INTERVALO DE REFERENCIA DE VARIABLES BIOQUÍMICAS SANGUÍNEAS EN RUSTIPOLLOS CRIADOS BAJO CONDICIONES DE CLIMA SUBTROPICAL-HÚMEDO DE PARAGUAY.

REFERENCE INTERVAL OF BLOOD BIOCHEMICAL VARIABLES IN RUSTIPOLLOS RAISED UNDER CONDITIONS OF SUBTROPICAL-HUMID CLIMATE

Castro L¹, Méndez M², Gómez G¹, Pedrozo R¹

¹Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Veterinarias, Departamento de Patología y Clínica, División de Patología Clínica, San Lorenzo - Paraguay.

²Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Veterinarias, Auxiliar de enseñanza, San Lorenzo - Paraguay.

RESUMEN. La determinación de parámetros bioquímicos en animales de producción, representa una herramienta de gran importancia en el diagnóstico de diversas enfermedades especialmente las de manifestaciones subclínicas, encontrándose influenciada por factores climáticos, línea genética, manejo y alimentación. El objetivo de este trabajo fue definir intervalos de referencia para variables bioquímicas sanguíneas en la población avícola Rustipollos, de la Facultad de Ciencias Veterinarias en San Lorenzo, Paraguay. Fueron seleccionadas un total de 52 aves de la línea Rustipollos, 45 hembras y 7 machos, entre 2 a 3 años de edad. Muestras de sangre fueron obtenidas mediante punción de la vena braquial para obtención de suero y posterior análisis. Las variables bioquímicas estudiadas fueron proteína total (PROT-T), albúmina (ALB), globulinas (GLO), ácido úrico (URIC), colesterol (COL), aspartato aminotransferasa (AST), calcio (Ca) y fosfato inorgánico (Pi). Los datos fueron analizados utilizando estadística descriptiva y los intervalos de referencia se determinaron aplicando método robusto según lo indicado por las normas de elaboración de valores referenciales. Los valores obtenidos fueron similares a los reportados en la literatura. Sin embargo, fueron reportados niveles elevados de GLO que podrían estar relacionados con una mayor resistencia de las aves, considerando el sistema de manejo empleado. La AST debería evaluarse en conjunto con la enzima creatinquinasa de manera a diferenciar daño muscular o hepático. La calcemia reportada podría estar relacionada con la edad de las aves, efecto hormonal y alimentación. Los datos obtenidos podrían utilizarse como referencia para futuros trabajos, siendo necesario el establecimiento de intervalos de referencia en diferentes categorías, en dicha población local.

Palabras claves: Aspartato aminotransferasa, bioquímica sérica, calcio, globulinas, producción avícola.

ABSTRACT. The determination of biochemical parameters in production animals represents a tool of great importance in the diagnosis of various diseases, especially those of subclinical manifestations, being influenced by climatic factors, genetic line, management and feeding. The objective of this work was to define reference intervals for blood biochemical variables in the Rustipollos poultry population of the Faculty of Veterinary Sciences in San Lorenzo, Paraguay. A total of 52 birds of the Rustipollos line were selected, 45 females and 7 males, between 2 and 3 years of age. Blood samples were obtained by puncture of the brachial vein to obtain serum and subsequent analysis. The biochemical variables studied were total protein (PROT-T), albumin (ALB), globulins (GLO), uric acid (URIC), cholesterol (COL), aspartate aminotransferase (AST), calcium (Ca) and inorganic phosphate (Pi). The data were analyzed using descriptive statistics and the reference intervals were determined applying a robust method as indicated by the standards for the elaboration of referential values. The values obtained were similar to those reported in the literature. However, high levels of GLO were reported that could be related to greater resistance of the birds, considering the management system employed. AST should be evaluated in conjunction with the enzyme creatine kinase in order to differentiate muscle or liver damage. The reported calcemia could be related to the age of the birds, hormonal effect and feeding. The data obtained could be used as a reference for future work, being necessary to establish reference intervals in different categories, in said local population.

