

Creatinine used as an indicator of urinary excretion in Nelore cattle [□]

Uso de la creatinina como indicador de la excreción urinaria en bovinos Nelore

Uso da creatinina como indicador da excreção urinária em gado Nelore

Sandra L Posada^{1*}, Zoot, MSc; Ricardo R Noguera¹, Zoot, PhD;
Norberto M Rodríguez², Bioquim, PhD; Ana L Borges², MV, PhD.

¹Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias-GRICA, Facultad de Ciencias Agrarias,
Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia.

²Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais,
CEP 31270-901, Belo Horizonte, Brasil.

(Recibido: 17 septiembre, 2010; aceptado: 23 mayo, 2011)

Summary

*Urinary excretion is fundamental for the understanding of several variables related to ruminant nutrition. The total collection of urine from grazing animals is a complex and difficult procedure, while in confined animal it requires the installation of funnels or urinary catheters that generate discomfort along with an increased risk of injury. Objective: the aim of this study was to validate the predictive ability of urine creatinine on urine output, in comparison with the total collection method. **Methods:** five Nelore animals were used. Animals were kept in confinement conditions and were offered feed and water ad libitum. The total volume of urine produced, determined by total collection in metabolic cages was compared with the estimated production calculated from creatinine excretion. Spot samples collected four hours after feeding the animals were analyzed for creatinine concentration during four experimental periods. **Results:** the statistical significance of paired t-test and the trend of the regression slope in the Bland-Altman analysis allow concluding that creatinine excretion, under our experimental conditions, was not an adequate predictor of urine volume. **Conclusions:** creatinine concentration in spot samples can be considered as the critical factor in this methodology due to the common diurnal variations of urine output and, therefore, the variations in the excretion of the metabolite.*

Key words: creatinine ratio, creatinine concentration, spot samples, urine volume.

□ Para citar este artículo: Posada SL, Noguera R, Rodríguez NM, Borges AL. Uso de la creatinina como indicador de la excreción urinaria en bovinos Nelore. Rev Colomb Cienc Pecu 2012; 25:56-63.

* Autor para correspondencia: Sandra L Posada. Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias, Medellín (Colombia), Cra 75 #65-87. E-mail: slposada@gmail.com

Resumen

*El conocimiento de la excreción urinaria es necesario para la determinación de diversas variables contempladas en la nutrición de rumiantes. Con animales en pastoreo, la recolección total de la orina representa un procedimiento complejo; y en confinamiento, demanda la instalación de embudos o sondas urinarias, que generan incomodidad y aumentan el riesgo de lesiones. **Objetivo:** el objetivo de este trabajo fue validar la capacidad de predicción de la producción urinaria a través de la excreción de creatinina, con respecto a la determinación realizada vía recolección total. **Métodos:** cinco cebuinos criados en régimen de confinamiento, recibiendo alimento y agua ad libitum, fueron empleados. La producción total de orina, determinada mediante recolección total en jaula metabólica, fue comparada con la producción estimada desde la excreción de creatinina. Muestras spot fueron recolectadas cuatro horas después de la alimentación y analizadas para concentración de creatinina durante cuatro fases experimentales. **Resultados:** la significancia estadística de la prueba t pareada y a la tendencia registrada por la pendiente de regresión en el análisis de Bland-Altman, permiten concluir que la excreción de creatinina, bajo nuestras condiciones experimentales, no predijo adecuadamente el volumen urinario. **Conclusiones:** la concentración de creatinina en la muestra spot se considera el punto crítico de la metodología por las variaciones diurnas que se registran en la producción urinaria y, por tanto, en la excreción del metabolito.*

Palabras clave: coeficiente de creatinina, concentración de creatinina, muestras spot, volumen urinario.

