, se llegó a la conclusión de que el valor promedio de ácido fólico en sangre, es mayor en las hembras que en los machos. Mientras que en lo que respecta a la edad, se encontró que la diferencia no es significativa para las medias obtenidas en los animales con los que se trabajó.



## B I B L I O G R A P H I A

- 1.- Allen, B. V. Serum folate levels in horses, with particular reference to the English thoroughbred. *The Veterinary Record*. 103:257-258-259, 1978.
- 2.- Batt, K. M., Carter and R. J. Peters, Biochemical changes in the jejunal mucosa of dogs with a naturally occurring enteropathy associated with bacterial over-growth. *GUT*, 25 (2) 816-823, 1984.
- 3.- Batt, K. M., Morgan, Jo. O. Role of serum folate and vitamin B<sub>12</sub> concentrations in the differentiation of small intestinal abnormalities in the dog. 32: 17-22, 1982.
- 4.- Kirkbeck, J. A. Goat milk infant feeding. *New Zealand Medical Journal*. 87, 612, 365, 1978.
- 5.- Branda Richard. Transport of 5-methyltetrahydrofolic acid in erythrocytes from various mammalian species. *Journal Nutrition*, 111:618-623, 1981.
- 6.- Braude, H. Megaloblastic anaemia in an infant fed on goats milk: a case report. *South African Medical Journal*, 46 (36): 1283-1289, 1972.
- 7.- Brisinse, M. W., Haspeles, A. A. Maternal serum folacin levels during and after normal pregnancy, *MUR Journal Obstetrical-Gynecology, Reproduction and Biology*, 20 (3):153-158, 1985.
- 8.- Burnas, K. A., Jackson, H. The effects of folate deficiency and oestradiol administration on the plasma free amino acid concentrations of the immature hen. *British Poultry Science*. 20:151-158, 1978.

- 9.- Cattan, D., Belaiche, J. Effect of folate deficiency on vitamin B<sub>12</sub> absorption. *Annuary Nutrition Metabolism*, 26 (6): 367-373, 1982.
- 10.- Colman, H., Herbert, V. Detection of a milk factor that facilitates folate uptake by intestinal cells. *Science, USA*, 211 (4489): 1427-1429, 1981.
- 11.- Conn Eric., Stampf, P. Biocímica Fundamental. Editorial LITUSA, 3ª Edición, México 1980. pp:253, 257-258.
- 12.- Cowan, S. T., Steel, K. J. Manual para la identificación de Bacterias de importancia Médica. Cía. Editorial Continental S.A. 2ª Edición, México 1979. pp:97-98.
- 13.- Chanarin, I. Deacon, K. How vitamin B<sub>12</sub> acts. *British Journal of Hematology*, 47 (4): 487-491, 1981.
- 14.- Chanarin, I. Deacon, K. Vitamin B<sub>12</sub> regulates folate metabolism by the supply of formate. *British Journal of Hematology* 2 (8193): 505-508, 1980.
- 15.- Chun-Kow Wong Peter. The folacin requirements of broiler chicks and quail. *Poultry Science*, 56:1852-1860, 1977.
- 16.- Dako, D. Y., Hill, D. C. Effect of riboflavine and folic acid supplementation on selected hematopoietic parameters. *Vitamin and Nutrition Research*, 50 (3): 254-260, 1980.
- 17.- Day, P. L., Contab, A. Failure of nicotinic acid to prevent nutritional cytopenia in the monkey. *Proceedings of the Society for experimental Biology and Medicine*, 33: 860, 1938.

- 18.- Elscwidy, Mohamed and Singh. Folate deficiency and pancreatic acinar cell function. *Proceeding of the Society for experimental Biology and Medicine*, 177 (2): 247-252 1984.
- 19.- Falconer, D.S. Introducción a la Genética Cuantitativa. Editorial GEDISA, 11ª Edición. México 1981.
- 20.- Farnworth, E. R., Hill, D.C. Utilization of administered folacin derivatives by rats feed a diet low in methionine and folacine. *Physiology Pharmacology*. 58 (8): 988-991, 1980.
- 21.- Featherston, W.R. Effect of dietary amino acid level, folic acid, glycine and serine on chick performance and blood parameters. *Poultry Science*, 56: 906-912, 1979.
- 22.- Figueroa, J.F., Sánchez, L. Anemias Megaloblásticas. *Revista de investigación Clínica*, 27: 121-127, 1975.
- 23.- Franke, D., Mey, V. Studies on iatrogenic folic acid deficiency anaemia in chronic renal insufficiency. *Haematology (LEIPZ)* 112 (4): 562-570, 1985.
- 24.- Hurtado, E.N. Intolerancia. *Revista de Instituto de Latínos Candido Testes*, 36 (214): 31-37, 1981.
- 25.- Bajdos, M.B., Navarro, J. Immunodeficiency in nutritional anaemias. *Semaine des Hospitiaux de Paris*, 58 (46): 2731-2735, 1982.
- 26.- Goldstein, A., Arnow, P. Principles of drug action. The basis of Pharmacology. Willwy Internal Edition 2nd Ed., USA. pp: 246.