Keywords: Aspartate aminotransferase, serum biochemistry, calcium, globulins, poultry production.

doi: 10.18004/compend.cienc.vet.2018.08.02.13-19

Dirección para correspondencia: Dra. Liz Castro. Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Veterinarias, División de Patología Clínica, Departamento de Patología Clínica - Ruta Mcal. Estigarribia km 10,5 - Campus Universitario - San Lorenzo - Paraguay

E-Mail: lcastro@vet.una.py

Recibido: 25 de abril de 2018 / **Aceptado:** 27 de noviembre de 2018

INTRODUCCIÓN

La sangre tiene un rol fundamental en el transporte de gases, nutrientes y productos del desecho metabólico del cuerpo(1). La determinación de los componentes sanguíneos mediante pruebas de laboratorio, representan herramientas importantes para orientar al diagnóstico de diversas enfermedades (2). En este sentido, los perfiles bioquímicos constituyen una fuente de información trascendental para evaluar el estado de salud de las aves, reflejando además muchas alteraciones de órganos y tejidos (3). Las determinaciones sanguíneas se encuentran influenciadas por diversos factores como la edad, raza, línea genética, manejo, estado fisiológico, respuesta individual y condiciones medioambientales(4).

En los últimos años se han incrementado los estudios de perfiles bioquímicos en, en líneas parrilleras y gallinas nativas bajo diferentes sistemas de explotación (5-7), comparando aves criollas con líneas parrilleras y aves indígenas con diferentes líneas y razas (8,9). Además, de la determinación de variables séricas bajo ciertas condiciones ambientales (2,10,11)y en aves de postura con suplementación alimenticia (12-14).

En el Paraguay, existe una población local denominada Rustipollos, con características particulares en comparación a otras poblaciones avícolas, como ser bajas tasas de mortalidad, animales de doble propósito (carne y huevos), de gran tamaño corporal y lo más resaltante, su desempeño en condiciones ambientales desfavorables, como el clima del país, con un norte cálido y tropical a un sur subtropical, enmarcado en una zona de alta humedad todo el año.

Considerando lo expuesto y al no existir investigaciones similares en dicha población, el objetivo de este trabajo fue establecer los intervalos de referencia para los valores sanguíneos de proteína total, albúmina, globulina, ácido úrico, colesterol, aspartato aminotransferasa, calcio y fosfato inorgánico en Rustipollos criados en el área de San Lorenzo, Paraguay..

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización.

El trabajo se llevó a cabo en la División de Avicultura, de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay. Localizada en las coordenadas geográficas

25° 19' 65" Latitud Sur y 57° 31' 16" Longitud Oeste. El clima es tropical a subtropical, con una temperatura media de 23,7°C y humedad relativa de 75,1%. El promedio registrado de las precipitaciones es de 2.137 mm (15).

Animales.

Se utilizaron 52 Rustipollos (45 hembras y 7 machos), adultos de entre 2 a 3 años de edad. Alojados en galpón a piso sobre cama de cáscara de arroz, abierto a ambos costados, protegido con malla de alambre y cortinas de plástico. Las aves fueron alimentadas *ad libitum* con balanceado comercial de postura en comederos tipo tolva y con disponibilidad de agua en bebederos tipo campana.

Recolección de muestras y análisis de perfil bioquímico.

Las muestras de sangre se obtuvieron de la vena braquial de cada uno de los individuos. Se extrajo 1 mL de sangre venosa que fue depositada en tubo sin anticoagulante, para la obtención posterior del suero sanguíneo. Se almacenaron en microtubos de 1,5 mL a -20°C para su posterior análisis laboratorial.

Los análisis bioquímicos se realizaron en el Laboratorio de Patología Clínica, Departamento de Patología y Clínica, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNA. Las variables determinadas fueron proteína total, albúmina, ácido úrico, colesterol, aspartato aminotransferasa, calcio y fosfato inorgánico con el analizador semiautomático (BTS-370, Biosystems, Barcelona, España) previamente calibrado con un suero control (HumaTrol N, Wiesbaden, Germany). La concentración de globulinas se obtuvo por diferencia entre las concentraciones de proteína total y la albúmina. En la Tabla 1 se describen los analitos bioquímicos, unidades de medida y el método de análisis para cada parámetro.