Resumo

*O conhecimento da excreção urinária é necessário para o estabelecimento de diversas variáveis listadas na nutrição de ruminantes. Com animais em pastejo, a coleta total de urina é um procedimento complexo, e em confinamento, requer a instalação de funis ou de cateteres urinários, o que gera desconforto e aumenta o risco de lesões. **Objetivo:** o objetivo deste estudo foi validar a capacidade preditiva da produção urinária através da excreção de creatinina, respeito a determinação feita por meio da coleta total. **Métodos:** cinco animais zebus criados em confinamento, recebendo alimento e água ad libitum, foram usados. A produção total de urina, medida pela coleta total em gaiolas metabólicas, foi comparada com a produção estimada desde a excreção de creatinina. Amostras spot foram coletadas quatro horas após alimentação e analisadas para concentração de creatinina durante quatro fases experimentais. **Resultados:** a significância estatística da prova t pareada somada à tendência registrada pela pendente de regressão na análise de Bland-Altman, permitem concluir que a excreção de creatinina, sob nossas condições experimentais, não prediz adequadamente o volume urinário. **Conclusões:** a concentração de creatinina na amostra spot se considera o ponto crítico da metodologia pelas variações diurnas que se registram na produção urinaria e, portanto, na excreção do metabolito.*

Palavras chave: coeficiente de creatinina, concentração de creatinina, amostras spot, volume urinário.

Introducción

El conocimiento de la excreción urinaria se torna necesario para la determinación de diversas variables contempladas en la nutrición de rumiantes, como son el balance de nitrógeno, el valor de energía metabolizable de la dieta y la síntesis de proteína microbiana a partir de la excreción de derivados de purina. Cuando las investigaciones son realizadas con animales confinados, especialmente machos, y mantenidos en jaulas metabólicas, la recolección total de orina representa un procedimiento relativamente simple, no obstante, la situación se torna más compleja cuando se trata de animales en pastoreo. Aun trabajando en régimen de

confinamiento, el uso de embudos en los machos y sondas o catéteres en las hembras aumenta el riesgo de presentación de lesiones urogenitales y puede incomodar a los animales. Por tanto, es fundamental el estudio de metodologías que tornen innecesaria la recolección total de orina, permitiendo estimar la producción urinaria de forma rápida, rutinaria y no invasiva. Un gran avance es la posibilidad de estimar el volumen urinario a partir de la excreción de creatinina utilizando muestra *spot*, conforme fue descrito por Mendonça *et al.* (2006). El objetivo de este trabajo fue validar la capacidad de predicción de la producción urinaria a través de la excreción de creatinina en muestras *spot*, con respecto a la determinación realizada vía recolección total.

Materiales y métodos

Los datos utilizados en este trabajo provienen de un experimento de estimación de exigencias energéticas en ganado cebú realizado durante cuatro períodos diferentes. Cada período correspondió a intervalos de peso de 100 kg, obteniendo información desde los 200 kg hasta los 500 kg, aproximadamente. La determinación del volumen urinario permitió conocer el contenido de energía metabolizable de las raciones.

Localización

El experimento fue conducido en el Laboratorio de Metabolismo y Calorimetría Animal de la Escuela de Veterinaria de la Universidad Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte (Brasil). La ciudad de Belo Horizonte está situada a 900 msnm, posee una temperatura media de 23 °C, humedad relativa del 65% y precipitación promedio anual de 1600 mm, tratándose de un clima tropical de altitud según la clasificación de Köppen (Inzunza, 2005).

Animales e instalaciones experimentales

Cinco cebuínos enteros de raza Nellore, con peso vivo medio inicial de 180 kg, fueron mantenidos en confinamiento, en galpón cubierto, ocupando vallas de 2 x 1.5 m, con piso de concreto revestido de tapete, comederos y bebederos individuales.

Alimentación

La dieta estuvo constituida por heno de Tifton 85 (*Cynodon spp.*), suplemento concentrado a base de maíz y torta de soya y sal mineralizada comercial. La proporción forraje-concentrado varió en función de la edad de los animales, buscando una composición nutricional que permitiera obtener ganancias medias próximas a 700 g/animal/día, de acuerdo con las recomendaciones de Valadares *et al.* (2006). La composición porcentual de la ración y su descripción química en los diferentes períodos experimentales se presenta en la tabla 1.

