

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE CIENCIAS CLÍNICAS VETERINARIAS

**EVALUACIÓN DE LA RUMINOCENTESIS DORSAL COMO MÉTODO DE
OBTENCIÓN DE LÍQUIDO RUMINAL PARA EL DIAGNÓSTICO DE
ALTERACIONES ÁCIDO-BÁSICAS RUMINALES EN VACAS LECHERAS**

Memoria de título presentada como
parte de los requisitos para optar al
TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO

FERNANDO RODRIGO CÁRDENAS MUÑOZ

VALDIVIA – CHILE

2009

PROFESOR PATROCINANTE

Dra Mirela Noro

Firma

PROFESOR COPATROCINANTE

Dr Fernando Wittwer

Firma

PROFESORES CALIFICADORES

Dr Marcos Moreira

Firma

Dr Rubén Pulido

Firma

FECHA DE APROBACIÓN:

27 de Octubre 2009

ÍNDICE

Capitulo	Página
1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. MATERIAL Y MÉTODOS	13
5. RESULTADOS.....	17
6. DISCUSIÓN	25
7. BIBLIOGRAFÍA.....	29
8. ANEXOS.....	32
9. AGRADECIMIENTOS	41

1. RESUMEN

Los objetivos de este estudio fueron determinar y comparar las características físicas y químicas del líquido ruminal obtenido por sonda oro-ruminal y ruminocentesis dorsal con muestras obtenidas directamente del rumen en vacas fistulizadas y evaluar el estado de salud y valores de pH ruminal, fecal y urinario de vacas lecheras en lactancia sometidas a ruminocentesis dorsal repetidas.

En un primer experimento se utilizaron 4 vacas con fistula ruminal, las que fueron sometidas a un régimen de muestreo que consistió en extracción de muestras de líquido ruminal de los sacos caudo ventral, caudo dorsal, cráneo ventral y cráneo dorsal del rumen a través de la cánula y mediante sonda oro-ruminal a las 8:30, 13:30 y 17:30 horas y mediante ruminocentesis a las 17:30 horas. A las muestras se les determinó los valores del pH, tiempo de reducción de azul de metileno y se registraron sus características físicas. No se encontraron diferencias entre los valores de pH de las muestras obtenidas mediante ruminocentesis dorsal y las del saco caudo ventral, presentando una correlación muy alta entre sus valores de pH. Las muestras obtenidas mediante sonda oro-ruminal presentaron valores de pH ruminal superiores a las de los distintos sacos del rumen.

En el experimento 2 se utilizaron 30 vacas en lactancia, en las cuales se realizaron 5 ruminocentesis dorsales repetidas cada 5 días y además se obtuvieron muestras de heces y orina. A todas las muestras se les registraron los valores de pH. Previo y en los dos días posteriores a las ruminocentesis se registraron las temperaturas rectales para establecer indicios de peritonitis u otra alteración sistémica. También se registraron las respuestas de dolor de las vacas a la punción utilizando una escala de 1 a 5 según el comportamiento de las vacas durante la punción. No se produjeron alzas térmicas que indiquen cambios patológicos. Se observó un 4% de aumentos de volumen en las zonas de punción, los cuales desaparecieron antes del término del estudio. Las reacciones de rechazo a la punción fueron variadas, observándose respuestas más bruscas en las primeras ruminocentesis, por lo que se concluye que el factor en éstas se relaciona más al contacto con personas que con la punción en sí.

Se concluye que la ruminocentesis dorsal es una técnica práctica que puede ser utilizada con seguridad para diagnosticar alteraciones ácido-básicas ruminales en vacas lecheras.

Palabras clave: ruminocentesis, acidosis, vacas, pH.

2. SUMMARY

DORSAL RUMINOCENTESIS ASSESSMENT AS A METHOD OF PROCUREMENT OF RUMEN FLUID FOR DIAGNOSIS OF RUMEN ACID-BASE DISORDERS IN DAIRY CATTLE

The aim of this study was to determine and compare the physical and chemical characteristics of rumen fluid obtained by oro-ruminal tube and rumenocentesis with samples obtained directly from the rumen in cannulated cows and evaluate the health, and rumenal, fecal and urinary pH values of lactating dairy cows subjected to repeated dorsal rumenocentesis.