Tabla 1. Analitos bioquímicos, unidades de medida y método utilizado para la determinación de perfiles séricos en Rustipollos

Analito	Unidades de medida	Método
Perfil proteico		
Proteína total (PROT-T)	g/L	Colorimétrico: Biuret ¹
Albúmina (ALB)	g/L	Colorimétrico: Verde de bromocresol ¹
Globulina (GLO)	g/L	(PROT-T) - (ALB)
Perfil renal		
Ácido úrico (URIC)	μmol/L	Enzimático colorimétrico: PAP ¹
Perfil lipídico		
Colesterol (COL-T)	mmol/L	Enzimático colorimétrico: CHOD-PAP ²
Perfil hepático		
Aspartato aminotransferasa (AST)	U/L	Enzimático: EC 2.6.1.1 según IFCC mod. sin fosfato piridoxal, 37°C.
Perfil mineral		
Calcio (Ca)	mmol/L	Colorimétrico: Arsenazo (III) ¹
Fósforo inorgánico (Pi)	mmol/L	Colorimétrico: Fosfomolibdato ¹

¹ Wiener Lab, Rosario, Argentina

² Human Diagnostics Worldwide, Wiesbaden, Alemania

Análisis estadístico

Los intervalos de referencia se establecieron en base a las normas de la American Society of Veterinary Clinical Pathology, ASVCP (16). Inicialmente, se determinó la normalidad de los datos con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, siendo los no normales normalizados por el método de logaritmos. Posteriormente, se evaluó la distribución de los datos y se identificaron los posibles valores atípicos (outliers) para cada parámetro mediante histogramas.

Considerando el tamaño muestral ($n=52$), se utilizó el método robusto para cálculo de valores referenciales según lo indicado por las normas de elaboración de valores referenciales, método que usa interacciones sucesivas hasta encontrar el centro y la dispersión de los datos pudiendo ser usado en ausencia de normalidad (16).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2, se presentan los resultados de la estadística descriptiva para las diferentes variables estudiadas con sus respectivos intervalos de referencia con un nivel de confianza del 95%. Los valores medios de PROT-T, ALB y GLO fueron ligeramente superiores con relación al rango de referencia utilizado en el laboratorio. En tanto, que el Ca y la AST, presentaron concentraciones altamente superiores. Los niveles de URIC, COL y Pi se encontraron dentro de la normalidad (17).

Tabla 2. Media, desvío estándar e intervalos de referencia con un 95% de confianza de los analitos estudiado en Rustipollos.

Analito	N	Media $\pm$ DE	IR (LIR LSR)
Perfil proteico			
Proteína total	52	49 $\pm$ 10,3	35-76
Albumina	52	21 $\pm$ 5,3	10-32
Globulina	52	28 $\pm$ 9,6	14-54
Perfil renal			
Ácido úrico	52	429 $\pm$ 232	63-960
Perfil lipídico			
Colesterol	52	3,6 $\pm$ 1,	1,8-7,2
Perfil muscular			
AST	52	270 $\pm$ 141	111-726
Perfil mineral			
Calcio	52	5,1 $\pm$ 1,3	2,1-7,5
Fosfato inorgánico	52	1,0 $\pm$ 0,8	0,2 3,4

N: Cantidad de muestras; DE: Desvío Estándar; IR: Intervalo de referencia; LIR: Límite Inferior de Referencia; LSR: Límite Superior de Referencia.

La gran mayoría de las proteínas circulantes en el plasma son sintetizadas por el hígado, a excepción de las inmunoglobulinas (18). Las principales proteínas plasmáticas son las albúminas, globulinas y el fibrinógeno. Están envueltas en múltiples funciones, tales como el mantenimiento de la presión osmótica, viscosidad de la sangre, transporte de nutrientes, metabolitos, hormonas, productos de excreción, regulación del pH sanguíneo y participación en la coagulación sanguínea (19).