Tabla 1. Composición porcentual y descripción química de la ración, expresadas como porcentaje de la materia seca

Ingredientes ¹	Período			
	1	2	3	4
Heno (<i>Cynodon spp.</i>)	60	60	70	80
Maíz	20	25	18	10
Torta de soya	20	15	12	10
Composición química²				
MS	89.73	88.87	89.62	90.11
PB	14.49	15.13	11.82	14.45
EE	1.58	2.40	2.17	2.06
MI	5.42	5.80	6.47	6.37
FDN _p	55.51	48.40	56.72	65.08
FDA	27.31	22.15	27.68	32.09
Lignina	3.13	1.90	2.84	2.85
CHO _t	78.52	76.67	79.54	77.12
CNE	23.01	28.27	22.82	12.03
EB (Kcal/kg MS)	4539.12	4392.53	4426.36	4504.98

¹LBalances minerales, de acuerdo con las recomendaciones de Valadares *et al.* (2006), determinaron la cantidad de sal mineralizada garantizada. Composición por kilogramo: 160 g calcio, 60 g fósforo, 110 g sodio, 10 g magnesio, 50 g azufre, 82 mg cobalto, 800 mg cobre, 120 mg yodo, 3600 mg manganeso, 27 mg selenio, 5200 mg zinc, 4700 mg hierro, 600 mg (máx) de flúor

²MS=materia seca, PB=proteína bruta, EE=extracto etéreo, MI=material inorgánico, FDN_p=fibra detergente neutra corregida para proteína, FDA=fibra detergente ácida, CHO_t=carbohidratos totales, CNE=carbohidratos no estructurales, EB=energía bruta

El alimento fue suministrado *ad libitum* dos veces al día, a las 8 y 17 horas, en la forma de ración completa. La cantidad de alimento era diariamente ajustada permitiendo sobras entre 5 y 10% de lo ofrecido. La ración fue la misma para todos los animales, variando sólo las cantidades garantizadas de acuerdo con el manejo previamente expuesto. El agua de bebida también fue garantizada *ad libitum*.

Recolección de orina y estimación del volumen urinario

La producción total de orina en todos los animales fue directamente determinada por recolección total de 24 horas, utilizando para ello jaula metabólica, adaptada con bandeja receptora y lona plástica que sirvió de embudo. Al término de las 24 horas, el volumen total de orina fue cuantificado utilizando probeta graduada.

La estimación del volumen urinario se realizó a partir de la excreción urinaria de creatinina, el mismo día de realización de la recolección

total. Las muestras de orina fueron obtenidas mediante micción espontánea o estimulación, aproximadamente cuatro horas después de la alimentación de la mañana (12 h) (muestra *spot*). De las muestras de orina obtenidas, se tomó una alícuota de 5 ml que fue almacenada en recipiente plástico debidamente identificado, conteniendo 45 ml de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 0.036N, y posteriormente conservada a -10 °C. Al final del experimento, la orina fue descongelada a temperatura ambiente y analizada para creatinina con uso de kit comercial (Labtest), por el método de punto final, con utilización de picrato y acidificante.

El volumen estimado de orina (Ve), expresado en litros (L), fue determinado a partir de la fórmula descrita por Valadares *et al.* (1999): $Ve = \text{Peso vivo (kg)} * \text{Coeficiente de creatinina (mg/kg de PV/día)} / \text{Concentración de creatinina en la muestra spot (mg/L)}$. El coeficiente de creatinina (tasa diaria de excreción de creatinina) indicado por los autores fue de 29 mg/kg PV para vacas Holstein. El coeficiente de creatinina utilizado en el presente trabajo fue el reportado por Rennó *et al.* (2008) en ganado cebú, correspondiente a 27.04 mg/kg PV. El peso vivo del animal (kg) fue registrado al ingreso y salida de la jaula metabólica y con base en los dos valores se estableció un valor medio.

Análisis estadístico

Las concentraciones de creatinina (mg/dL) de la muestra *spot*, en los cuatro períodos experimentales, fueron analizadas bajo un diseño mixto de medidas repetidas en el tiempo, donde el período de medición representó el efecto fijo y el animal, el

efecto aleatorio. Análisis de estadística descriptiva, incluyendo media y desviación estándar, complementaron la información.