In the first experiment 4 cows with rumen fistula were used, which were subject to a sampling scheme consisting of removal of rumen fluid samples from caudo ventral, caudo dorsal, craneo ventral and craneo dorsal rumen sacs through the cannula and oro-ruminal tube at 8:30, 13:30 and 17:30 hours and by rumenocentesis at 17:30. Values of pH in all the samples were determined, reduction time of methylene blue and physical characteristics were recorded. No differences were found between pH values in the samples obtained by rumenocentesis and caudo ventral sac, showing a very high correlation between pH values. The samples obtained by oro-ruminal probe for rumen pH had higher values than those of the different sacs in the rumen.

In the Experiment 2, 30 cows in lactation were used, in which 5 repeated dorsal rumenocentesis were performed every 5 days and furthermore faeces and urine samples were taken. pH values were recorded in all the samples. Before and during the two days following the rumenocentesis, rectal temperatures were recorded to establish evidence of peritonitis or other systemic disturbance. Pain responses of the puncture were also recorded using a scale of 1 to 5 according to the behavior of cows during the puncture. There were not thermal increases indicating pathologic changes. There was a 4% volume increases in the puncture sites, which disappeared before the end of the study. The reactions of rejection to the puncture were diverse, more abrupt responses were observed in the early rumenocentesis. We conclude that the most important factor is related with the contact with people and not with the puncture itself.

We conclude that the dorsal rumenocentesis is a practical technique that can be used safely to diagnose rumen acid-base disturbances in dairy cows.

Key words: rumenocentesis, acidosis, cows, pH.

3. INTRODUCCIÓN

3.1 SITUACIÓN EN CHILE DE LAS ALTERACIONES ÁCIDO-BÁSICAS RUMINALES

En el sur de Chile, la pradera es la base de la alimentación ganadera (Cuevas 1985). En condiciones de secano, la producción de pradera se caracteriza por una marcada estacionalidad en el contenido de materia seca, reflejo de las condiciones climáticas. En estas praderas la menor producción se observa en los meses de verano e invierno y la mayor producción y calidad se alcanza en los meses de primavera (Romero 2003).

La alimentación con forrajes de primavera, que generalmente poseen altas concentraciones de proteína cruda y carbohidratos y la suplementación con alimentos energéticos pueden producir trastornos ruminales y presentación de patologías como alcalosis o acidosis ruminal (Noro y Sepúlveda 2008).

El diagnóstico de estas enfermedades, especialmente en sus formas sub-agudas es difícil, ya que la signología clínica de estos cuadros no es muy marcada (Garrett y col 1999), por lo que será de gran ayuda la estandarización de una técnica de obtención de líquido ruminal que pueda ser utilizada en la rutina a nivel de campo en planteles lecheros que basan su alimentación en praderas.

3.2 ACIDOSIS RUMINAL

La acidosis es una condición patológica asociada a la acumulación de ácido en el rumen, absorción de D-lactato, depleción de elementos alcalinos en sangre y tejidos corporales, caracterizada por un aumento de las concentraciones de iones de hidrógeno (Blood y Radostits 1989).

La acidosis ruminal es un trastorno digestivo asociado a alteración en la fermentación ruminal, que se refleja en una disminución del pH ruminal del rebaño. La acidosis ruminal láctica, también conocida como sobrecarga de granos, envenenamiento por granos, indigestión aguda se desarrolla en ganado que ingiere grandes cantidades de alimento rico en

carbohidratos fermentables en el rumen, sin previa adaptación o en vacas en el período de transición de la producción láctea (Nocek 1997).