- 27.- Greenberg Daniel M. Metabolic Pathways. Vol. 4 (Nucleic Acid, Protein and Coenzymes). Editorial Academic Press, N.Y. USA. 1970.
- 28.- Grossowicz, H.F., Davidoff, R. Microbiological determination of folic acid derivatives in blood. *Blood*, 20 (5): 609-616, 1962.
- 29.- Halsted, G. and Harris. The effect of alcoholism on the absorption of folic acid ( $H_2$ -PGA) evaluated by plasma levels and urine excretion. *Journal Clinical of Laboratory Medicine*, 69: 116-131, 1967.
- 30.- Hautvast, J.G. and Barnes, M.J. Collagen metabolism in folic acid deficiency. *British Journal Nutrition*, 32 (2): 457-469, 1974.
- 31.- Hayslet, E. Estadística Simple. Editorial Minerva, 4ª Ed. México, 1975.
- 32.- Hilton, J.G. and Cooper, B.A. Folate polyglutamates synthesis and turnover in cultured human fibroblasts. *Journal of Biological Chemistry*, 254 (17): 8398-8403, 1979.
- 33.- Hoffbrand, A.V. Clínica Hematológica. Anemia megaloblástica, Vol. 4, Nº 3 Salvat editores, S.A. México 1980.
- 34.- Hogan, A.G. and Parrot, S.M. anaemia in chicks due to vitamin deficiency. *Journal of Biological Chemistry*, 128: 46, 1939.
- 35.- Izak, G. and Galewski, K. Proceeding of the society for experimental Biology and medicine, 140 (1): 248-250, 1972.

- 36.- Jhan, E. and Magnus Erik. Plasma and red cell folate values and folate requirements in formula- feed term infants. *Journal Pediatrival*. 100 (5): 738-744, 1982.
- 37.- Jawetz, E. and Melnick, J. Manual de Microbiología médica. El manual moderno, 9ª Edición. México 1981. pp:272-274.
- 38.- Kaneko, J.J., Cornelius, C.E. Clinical Biochemistry of Domestic animal. Vol. I,II, 2nd edición. academic press N.Y. USA ,1971.
- 39.- Neagy Pamela. Oaced, S. Development of folacin bioassay in rats. *Journal Nutrition*, 112: 87-91. 1982.
- 40.- Kelly, P. and Reed, B. folate catabolism. *Irish Journal of medical Science*, 147 (8): 289, 1978.
- 41.- Kill Jorgen. the role of liver passage for conversions of pteroilmonoglutamate and pteroiltriglutamate to active folate coenzyme. *Journal Vitamin Nutritional Research*, 49 (3): 296-306, 1979.
- 42.- Alinger, A., Anderew, P., Robert, E. Folic acid- induced renal injury and repair: Correlation of structural and functional abnormalities. *Archive Pathology Lab. Medicine*, 104 (2): 87-93, 1980.
- 43.- Kolb Erick. Fisiología Veterinaria. Vol. I, editorial Acribia, 2ª Edición. España 1979. pp: 204-206.
- 44.- Lakshmaid, K. and Ramasastri, B.V. Folic acid conjugase from plasma. Use of the enzyme in the estimation of folate activity in foods. *Nat. Institute of Nutrition Max.*

- 45.- Manual Kerck, 6ª Edición. Kerck Sharp and Bohme International. USA. 1960. pp: 1261-1262.
- 46.- Makoto Ishimoto, Shiyeki Kinakami., Shoji Mizushima. Metabolic Map, 3ª Edición, 1971, Editorial Varrios. Company, LTD. Tokyo J.
- 47.- Martin David W. and Rodwell Victor. Bioquímica de HARPER El Manual Moderno, 3ª Edición. México 1962. pp: 111-115.
- 48.- Meyers, T.H. and Jawetz, E. Manual de Farmacología Clínica. El Manual Moderno, 4ª Edición. México 1960. pp: 530- 554.
- 49.- Mitchell, H.K. and Snell, E. The concentration of folic acid. Journal American Chemistry Society, 63: 2284, 1941.
- 50.- Mohanty Dipika and Kshitish, C. Effect of folate deficiency on the reproductive organs of female rhesus monkeys Journal Nutrition, 112 (8): 1565-1576, 1982.
- 51.- Molina, R.A. and Diez, E. Effect of treatment with iron and with folacin in pregnant women with nutritional anemia. Investigación Clínica. Venezuela. 13 (2): 44-57, 1972.
- 52.- Morrey Jhon D., Sidwell, R., Noble, R. Effects of folic acid malnutrition on rotaviral infection in mice. Proceedings of the Society for Experimental Biology And Medicine, 176: 77- 83, 1984.