La validación de la excreción de creatinina, como metodología alterna para estimar el volumen urinario, respecto la recolección total de orina, como metodología de referencia, fue realizada a través del método de Bland-Altman, que incluyó la graficación de la media de medidas pareadas (eje *x*) contra sus diferencias (eje *y*). El intervalo de confianza alrededor de la media de las diferencias fue calculado (media de las diferencias $\pm 1.96 \times$ Desviación estándar de las diferencias) y sobrepuesto sobre el gráfico. Posteriormente se efectuó análisis de regresión para las diferencias (*y*) y los promedios (*x*) entre ambas metodologías, con el fin de evaluar la significancia estadística de la pendiente (Altman y Bland, 1983). Igualmente fue realizada una prueba *t* pareada para verificar si la media de la diferencia entre las observaciones pareadas de las dos metodologías fue significativa, adoptando 5% como nivel crítico de probabilidad para el error tipo I. La información fue procesada utilizando el programa estadístico SAS (2001).

Resultados

Los promedios de concentración de creatinina y su respectiva desviación estándar en los diferentes períodos experimentales se presentan en la tabla 2. Se observa que el valor obtenido en el período 4 fue estadísticamente diferente ($p < 0.05$) de los registrados en los períodos 1, 2 y 3.

Tabla 2. Peso vivo y concentración de creatinina en muestras *spot* de orina durante cuatro períodos experimentales

Ítem ¹	Período							
	1		2		3		4	
	Prom. ²	DE ²	Prom.	DE	Prom.	DE	Prom.	DE
Peso vivo (kg)	216.4	16.68	322.10	14.17	391.80	25.79	473.60	25.86
Concentración de creatinina (mg/dL)	89.87a	32.33	111.77a	10.37	137.46a	27.21	167.04b	90.41

¹Promedios sin letra común presentan diferencia estadística ($p < 0.05$).

²Prom = promedio; DE = desviación estándar.

En la prueba de intercambiabilidad de Bland-Altman fue incluida la producción de orina estimada desde la excreción de creatinina y la producción de orina real del respectivo día (en L) ($n=20$) (Figura 1). En general, las diferencias estuvieron a favor del volumen estimado en relación con el real, una vez que la mayoría de los puntos estuvieron por debajo del valor cero en el eje de las abscisas. Las diferencias aumentaron a medida que se incrementó el promedio de volumen urinario registrado. En el análisis de regresión para las diferencias (y) y los promedios (x), la pendiente de regresión tendió a ser estadísticamente significativa ($p = 0.0537$). Esta tendencia en la pendiente estaría indicando que la excreción de creatinina no logró predecir el volumen urinario real registrado en este trabajo. La prueba t pareada confirmó la anterior afirmación, toda vez que la media de la diferencia entre las observaciones pareadas fue altamente significativa ($p=0.0128$). Los valores promedio y la desviación estándar del volumen urinario real y del estimado a partir de la excreción de creatinina fueron 6.4710 (± 3.4717) y 8.8780 (± 5.0246) L, respectivamente.

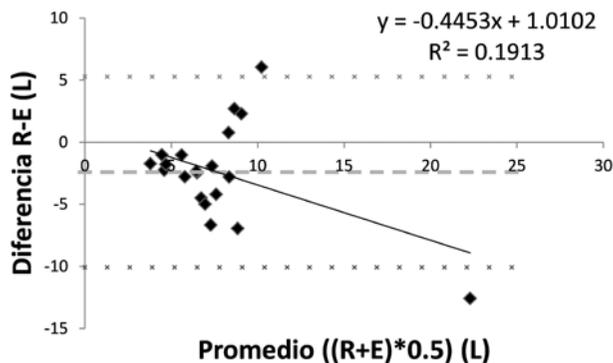


Figura 1. Análisis de Bland-Altman entre el volumen urinario real (R) y el estimado (E) desde la excreción de creatinina, en litros (L). La línea central corresponde a la media de las diferencias (-2.41 L). Las líneas superior e inferior delimitan el intervalo de confianza para una probabilidad del 95% (entre -10.09 y 5.27 L).