El cuadro de acidosis suele iniciarse con la fermentación rápida de los carbohidratos no fibrosos (almidón y azúcares) y el incremento en la tasa de crecimiento de las bacterias amilolíticas en contra de las celulolíticas, resultando en un incremento en la producción de ácidos grasos volátiles (AGVs) y la consecuente reducción en el pH del líquido ruminal. Esto favorece el desarrollo de bacterias productoras de ácido láctico (*Streptococcus bovis*) que habiendo la suficiente cantidad de carbohidratos puede llegar a producir suficiente ácido láctico para bajar el pH a 5,0 o menos (Slyter 1976).

Las bacterias utilizadoras de ácido láctico como *Megaesphaera elsdenii* y *Selenomonas ruminantium* convierten el ácido láctico en otros AGVs que son absorbidos a través de la pared ruminal. Estas bacterias son sensibles a un pH reducido, que hace aumentar su tiempo de crecimiento, por lo que se favorece la acumulación de ácido láctico. Cuando el pH se reduce a 5,0, ambos grupos desaparecen y son sustituidos por *Lactobacillus spp.*, productores de ácido láctico. Los lactobacilos utilizan grandes cantidades de carbohidratos fermentables para producir ácido láctico (isómeros D y L), cuando estas cantidades son excesivas producen los cuadros de acidosis láctica ruminal. A medida que se reduce el pH ruminal, las contracciones del rumen disminuyen hasta que el pH ruminal sea igual o inferior a 5,0 donde se produce la atonía ruminal (Asanuma e Hino 2002).

En situaciones de acidosis la osmolaridad ruminal aumenta de su valor fisiológico de 280 mOsm/L pudiendo alcanzar 400 mOsm/L en casos agudos, debido a la producción de ácido láctico. Ambas formas de ácido láctico (D y L) producen un aumento de la osmolaridad ruminal que produce un secuestro de agua desde la circulación periférica y consecuentemente causa deshidratación. Como el ácido láctico pasa del abomaso hacia el tracto intestinal, crea un gradiente osmótico. El aumento resultante de líquido en el lumen es responsable de la profusa diarrea y deshidratación subsiguiente visto en la acidosis clínica (Nocek 1997).

Las altas concentraciones de ácido láctico en el rumen producen ruminitis química, predisponiendo a la ruminitis micótica. La disminución del pH facilita el crecimiento de *Mucor*, *Rhizopus* y *Absidia sp.* los que invaden los vasos ruminales, produciendo trombosis e infartación. La ruminitis micótica aparece en animales que parecen haberse recuperado, pero enferman nuevamente de forma muy severa en el tercer o cuarto día. La ruminitis micótica se caracteriza por un rumen sin tono, lleno de líquido, deshidratación a pesar de administrar fluidoterapia, diarrea, anorexia, debilidad, decúbito y muerte dentro de 2 a 3 días debido a la peritonitis aguda difusa (Blood y Radostits 1989, Slyter 1976).

3.2.1 Cuadros clínicos

3.2.1.1 Acidosis ruminal sub-aguda (SARA). Esta enfermedad que afecta tanto al ganado lechero como de engorda, ha sido nombrada de diversas formas en la literatura pero la forma más reciente y ampliamente aceptada es la de SARA (Nordlund y col 1995, Garrett y col 1999) por su sigla del inglés.

SARA se define como una disminución intermitente del pH ruminal, hasta llegar a valores no fisiológicos, con un pH entre 5,2 y 5,6 (Owens y col 1998) esto luego de ingerir una dieta basada en concentrado, cuando el rumen no está adaptado a este, ya sea en su flora y su mucosa (Kleen y col 2003). La dieta rica en concentrados produce, a corto plazo, un notable aumento en la producción de leche del rebaño, pero a largo plazo produce efectos negativos en la salud de éste (Oetzel 2003). Este cambio brusco de alimentación rica en carbohidratos fermentables produce en el rumen una gran cantidad de AGVs, lo que conlleva que el pH del ambiente ruminal disminuya bajo el valor fisiológico (Kleen y col 2003). Como respuesta al aumento de AGVs en el rumen, su mucosa responde aumentando el tamaño de las papilas ruminales, las que juegan un importante rol en la absorción de los AGVs, pero si este cambio de dieta es muy brusco, y las concentraciones de AGVs aumentan en un corto periodo de tiempo, las papilas ruminales no crecen lo suficiente, no habiendo suficiente superficie de absorción para la cantidad de AGVs producidos en el rumen (Nordlund y col 1995), situación que se observa en vacas en periodo de transición alimentaria.