En un estudio (20), comparando perfiles bioquímicos de gallinas indígenas de la India y pollos parrilleros, encontraron diferencias significativas en los valores de PROT-T, ALB y GLO. En el grupo de gallinas indígenas los valores medios de PROT-T, ALB y GLO fueron superiores con relación a la línea parrillera indicando que el incremento en las concentraciones de PROT-T podría deberse a la presencia de estrógenos, teniendo en cuenta que las aves fueron muestreadas en etapas cercanas a la madurez sexual. Los autores destacan además, que el aumento en la concentración de GLO podría relacionarse con una mayor resistencia a las enfermedades. Por otra parte, en otro estudio (9) caracterizaron el perfil hematológico y bioquímico de aves de chacra o criollas del Perú en relación a una línea genética, hallaron el mayor valor de PROT-T en las gallinas criollas de crianza extensiva con relación a pollos parrilleros, relacionada probablemente con el alto desafío que reciben las primeras en su medio ambiente natural, representando un mecanismo junto con el de la selección genética natural, para fortalecer al sistema de defensa de tal manera que estas son más resistentes a las infecciones que los pollos mejorados (21). Además, analizando valores hematológicos, bioquímicos y electrocardiograma en gallinas nativas de Kashmir (6), se encontraron incrementos en la concentración de PROT-T, ALB y GLO en relación al sexo, siendo mayores en hembras que en machos. Las diferencias observadas podrían atribuirse a la mayor cantidad de hembras muestreadas y a la influencia del estrógeno, como se había mencionado anteriormente.

Los resultados reportados en las investigaciones descritas, son similares a los hallados en la población Rustipollos, pudiendo estar relacionado con el mayor número de hembras muestreadas y que las mismas, se encontraban en edad reproductiva. Destacando que estos animales son considerados resistentes a enfermedades infecciosas, por no recibir ningún plan de vacunación y presentar bajas tasas de mortalidad, pudiendo reflejarse esto en la concentración de globulina reportada.

El ácido úrico es el principal producto de desecho nitrogenado de las aves (22). Es sintetizado predominantemente en el hígado y una pequeña parte en los túbulos renales. Aproximadamente el 80 a 90% es secretado en forma activa en los túbulos contorneados proximales normalmente en las aves (23). Sus concentraciones aumentan cuando hay daño a nivel renal, reduciendo su eliminación (4).

En un estudio del efecto de tres sistemas de crianza sobre los parámetros sanguíneos y respuesta inmunológica en cuatro variedades de gallinas indígenas de Assel (7). Se observó un valor superior del URIC en una variedad de gallinas indígenas, manifestando que dicha diferencia podría ser atribuible al factor genético. En tanto, determinaron los niveles de los componentes séricos en pollos parrilleros de tres diferentes edades. Encontrando que los valores de URIC fueron más altos en aves jóvenes de 21 días de edad, con relación a aves de 35 y 42 días (24). Estos resultados, concuerdan con el valor de proteína suministrado en la fase inicial de la producción. En ese sentido, en una investigación en pavos (25) se encontró una relación directa entre la cantidad de proteína ingerida y la concentración sérica de URIC. Las diferencias encontradas en el valor de URIC con relación a este trabajo, podría estar asociada al grupo genético, tipo de alimentación y estado de hidratación de las aves (26).

El colesterol se encuentra en todos los tejidos animales, siendo el componente principal de todas las membranas, además es precursor de hormonas esteroideas, la vitamina D y ácidos biliares (27). El metabolismo del colesterol en las aves es comparable con los mamíferos. Sin embargo, elevaciones de este componente no siempre estarán relacionadas con condiciones patológicas (18).

En ese sentido, se reportaron diferencias en las concentraciones de COL en gallinas indígenas con relación a pollos parrilleros (20). Siendo reportados en una investigación (2) valores elevados en las medias de la concentración sanguínea de triglicéridos y colesterol en aves jóvenes. Los pollos de engorde de 21 días tenían mayores concentraciones de COL debido a la demanda de energía causada por un mayor desarrollo corporal a esta edad. Resultados similares fueron encontrados en pollos parrilleros (24) con variaciones en la concentración de COL en función a la edad, siendo los valores más altos en pollos de 21 días. Esto se explica por la baja movilización de estos constituyentes por los tejidos y aumento de la síntesis hepática (26).