Discusión

La creatinina es formada en el músculo, a tasas relativamente constantes, por la remoción de agua de la creatina-fosfato (Harper *et al.*, 1982). Tratándose de un producto metabólico no utilizado para la formación de nuevas moléculas, la creatinina es eliminada por los riñones y la cantidad diaria excretada es notablemente constante en relación al

peso corporal (Broderick *et al.*, 2000; McDonald *et al.*, 2004). Con estas premisas, el coeficiente de creatinina se refiere a la cantidad de creatinina excretada durante 24 horas en relación con el peso corporal (Rebhan y Donker, 1960) y representa un índice de la concentración de creatina en los músculos (Kertz *et al.*, 1970).

Conforme la definición de coeficiente de creatinina, su determinación debe basarse en el análisis de muestras de orina resultantes de colectas totales de 24 horas, con el fin de relacionar el volumen total obtenido con la concentración de creatinina y así, cuantificar la excreción total del metabolito por unidad de masa corporal (Whittet *et al.*, 2004; Chizzotti *et al.*, 2008). En el presente trabajo no se determinó el coeficiente de creatinina conforme la anterior descripción, porque la recolección total fue realizada usando jaula metabólica (adaptada con bandeja receptora y lona plástica que sirvió de embudo) y no instalando embudos y arneses, que si bien facilitan la conducción directa de la orina hasta un recipiente colector, interfiere con el bienestar animal. Una vez que las heces eran retenidas en una malla instalada por encima de la lona plástica, la metodología seleccionada hizo que la orina excretada lavara parte de los pigmentos de éstas en su paso hasta la bandeja colectora y contaminara así la colecta total. El protocolo empleado para el análisis de creatinina subraya la interferencia negativa que la bilirrubina puede tener sobre el resultado final de concentración de creatinina, ya que se trata de un procedimiento colorimétrico que utiliza la reacción de Jaffe y que por tanto está sujeto a errores sistemáticos introducidos por la presencia de cromógenos. Dadas las anteriores limitaciones, el coeficiente de creatinina empleado en este trabajo correspondió a 27.04 mg/kg PV, el cual fue propuesto por Rennó *et al.* (2008) para ganado cebú.

Una vez determinada la excreción diaria de creatinina en relación al peso del animal y considerando esta concentración constante a lo largo del día, la literatura (Valadares *et al.*, 1999; Chizzotti *et al.*, 2008, Mendonça *et al.*, 2006) plantea la posibilidad de estimar el volumen urinario de 24 horas sin necesidad de recurrir a la recolección total, para lo cual debe cuantificarse la concentración de

creatinina en una única muestra de orina, denominada muestra *spot*, que se obtiene de un animal de peso conocido cuatro horas después de suministrar el alimento (Barbosa *et al.*, 2006; Mendonça *et al.*, 2006). Los datos del presente trabajo no permitieron validar la excreción de creatinina como elemento predictor del volumen urinario y por tanto sugieren la recolección total como procedimiento experimental. Esta conclusión quedó reflejada en el análisis de Bland-Altman (Figura 1) y en la prueba t pareada, confirmando la discrepancia entre el volumen urinario real y el estimado.

La propuesta matemática que pretende estimar el volumen urinario desde la excreción de creatinina contempla tres variables, peso corporal, coeficiente de creatinina y concentración de creatinina en la muestra *spot*, es importante discernir cuál de ellas interfirió negativamente en el nivel de acuerdo entre la metodología en mención y la recolección total.

El peso corporal fue registrado en dos ocasiones de medida, en días consecutivos correspondientes al ingreso y salida de los animales de la jaula metabólica, lo cual permitió hallar un valor medio que se considera de alta confiabilidad.

El coeficiente de creatinina reportado por la literatura presenta un valor relativamente estable, lo que llevaría a suponer que esta variable no resultó en errores significativos en la estimación de la producción urinaria. Una excreción media diaria de 27.1 mg/kg fue descrita por Barbosa *et al.* (2006) en bovinos Nellore de cuatro categorías, novillas, machos castrados, machos enteros y vacas en lactación. Valores similares, del orden de 27.36, 27.78, 27.99 y 27.76 mg/kg fueron relatados en los trabajos de Rennó *et al.* (2000), Rennó *et al.* (2003), Chizzotti *et al.* (2004) y Rennó *et al.* (2008), respectivamente. Valores inferiores a éstos, de 23.60, 23.41 y 24.0 mg/kg, fueron encontrados, correspondientemente, por Silva *et al.* (2001), Oliveira *et al.* (2001) y Mendonça *et al.* (2004) en experimentos con vacas mestizas Holstein-Cebú, en tanto que Valadares *et al.* (1997) para novillos cebú reportaron una media de 24.04 mg/kg PV/día. Excreciones medias superiores fueron publicadas por Leal *et al.* (2007) (30.56 mg/kg) y Valadares *et al.* (1999) (29 mg/kg) en animales de raza Holstein,