El pH ruminal varía durante el transcurso del día entre 0,5 a 1,0 unidad de pH, siendo el punto más bajo o de mayor acidez después de 2 a 4 horas post ingesta de alimento ricos en carbohidratos altamente fermentables (Oetzel 2003). El límite crítico de pH ruminal sería de 5,5, algunas horas después de la ingesta de concentrado (Nordlund y Garrett 1994, Garrett y col 1999).

En un estudio realizado en un predio lechero en Valdivia (Scandolo y col 2007) se observó la variación de pH ruminal durante el día en vacas Frisón Negro a pastoreo en pradera mixta con predominio de ballica. Este estudio mostró que el pH del líquido ruminal de las vacas disminuyó durante el día, de 6,70 a las 8:00 horas a 5,99 a las 21:00 horas ($P < 0,05$) y presentó una estrecha asociación con la hora del día ($r = -0,77$). La variación diaria del pH ruminal está asociada a la periodicidad de la ingesta de forrajes y a los periodos de rumia de las vacas durante el día (Hinostroza 2004), siendo más bajo cuando la ingesta de materia seca (MS) de alta digestibilidad es mayor (Wales y col 2004), lo que provoca una mayor fermentación ruminal, producción de CO_2 y de AGVs, los cuales son los principales responsables de la acidificación ruminal (Kolver y Veth 2002).

SARA representa uno de los trastornos metabólicos más importantes en lecherías con manejo intensivo, por afectar la fermentación ruminal, el bienestar animal y la productividad y rentabilidad pecuaria (Morgante y col 2007) pero a menudo es confundida con alteraciones relacionadas a la baja calidad del forraje. A consecuencia de esto puede producir una gran pérdida económica, debido a la disminución de la eficiencia productiva de los rebaños afectados (Garrett y col 1999).

Debido a muchas razones se hace dificultoso el diagnóstico de SARA en el campo, pero el factor más importante es que no se ha desarrollado un test diagnóstico específico. En forma general se reconocen dos grupos de riesgo de presentación de SARA, uno de vacas periparturientas con menos de 20 días de lactancia y con el rumen no adaptado a la dieta, y otro de vacas entre 45 a 150 días de lactancia, las que debieran estar bien adaptadas a la dieta (Roberts y Delgado 2001).

Las vacas periparturientas poseen riesgo de desarrollar SARA debido al tiempo requerido para el cambio de microflora ruminal, al tiempo requerido para la elongación de las papilas ruminales y por la disminución de la ingesta de materia seca previo y posterior al parto. La acidosis por mala formulación y entrega de la ración se desarrolla en vacas entre 45 a 150 días de lactancia por una dieta deficiente en fibra debida a algún error en el manejo del racionamiento o por un tamaño excesivo de la ración (Nordlund y col 1995).

Los signos clínicos de SARA son insidiosos y considerablemente menos manifiestos que los de acidosis aguda. Su mayor manifestación clínica es la reducción en la frecuencia y cantidad de ingesta de alimento, aunque también los animales pueden presentarse letárgicos, con baja producción de leche, reducción de grasa láctea, pérdida de condición corporal, presentación de diarrea, alta incidencia y prevalencia de laminitis que conlleva a una alta tasa de reposición (Garrett y col 1999).

3.2.1.2. Acidosis ruminal aguda. Está definida como una condición en la cual el pH ruminal es menor a 5,0 (Owens y col 1998). Se desarrolla como consecuencia del consumo de grandes cantidades de carbohidratos altamente fermentables en rumiantes no acostumbrados a dietas altas en energía y produce un aumento importante en la concentración de ácido láctico, un aumento de la concentración de AGVs y la disminución de la población de protozoos (Nocek 1997).