- 53.- Mullin, E.M. and Honar, R.A. Reduction of folic acid-induced acute tubular injury by diuresis: An experimental model. *Experimental and Molecular Pathology*, 25 (1): 92-105, 1976/.
- 54.- Rolschau, J. and Date, J. Folic acid supplement and intra-uterine growth. *Acta Obstétrica. Ginecology Scandinava*, 58 (4): 343-346, 1976.
- 55.- Runzosa, J.A. Manual de Crianza de Vacunos. Biblioteca agrícola A7008, 5a Edición. España 1982. pp: 207-213.
- 56.- Salter, D.H. and Howlen, A. Neonatal role of milk folate binding protein: studies on the course of digestion of goats milk folate binder in the 6-d-old kid. *British Journal of Nutrition*, 50 (3): 589-596, 1983.
- 57.- Samir, K. and Dallas Parvin. Reduced erythrocytic deformability in megaloblastic anemia. *American Journal of Clinical Pathology*, 66: 953-957, 1976.
- 58.- Sawaya, W.K. and Khalil, J.K. Mineral and Vitamin contents of goat milk. *Milchwissenschaft*, Saudi Arabia, 40 (2): 81-83, 1985.
- 59.- Schron Charles and Clarence, W. Jr. The transmembrane pH gradient drives uphill folate transport in rabbit jejunum: Direct evidence for folate hydroxyl exchange in brush border membrane vesicles. *Journal Clinical Investigation*, 76 (5): 2030-2034, 1985.

- 60.- Yamamotohara, I., Harold, J. and Sidney, T. Plasma cells with inclusions containing iron. *Archive Pathology Laboratory* 103 (11): 577-582, 1979.
- 61.- Snell, E. and Peterson, W. Growth factors for bacteria X. Additional factors required by certain lactic acid bacteria. *Journal of Bacteriology*, 26: 273, 1940.
- 62.- Stokstad, E. and Manning, P.D. Evidence of a new growth factor required by chicks. *Journal of Biological Chemistry*, 125: 687, 1938.
- 63.- Tamura, Tseinobu, Yohzo. Human milk folate and status folate in lactating mothers and their infants. *American Journal Clinical Nutritional*, 33 (2): 193-197, 1980.
- 64.- Thenen, S.W. and Rasmussen, K.M. Megaloblastic erythropoiesis and tissue depletion of folic acid in the cat. *American Journal Veterinary Research*, 39 (7): 1205-1207, 1978.
- 65.- Thenen, S.W. and Stokstad, E.L. Effect of methionine on specific- folate coenzyme pools in vitamin B<sub>12</sub> deficient and supplemented rats. *Journal of Nutrition*, 103 (3): 363-370, 1973.
- 66.- Udipi, Sholha, A. and Avanelle, Korkey. vitamin B<sub>6</sub>, C and folacin levels in milk from mothers of term and preterm infants during the neonatal period. *American Journal Clinical Nutrition*, 42 (3): 522-530, 1985.



- 67.- Wagonfeld, J.B., Selhub, J. and Rosenberg, I.H. Isolation of folate from biologic fluids by use of folic acid binding protein (FABP) affinity chromatography. American Journal of Clinical Nutrition, 23 (4): 432, 1975.
- 68.- Waters, A.H. and Mollin, D.L. Studies on the folic acid activity of humanserum. Journal Clinacal Pathology, 14: 335-344, 1961.
- 69.- Waxman, S. and Schreiber, U. Radioisotopic assay for measurement of serum folate levels. Blood, 33 (2): 219-228, 1971.
- 70.- Williams, W.J., Butler, A. and Araujo, A. Hematología. Tomo I Salvat Editores, S.A. España, 1979. pp:283-297.
- 71.- Wile, L., Contab, A. and Lond, B.S. Treatment of "Pernicious anaemia of pregnancy" and "Tropical anaemia". British Medical Journal, 1: 1059, 1951.
- 72.- Wilson Susan and Horne Donald. Effects kidneys inactivation of vitamin B<sub>12</sub> on the levels of folate coenzymes in rat bone marrow, kidney, brain and liver. Archive Biochemistry Biophysical, 244 (1): 248-253, 1936.
- 73.- Witte Abrahms P., Handler, M., Smith, Emil L. Principios de Bioquímica. Editorial McGraw Hill, México.