en cuanto rangos de mayor amplitud, entre 27.6 y 37.3 mg/kg, fueron reportados por Lofgreen y Garrett (1954) para novillos Hereford de diferente grado de terminación. A pesar de la poca variabilidad exhibida en estos resultados, se sugiere que en próximos estudios se disponga de valores propios y representativos del experimento en cuestión, máxime cuando la excreción de creatinina pretenda estimar el volumen urinario en animales de diferente edad, considerando los cambios que en la proporción de tejidos (proporción tejido muscular/peso vivo) se registran durante el crecimiento animal.

Con base en las anteriores consideraciones, se concluye que el punto más limitante para la estimación del volumen urinario con base en la excreción de creatinina se refiere a la concentración del metabolito en la muestra *spot*, dada la variabilidad diurna que diversos trabajos reportan en su excreción. Kosloski *et al.* (2005) puntualizaron que si bien la producción de creatinina parece ser constante y proporcional a las concentraciones celulares de creatina y fosfato de creatina, las tasas de filtración glomerular y de producción de orina varían durante el día, lo que genera variaciones en las concentraciones de creatinina. Los mismos autores indicaron que errores en la estimación de la producción urinaria, con base en la excreción de creatinina, pueden darse si muestreos puntuales de orina no son representativos de la orina total excretada, una vez conocida la variación en la tasa de filtración glomerular (volumen de plasma que es filtrado en los riñones, por minuto) a lo largo del día, lo cual se traduce en una relación inversa entre la concentración de creatinina y el volumen de orina (Kertz *et al.*, 1970; Puerta *et al.*, 2004).

Valadares *et al.* (1999) encontraron que la excreción de creatinina durante el intervalo nocturno (17:00 a 5:00 h) fue 5% más alta que durante el intervalo diurno (5:00 a 17:00 h). Estos resultados están de acuerdo con lo reportado por Puerta *et al.* (2004), quienes encontraron diferencia significativa para la excreción de creatinina durante el intervalo nocturno (20:00 a 8:00 h) y el intervalo diurno (8:00 a 20:00 h), la cual expresada en mg/12h y mg/kg de PV/12h, fue 8.9 % y 10% más alta durante el intervalo nocturno. Kozloski

et al. (2005), tomando muestras de orina del recipiente de colecta cada dos horas (descartando la cantidad restante) durante un período de 24 horas, encontraron que la concentración de creatinina varió en los diferentes horarios y estuvo cúbicamente relacionada con el tiempo ($p < 0.01$). Los valores tendieron a ser mayores durante la madrugada y por la mañana, y menores a la tarde e inicio de la noche. Normalmente, la producción de orina tiende a disminuir considerablemente en el período de la noche en función de una mayor reabsorción de agua y electrolitos, determinando, consecuentemente, un aumento en la concentración de creatinina en la orina (Kozloski *et al.*, 2005). Albin y Clanton (1966), trabajando con vacas y novillos Hereford de varias edades y pesos, también observaron variación en la creatinina urinaria en función del tiempo, donde cada muestra de orina representó el promedio de cuatro horas, que fue el intervalo definido para realizar los diferentes muestreos. La muestra *spot* obtenida cuatro horas después de la alimentación y en la cual se cuantifica la concentración de creatinina como elemento predictor del volumen urinario, desconoce la variación diurna. Los anteriores hallazgos permiten concluir que la estimación de la producción urinaria con base en la excreción de creatinina puede ser más confiable si varias muestras puntuales (*spot*) son colectadas en diferentes horarios durante el día para constituir una muestra compuesta representativa de un ciclo de 24 horas.