La acidosis aguda se presenta con signología y sintomatología específica, la cual, si es detectada a tiempo, puede ser tratada directamente (Nocek 1997). Los signos dependen de la cantidad y tipo de alimento ingerido, y se hacen más evidentes 8 a 36 horas después que el animal ha ingerido grandes cantidades de carbohidratos de rápida digestión. Los primeros signos en aparecer son ataxia notoria al caminar, depresión y anorexia, luego aumento de temperatura corporal y de frecuencias cardíaca y respiratoria (Noro y Sepúlveda 2008).

En cuadros avanzados se presenta hipotermia e hipoventilación, con hipomotilidad o atonía ruminal, lo que luego provoca timpanismo. Las heces cambian a una consistencia más blanda, líquida o espumosa, de color claro y olor ácido intenso. Es común la anuria, resultado de la deshidratación severa que se produce 24 a 48 horas después del inicio del cuadro. Animales severamente afectados pueden presentar marcha tambaleante, depresión, opistótono, rigidez muscular y presionar la cabeza contra objetos. En estados terminales generalmente se encuentran en decúbito y se miran el flanco, similar a una vaca con hipocalcemia (Noro y Sepúlveda 2008).

3.2.2. Secuelas de la acidosis

La laminitis que afecta a vacas con SARA se describe como una laminitis subaguda, incluso crónica en algunos casos, dependiendo de la duración de la enfermedad. Algunos de los signos observados en casos confirmados de SARA son: decoloración y deformación de los cascos, hemorragia de la suela, úlceras, abscesos y suelas con doble pared (Nordlund y col 1995).

La acidosis también se asocia a la inflamación de diversos órganos y tejidos. Un examen físico revelará la presencia de abscesos subcutáneos no relacionados a inyecciones (Nordlund y col 1995). Se reportan casos de acidosis ruminal no agudas que se asocian a abscesos hepáticos (Dirksen 1985, Nordlund y col 1995, Garry 2002). También pueden encontrarse abscesos y procesos inflamatorios en corazón, riñones (Kleen y col 2003) y pulmones (Nordlund y col 1995). Además de esto se han reportado hemoptisis y epistaxis en rebaños con SARA, las que debieran relacionarse con neumonía bacteriana o síndrome de la vena cava caudal (Nordlund y col 1995, Kleen y col 2003).

Se describen también alteraciones de las características de las heces, las cuales se alteran en su color, se vuelven más claras y amarillentas. Su pH disminuye hasta volverse levemente ácido (Dirksen 1985). El olor se vuelve agrídulce (Kleen y col 2003) y se presentan trozos de pasto indigeridas, de 1 a 2 cm debiendo ser como máximo de 0,5 cm; también se pueden observar granos enteros de cereales (Garry 2002).

Otra consecuencia de SARA es la disminución del porcentaje de grasa en la leche producida (Nordlund y col 1995). Como esto ocurre generalmente en casos individuales aislados, esta disminución de grasa en la leche no se refleja en muestras tomadas en el tanque de recolección (Nocek 1997). Existe una cierta correlación entre SARA y la disminución de grasa láctea, ya que ambas aparecen en situaciones cuando la dieta es alta en concentrado y baja en fibra o fibra estructural (Kleen y col 2003).

3.3 ALCALOSIS RUMINAL

Es un cuadro patológico que se presenta generalmente en animales suplementados con compuestos nitrogenados, los que llevan a la producción de amonio (NH_4^+) en el rumen. Los cuadros de alcalosis ruminal primaria generalmente afectan a rebaños no suplementados con concentrados, que ingieren praderas inmaduras, con excesiva cantidad de proteína, la que es prontamente degradada en el rumen o rebaños suplementados con nitrógeno no proteico. En cualquiera de estos casos, la alcalinización del rumen se produce por una excesiva generación de NH_4^+ , el que resulta del proceso fermentativo bacteriano, y se utiliza como fuente de N para la síntesis de proteína microbiana. Cuando la cantidad de NH_4^+ excede la capacidad de los microorganismos ruminales de utilizarlo para síntesis de proteína, se acumula y alcaliniza el pH ruminal (Noro y Sepúlveda 2008).