La concentración de COL en los Rustipollos, se encontró dentro del rango de referencia (17), pero

fue inferior a hallados en los trabajos anteriormente mencionados, estando influenciado quizás por la edad de las aves.

La AST tiene amplia distribución en los tejidos de las aves, presentando elevada actividad en varios órganos y tejidos, principalmente en el corazón, hígado, musculatura esquelética, riñón y cerebro (4). Actualmente se considera que la actividad sérica de la AST es un indicador muy sensible pero no específico de enfermedad hepatocelular en otras aves, y se usa con la creatinquinasa (CK) enzima específica del músculo para diferenciar entre el daño hepático y muscular (22).

Valores inferiores de AST, con relación a este trabajo, fueron reportados en gallinas ponedoras de la línea Dekalb influenciado por condiciones climáticas (4) y ponedoras de la línea Hisex brown en fase de prepico y en pico de producción (28). Las diferencias encontradas se relacionan de manera directa con la alimentación, teniendo en consideración que durante el pico de postura la producción de huevos alcanza porcentajes superiores al 90%, siendo probablemente el período en que la demanda de nutrientes se vuelve más elevada, principalmente el nivel de aminoácidos, para atender el máximo potencial de producción de las aves (29). Sin embargo, el incremento de la ración se realiza en el periodo prepico de producción para estimular a las aves. De esta manera, el tejido hepático es altamente exigido para metabolizar parte de los nutrientes provenientes de la dieta, ocasionando lisis de las células hepáticas y, consecuentemente, la extravasación de sus componentes intracelulares, aumentando la actividad sérica de AST. La mencionada enzima está presente muchos tejidos, siendo un indicativo de daños en tejidos blandos, especialmente tejidos cardíacos y hepáticos (30).

Valores superiores de AST fueron encontrados en pollos parrilleros de la línea Cobb con miopatía dorsal crónica (31). En otra investigación utilizando pollos de la línea HYBRO PG (24), se demostró que la actividad de AST se incrementaba con la edad. El autor menciona que este aumento, posiblemente se deba al intenso metabolismo hepático y al importante desarrollo muscular que generalmente ocurre durante este período. Destaca además, que el alimento suministrado a las aves no fue analizado en busca de micotoxinas, lo que también puede influir la actividad de AST y con frecuencia está presente en granjas avícolas.

En ese sentido, en una investigación en pollos de engorde se estudio la eficacia de la N-acetilcisteína para reducir los efectos de la intoxicación con

aflatoxina B1(32), demostrando que la aflatoxina B1 incrementaba la actividad de la AST en un 65%. Similares resultados fueron descritos analizando variaciones de los parámetros bioquímicos clínicos de gallinas ponedoras y pollos de engorde, que recibieron alimentos que contenían aflatoxina, variando la concentración según la cantidad de toxinas inoculadas en los alimentos (33).

La elevada actividad de AST encontrada en la población Rustipollos podría indicar daño hepatocelular, pero al ser poco específica y estar presente en varios órganos y tejidos, sería necesario estudiaren conjunto con la enzima CK, de manera a diferenciar entre daño hepático y muscular. Otra causa del incremento enzimático, podría ser la edad de las aves y la presencia de micotoxinas, teniendo como antecedentes los trabajos mencionados anteriormente.

Los electrolitos monovalentes como el sodio, potasio y cloro ejercen funciones muy específicas en el equilibrio ácido-base. Estos electrolitos acompañados de minerales en su forma iónica como el calcio, el magnesio, el fósforo y las proteínas plasmáticas desempeñan un papel importante en la síntesis proteica en los tejidos, en el mantenimiento de la homeostasis intra y extracelular, del potencial eléctrico de las membranas celulares, en la regulación de la presión osmótica, así como el funcionamiento del sistema nervioso (34).