Los datos de la tabla 2 muestran que la concentración de creatinina aumentó con el transcurrir de los períodos de evaluación, lo que obedece a que la producción diaria de creatina, y consecuentemente, la excreción de creatinina, depende de la masa muscular (masa magra) y, por tanto, es proporcional al peso del animal (Barbosa *et al.*, 2006, Rennó *et al.*, 2008).

En próximos trabajos se sugiere que en algunos animales del grupo experimental sea realizada recolección total de orina libre de contaminación fecal, por 24 horas, con el objetivo de obtener un coeficiente de creatinina representativo del trabajo que pueda extrapolarse a toda la población. La información obtenida también permitiría detectar posibles cambios en la excreción de creatinina relacionados con la edad y su significancia

estadística. Igualmente, se propone la colecta de más muestras *spot* durante un intervalo de 24 horas, cuya frecuencia deberá contemplar la menor interferencia con el bienestar animal.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Proyecto de Sostenibilidad 2009-2010 (CODI, Universidad de Antioquia) y a la Fundación Universitaria San Martín el apoyo económico para la ejecución de este trabajo.

Referencias

- Albin RC, Clanton DC. Factors Contributing to the Variation in Urinary Creatinine and Creatinine-Nitrogen Ratios in Beef Cattle. *J Anim Sci* 1966; 25:107-112.
- Altman DG, Bland JM. Measurement in medicine: The analysis of method comparison studies. *The Statistician* 1983; 32:307-317.
- Barbosa AM, Valadares RFD, Valadares Filho SC, Vêras RML, Leão MI, Detmann E, Paulino MF, Marcondes MI, Souza MA. Efeito do período de coleta de urina, dos níveis de concentrado e de fontes protéicas sobre a excreção de creatinina, de uréia e de derivados de purina e a produção microbiana em bovinos Nelore. *Rev Bras Zootec* 2006; 35:870-877.
- Broderick GA, De Leon N, Nakamura Y. Potential of Fermentation Byproducts as Nitrogen Supplements for Lactating Dairy Cows. *J Dairy Sci* 2000; 83:2548-2556.
- Chizzotti ML, Valadares Filho SC, Valadares RFD, Chizzotti FHM, Tedeschi LO. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. *Livest Sci* 2008; 113:218-225.
- Chizzotti ML, Valadares Filho SC, Valadares RFD, Martins FH, Marcondes MI, Fonseca MA, Porto MO, Pina DS, Leal TL, Silva JM. Excreção de creatinina em novilhos e novilhas. In: *Anais da 41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. Campo Grande: SBZ; 2004 (CD-ROM).
- Harper HA, Rodwell VW, Mayes PA. Manual de química fisiológica. 5a ed. São Paulo: Atheneu; 1982.
- Inzunza JC. Clasificación de los climas de Köppen. *Ciencia Ahora* 2005; 15:1-14.
- Kertz AF, Prewitt LR, Lane AG, Campbell JR. Effect of Dietary Protein Intake on Creatinine Excretion and the Creatinine-Nitrogen Ratio in Bovine Urine. *J Anim Sci* 1970; 30:278-282.
- Kozloski GV, Fiorentini G, Härter CJ, Sanchez LMB. Uso da creatinina como indicador da excreção urinária em ovinos. *Ciênc Rural* 2005; 35:98-102.