Elevadas concentraciones de NH_4^+ asociado con un pH ruminal sobre 7,5 sugiere una excesiva ingesta de nitrógeno no proteico, lo que puede deberse a suplementación con urea, biuret, fosfato de amonio o ingestión accidental de fertilizantes nitrogenados. En algunos casos una ingesta excesiva de nitrógeno no proteico puede derivar en una intoxicación, las cuales se caracterizan por signos clínicos digestivos, pH ruminal entre 7,5 y 8,5 e intenso olor amoniacal (Noro y Sepúlveda 2008).

En el sur de Chile el sistema de producción lechera es en base a pastoreo en praderas fertilizadas con nitrógeno con concentraciones de proteína de un 26% como promedio en junio para la zona sur, y un 30% en julio para las praderas de la zona de Valdivia (Anrique y col 2008). El consumo de praderas con alto contenido de N se asocia comúnmente con una baja eficiencia de utilización de N, lo que provoca un aumento en la cantidad de NH_4^+ en el líquido ruminal, lo que puede llevar al desarrollo de una alcalosis ruminal (Noro y Sepúlveda 2008). Las consecuencias de una alcalosis ruminal en el rebaño todavía no están esclarecidas, sin embargo indican una ineficiencia en el uso y aprovechamiento de la proteína dietética.

3.4 OBTENCIÓN DE LÍQUIDO RUMINAL, HECES Y ORINA PARA EL DIAGNÓSTICO DE ALTERACIONES ÁCIDO-BÁSICAS RUMINALES

El pH del líquido ruminal de las vacas a pastoreo disminuye durante el día, como lo observó Scandolo y col (2007), en cuyo estudio observó una variación desde 6,70 puntos de pH a las 8:00 horas a 5,99 puntos de pH a las 21:00 horas, por lo que para el diagnóstico de SARA se recomienda la toma de la muestra en la tarde, luego de 3 a 5 horas de la alimentación con concentrados.

El pH del líquido ruminal también varía en los diferentes lugares del rumen, por lo tanto, la evaluación de su pH debe realizarse en muestras obtenidas desde la misma región del rumen en cada muestreo. La muestra más representativa de líquido ruminal para la determinación de pH debería ser una muestra compuesta colectada desde varios sitios del rumen, o una muestra obtenida desde el centro del rumen, sin embargo estas muestras no pueden ser obtenidas en condiciones de campo (Garrett y col 1999).

Existen dos maneras de obtener muestras de líquido ruminal en condiciones de campo, la sonda oro-ruminal y la ruminocentesis (Duffield y col 2004).

Estudios previos indican que la obtención de muestras de líquido ruminal por medio de ruminocentesis tiene una especificidad similar a la sonda oro-ruminal, pero una sensibilidad mayor (Duffield y col 2004). Otro punto a considerar es la contaminación con saliva que afecta a la muestra al obtenerla con sonda, alterando sus valores de pH, por lo que se recomienda el uso de ruminocentesis como prueba de campo para el diagnóstico de SARA, siempre cuando esté asociada a la observación de signos clínicos e historia del rebaño (Duffield y col 2004).

En un estudio realizado por Garrett y col (1999) en vacas en condiciones de manejo intensivo, se observó que el pH del líquido obtenido mediante punción y a través de una cánula era muy similar, y que no existe diferencia de pH entre una muestra de contenido

ruminal obtenida por cánula y el líquido ruminal obtenido al filtrar esta muestra, lo que indica que la aspiración y la filtración no altera el pH de la muestra.

3.4.1. Sonda oro-ruminal

La obtención de líquido ruminal con sonda se realiza utilizando un tubo plástico o de goma de aproximadamente 2,3 m de largo y 1 cm de diámetro, el que se introduce vía oral y protegido por un abreboca y puede ayudarse de bombas aspirantes. Los principales inconvenientes de esta técnica son la contaminación con saliva, la cual haría aumentar el pH entre 0,6 a 1,7 puntos, inhibiendo la actividad de los microorganismos ruminales, por otra parte, su ventaja radica en poder obtener grandes volúmenes de líquido ruminal (Wittwer 2008).