En pollos de engorde bajo estrés calórico crónico determinaron los cambios en la bioquímica sanguínea y la concentración plasmática de corticosterona en pollos de engorde (11). Demostrando que los pollos criados en galpón con ambiente controlado y sometidos al efecto del estrés calórico crónico ($30 \pm 1^\circ\text{C}$) presentaron menores concentraciones de calcio que las aves criadas con la temperatura ambiental del piedemonte amazónico ($29,87 \pm 7,51^\circ\text{C}$). Las concentraciones inferiores de la calcemia y fosfatemia de los pollos de engorde en las condiciones de estrés calórico crónico posiblemente sean consecuencia de la disminución del consumo de alimento ocasionado por la condición ambiental y como respuesta del ajuste homeostático realizado por el organismo animal en las condiciones climáticas estresantes (35).

En una investigación en gallinas ponedoras en las últimas fases de producción de huevos analizaron los metabolitos bioquímicos, reportando que la concentración del calcio se incrementaba con la edad. En tanto, que la fosfatemia disminuía con el pasar del tiempo (36).

Resultados similares, fueron hallados en

gallinas locales de diferentes edades y sexo, encontrando el mismo comportamiento con relación a la calcemia y fosfatemia (37); en ponedoras bajo diferentes sistemas de producción determinando concentraciones elevadas de calcio y disminuidas de fósforo en aves adultas (38) y en gallinas ponedoras suplementadas con *Panax ginseng* donde se reportó que a medida que aumentaba la edad, se incrementaban los niveles de calcio y fósforo (13).

El calcio es principalmente necesario para la osificación de los huesos, la regulación de la actividad muscular, catalización de las enzimas y el sistema hormonal. El aumento de las concentraciones de calcio con la edad puede deberse a la mayor secreción de hormonas esteroides. Las hormonas esteroides están implicadas en la regulación del metabolismo del calcio en las gallinas ponedoras a través de varios modos de acción (36).

Las concentraciones de calcio dependen del ciclo reproductivo, el sexo y posiblemente la temporada. Se deben establecer intervalos de referencia separados para cada una de estas variables para una evaluación clínica precisa de los valores de calcio. La absorción, excreción y la compartimentación afectan todos los aumentos y disminuciones en el calcio plasmático. Los estados de enfermedad que afectan el tracto reproductivo, renal y digestivo, así como los trastornos nutricionales severos pueden cambiar la concentración de calcio (22).

Los factores relacionados con el clima, el tipo de alimentación y el manejo pueden influir en los resultados, imposibilitando el uso de valores de referencia determinados en otros países. Por esta razón, es importante la determinación de parámetros bioquímicos para cada región (39).

CONCLUSIÓN

Los datos obtenidos podrían utilizarse como referencia para futuros trabajos, siendo necesario el establecimiento de intervalos de referencia en diferentes categorías, en dicha población local.

BIBLIOGRAFÍAS

1. Zhou WT, Fujita M, Yamamoto S. Thermoregulatory responses and blood viscosity in dehydrated heat-exposed broilers (*Gallus domesticus*). (Revista Internet). J. Therm. Biol. (UK). 1999; 24(3): 185-192.
2. Café MB, Rinaldi FP, Morais HR, Regina M, Mattos BDe. Biochemical blood parameters of broilers at different ages under thermoneutral environment. [presentación poster]. Worlds Poult Sci J. Salvador, Bahia. 2012.

3. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación. Special programme for food security. Diversification component. Roma: FAO; 1997.
4. De Sousa Barbosa T, Mori CK, Polônio LB, Ponsano EHG, Ciarlini PC. Perfil bioquímico sérico de galinhas poedeiras na região de Araçatuba, SP. Semina: Ciencias Agrarias (Londrina). 2011; 32(4): 1583-1588.
5. Oluwadiya BO, Adeyemi OA, Olukomaiya OO, Obasa OA, Bello KO. Blood biochemical parameters and bacterial load in the gastrointestinal tract of broiler chickens raised under intensive and semi-intensive management systems. J. Trop. Agric (IN). 2017; 94(4): 382-395.
6. Pampori ZA, Saleem I. Haematology, serum chemistry and electrocardiographic evaluation in native chicken of Kashmir. Int. J. Poult. Sci. (Pak). 2007; 6(8): 578-582.
7. Rehman MS, Mahmud A, Mehmood S, Pasha TN, Hussain J, Khan MT. Blood biochemistry and immune response in Aseel chicken under free range, semi-intensive, and confinement rearing systems. Poult Sci. (UK). 2017; 96(1): 226-233.
8. Dutta R, Islam S, Kabir A. Haematological and biochemical profiles of Gallus Indenous, Exotic and Hybrid chicken breeds (Gallus Domesticus L) from Rajshahi, Bangladesh. Bang. J. of Zool (IN). 2013; 41(2): 135-144.
9. Paredes D, Valencia T, Saavedra H. Perfiles hematológicos y bioquímicos de Gallus gallus domesticus bajo sistemas de crianza extensivo y en confinamiento en condiciones de trópico. RevIA (Lima) 2016; 5(1): 50-54.
10. Díaz López EA, Uribe Velásquez LF, Narváez Solarte W. Bioquímica sanguínea y concentración plasmática de corticosterona en pollo de engorde bajo estrés calórico. Rev. Med. Vet. (Bogotá). 2014.; 28: 31-42.
11. Duwa H, Oyawoye EO, Njidda AA. Haematological Resoponses and Serum Biochemical Indices of Broilers Fed Differently Processed Sorrel Seed (Hibiscus Sabdariffa) Meal in Semi-Arid Region of Nigeria. British. Poult. Sci.(UK). 2012; 1(1): 5-10.
12. Bubel F, Dobrzański Z, Gaweł A, Pogoda-Sewerniak K, Grela ER. Effect of humic-plant feed preparations on biochemical blood parameters of laying hens in deep litter housing system. . Pol. J.Vet. Sci.(Ger). 2015; 18(1), 131-139.
13. Catalan A, Avila V, Lopes L, Montagner P, Vargas G, Xavier E, Roll, V. Perfil metabólico, hematológico e comportamental de Poedeiras suplementadas com Panax Ginseng.. Arch. Zoot. (Co, Esp.). 1997; 62(237): 89-100.
14. Hurtado-Ramírez LL, Paredes-López D, Robles-Huaynate R. Efecto de la torta de Sacha inchi (plukenetia volúbilis l.) en el perfil bioquímico sanguíneo e histopatología del hígado de aves de postura. Ciencia Amazonica (Per). 2014; 4(1): 60-66.
15. Dirección General de Estadística, Encuestas y Censos. Anuario Estadístico del Paraguay 2015. DGEEC (Paraguay); 2017.
16. Garcia A. Bioquímica em aves: revisão de literatura. [monografía en internet]. Goiânia: Escuela de Veterinaria y Zootecnia. 2013. [acceso 15 de diciembre de 2017]. Disponible en https://ppgca.evz.ufg.br/up/67/o/2013_Laura_Vila_2c orrig.pdf
17. González F, Scheffer J. Perfil Sangüíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. [monografía en internet]. Río Grande do Sul: Faculdade de Veterinaria. 2003. [acceso 2 de febrero de 2018]. Disponible en <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/13177 /000386508.pdf>
18. Kalita D, Sultana R, Roy M, Bharali, K. Comparative study of certain biochemical profile of broiler and indigenous chicken of Assam. Appro Poult Dairy & Vet Sci. (NY). 2018; 2 (4): 1-3.
19. Oluyemi JA, Adene DF, Ladoye GO. A comparison of the Nigerian indigenous fowl with white rock under conditions of disease and nutritional stress. Trop. Anim. Health Prod. 1979; 11(1), 199-202.
20. Harr K. Diagnostic value of biochemistry. En: Harrison G, Lightfoot, T. Clinical Avian Medicine. Brentwood: BioOne 2006. p. 611-629
21. Capitelli R, Crosta L. Overview of Psittacine Blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected Psittacine Species. Vet. Clin. North. Am. Exot. Anim. Pract. 2013; 16(1), 71-120.
22. Silva P, Freitas Neto O, Laurentiz A, Junqueira O, Fagliari J. Blood serum components and serum protein test of Hybro-PG broilers of different ages. Rev. Bras. Ciênc. Avíc.(Campinas). 2007; 9(4): 229-232.
23. Szabó A, Mézes M, Horn P, Sütő Z, Bázár G, Romvári R. Developmental Dynamics of Some Blood Biochemical Parameters in the Growing Turkey (Meleagris Gallopavo). Acta Vet. Hung. (HU). 2005; 53(4): 397-409.
24. Kaneko J, Harvey J, Bruss M. Clinical biochesmestry of domestic animals. 6a ed. New York: Academic Press; 2008.
25. La Torre. Perfil bioquímico sanguíneo de pollos criollos y pavipollos criados en altura. Perú: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; 2017.
26. Gonçalves F, Ribeiro É, Montagner P, Lopes M, Anciuti M, Gentilini F, Del Pino F, Corrêa M. Níveis séricos de enzimas hepáticas em poedeiras comerciais no pré-pico e pico de produção de ovos. Acta Sci. Vet. (Rio Grando do Sul). 2010; 30 (3): 311-314.