- Leal TL, Valadares RFD, Valadares Filho SC, Campos JMS, Detmann E, Barbosa AM, Teixeira RMA, Marcondes MA. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhas. *Rev Bras Zootec* 2007; 36:905-911.
- Lofgreen GP, Garrett WN. Creatinine excretion and specific gravity as related to the composition of the 9, 10, and 11th rib cut to Hereford steers. *J Animal Sci* 1954; 13:496-500.
- McDonald RA, Klopfenstein TJ, Erickson GE, Loy TW, Whittet KM. Effects of Corn Bran and Degradable Protein Source on Microbial Protein Estimated From Spot Urine Samples in Heifers. *Nebraska Beef Cattle Reports*. Animal Science Department. University of Nebraska 2004. [fecha de acceso: febrero 10 de 2011] URL: <http://digitalcommons.unl.edu/animalscibcr/202>
- Mendonça SS, Campos JMS, Valadares Filho SC, Valadares RFD, Soares CA, Lana RP, Queiróz AC, Assis AJ, Pereira MLA. Balanço de compostos nitrogenados, produção de proteína microbiana e concentração plasmática de uréia em vacas leiteiras alimentadas com dietas à base de cana-de-açúcar. *Rev Bras Zootec* 2004; 33:493-503.
- Mendonça SS, Pereira MLA, Assis AJ, Aguiar LV, Carvalho GGP. Estimación da produção de proteína microbiana em ruminantes baseada. *Rev Portuguesa Ciênc Vet* 2006; 101:181-186.
- Oliveira AS, Valadares RFD, Valadares Filho SC, Cecon PR, Rennó LN, Queiroz AC, Chizzotti ML. Produção de proteína microbiana e estimativa das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações isoproteicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-proteicos. *Rev Bras Zootec* 2001; 30:1621-1629.
- Puerta LE, Bolívar DMV, García DE. Uso de la excreción de creatinina como alternativa a la colecta total de orina en vacas Holstein. *Agrodocs*: Centro de documentación en línea. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia 2004 [fecha de acceso: agosto 28 de 2010] URL:http://www.agro.unalmed.edu.co/agrodocs/index.php?link=ver_docs&id=213
- Rebhan HJ, Donker JD. Effect of condition of animal on the creatinine excretion of bovine animals. *Dairy Husbandry Department*. University of Minnesota 1960 [fecha de acceso: enero 12 de 2011] URL:<http://download.journals.elsevierhealth.com/pdfs/journals/00220302/PIIS0022030260903842.pdf>
- Rennó LN, Valadares RFD, Valadares Filho SC, Leão MI, Silva JFC, Cecon PR, Gonçalves LC, Dias HLC, Linhares RS. Concentração plasmática de uréia e excreções de uréia e creatinina em novilhos. *Rev Bras Zootec* 2000; 29:1235-1243.
- Rennó LN, Valadares Filho SC, Paulino MF, Leão MI, Valadares RFD, Rennó FP, ML. Níveis de uréia na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: parâmetros ruminais, uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. *Rev Bras Zootec* 2008; 37:556-562.
- Rennó LN, Valadares Filho SC, Valadares RFD, Leão MI, Cecon PR, Backers AA, Alves DD, Rennó FP, Paixão ML. Níveis de proteína na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por intermédio dos derivados de purinas na urina. In: *Anais da 40ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. Santa Maria: SBZ; 2003 (CD-ROM).
- Silva RMN, Valadares RFD, Valadares Filho SC, Cecon PR, Rennó LN, Silva JM. Ureia para Vacas em Lactação. 2. Estimativas do Volume Urinário, da Produção Microbiana e da Excreção de Ureia. *Rev Bras Zootec* 2001; 30:1948-1957.
- Statistical Analysis Systems. SAS®, versão 8.2 para Windows. User's Guide. Statistics. Statistical Analysis Systems Institute. Inc Cary NC; 2001.
- Valadares RFD, Broderick GA, Valadares Filho SC, Clayton MK. Effect of Replacing Alfalfa Silage with High Moisture Corn on Ruminant Protein Synthesis Estimated from Excretion of Total Purine Derivatives. *J Dairy Sci* 1999; 82:2686-2696.
- Valadares Filho SC, Rodrigues P, Magalhães K. Exigências nutricionais de zebuínos e tabelas de composição de alimentos. 1a ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2006.
- Valadares RFD, Valadares Filho SC, Gonçalves LC, Rodríguez N, Sampaio I. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de amônia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. *Rev Bras Zootec* 1997; 26:1270-1278.
- Whittet KM, Klopfenstein TJ, Erickson GE, Loy TW, McDonald RA. Effect of Age, Pregnancy, and Diet on Urinary Creatinine Excretion in Heifers and Cows. *Nebraska Beef Cattle Reports*. Animal Science Department. University of Nebraska 2004. [fecha de acceso: febrero 10 de 2011] URL:<http://digitalcommons.unl.edu/animalscibcr/212>