27. Jordão Filho J, Da Silva J, Da Silva E, Ribeiro M, Costa F, Rodrigues P. Exigência de lisina para poedeiras semipesadas durante o pico de postura. *Rev. Bras. Zoot.* (Vicos). 2006.; 35(4 Suppl.):1728–1734.
28. Bonel-Raposo J, Gevehr-Fernandes C, Baialardi C, Driemeier D. Observações clínicas e bioquímicas em ovinos e bovinos intoxicados experimentalmente por *Myoporum laetum*. *Acta Sci. Vet.*(Rio Grande do Sul). 2004; 32(1):9–17.
29. Amaral P, Zimmermann C, Santos L, Noro M, Prá M, Pilotto P, Rodrigues L, Dickel E. Evaluation of Physiological Parameters of Broilers with Dorsal Cranial Myopathy. *Braz. J. Poult. Sci.* (Campinas). 2017; 19 (1):69-74.
30. Valdivia A, Martinez A, Damian F, Quezada T, Ortiz R, Martinez C, Llamas J, Rodriguez M, Yamamoto L, Jaramillo F, Loarca-Piña M, Reyes, J. Efficacy of N-Acetylcysteine to Reduce the Effects of Aflatoxin B1 Intoxication in Broiler Chickens. *Poult. Sci.* (UK). 2001; 80(6): 727–734.
31. Fernandez A, Verde M, Gascon M, Ramos J, Gomez J, Luco D, Chavez G. Variations of clinical biochemical parameters of laying hens and broiler chickens fed aflatoxin-containing feed. *Avian Pathol.*(Ger). 1994. ;23(1), 37–47.
32. Olanrewaju H, Wongpichet S, Thaxton J, Dozier W, Branton S. Stress and acid-base balance in chickens. *Poult. Sci.* (UK). 2006.; 85(7), 1266–1274.
33. Klasing K. Comparative avian nutrition. Londres: Cab International; 1998.
34. Kashap A, Ambade R, Dalvi S, Kapale P. Study of Serum Biochemical Metabolites during Late Laying Phase of Layer Chicken. *Indian Res. J. Ext. Edu.*(IND). 2017; 5-9.
35. Albokhdaïm I, Althnaian T, El-Bahr S. Investigation of selected biochemical parameters of local chickens with different age and sex in Al-ahsa, Saudi Arabia. *Pak. J. of Biol. Sci.* (Pak). 2012; 15 (17): 827-832.
36. Pavlík A, Lichovnicková M, Jelínek P. Blood plasma mineral profile and qualitative indicators of the eggshell in laying hens in different housing systems. *Acta Vet. Brno.* (CZ). 2009; 78(3): 419–429.
37. Borsa A, Kohayagawa A, Boretti L, Saito M, Kuibida K. Níveis séricos de enzimas de função hepática em frangos de corte de criação industrial clinicamente saudáveis. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* (Minas Gerais). 2006; 58(4): 675–677.