3.4.2. Ruminocentesis

Para la realización de la ruminocentesis se procede a sujetar la vaca, se tricotomiza y desinfecta con alcohol yodado el sitio de punción y se emplea una aguja de 12 a 15 cm de largo y de 12G con la que se extraen de 2 a 5 ml de líquido ruminal, aproximadamente. Los animales pueden ser sedados con 0,01 mg/kg de xilazina administrada endovenosa (Nordlund y Garrett 1994).

3.4.2.1. Ruminocentesis caudo ventral. Se inserta la aguja en el flanco izquierdo a la altura del pliegue de la babilla, 15 a 20 cm caudo ventral a la unión costo-condral de la última costilla hacia el saco ventral del rumen para obtener una alícuota (Nordlund y Garrett 1994).

3.4.2.2. Ruminocentesis dorsal. La ruminocentesis se realiza en la parte ventral de la fosa paralumbar, se introduce la aguja estéril, en dirección ventral a través de la piel, en el rumen, y se aspira el líquido ruminal con la jeringa para luego determinar pH. De la experiencia acumulada, la técnica no es de riesgo para la vaca y se consigue una rápida obtención de muestra de líquido ruminal (Roberts y Delgado 2001).

Las muestras obtenidas por ruminocentesis o sonda se depositan en un recipiente y luego se introduce en éste el potenciómetro, inmediatamente luego de ser extraído. El potenciómetro dará una lectura digital del pH del líquido ruminal. Si el pH está debajo de 5,6 se diagnostica SARA. Una muestra de 12 vacas de un rebaño o grupo de alimentación con un número crítico de 3 vacas con pH ruminal menor a 5,6, sería un buen indicador para diferenciar entre rebaños con una prevalencia de 15% o menos, de rebaños con más de 30% de prevalencia de SARA (Garrett y col 1999).

3.4.3. pH fecal

El pH fecal tiene una pobre correlación con el pH ruminal a causa de la fermentación y el efecto buffer en el rumen de las vacas lecheras (Clayton y col 1999), por lo que no tiene mayor utilidad para el diagnóstico de SARA.

El pH de las heces en animales sanos se encuentra entre 7,0 y 8,5, presentándose más ácido en acidosis ruminal aguda y más alcalina en descomposición intestinal con microflora proteolítica presente (Rosenberger 1979).

3.4.4. pH urinario

Según un estudio realizado por Bouda y col (1997), sería posible acercarse más a un diagnóstico de acidosis ruminal con la medición del pH de la orina, que corroborará los hallazgos de la historia clínica, examen físico y el pH del líquido ruminal.

El pH de la orina también se vería afectado por la acidosis ruminal, esperando que en animales sanos se encuentren dentro del rango de 7,7 a 8,4. Los valores fuera de estos rangos, ya sean superiores o inferiores deben ser considerados como patológicos (Bouda y col 1997).

3.5 HIPÓTESIS

Las características físicas y químicas del líquido ruminal obtenido mediante sonda oro-ruminal, ruminocentesis dorsal y cánula desde el saco caudo ventral del rumen son similares.

La técnica de ruminocentesis dorsal realizada en vacas en lactancia permite la obtención de muestras de líquido ruminal para establecer su pH sin alterar el estado de salud de los animales.

3.6 OBJETIVOS

3.6.1 Objetivos generales

Determinar y comparar las características físicas y químicas del líquido ruminal obtenido por sonda oro-ruminal y ruminocentesis dorsal con muestras obtenidas directamente del rumen en vacas canuladas.

Evaluar el estado de salud y valores de pH ruminal, fecal y urinario de vacas lecheras en lactancia sometidas a ruminocentesis dorsal repetidas.

3.6.2 Objetivos específicos

- Determinar y comparar el color, olor, viscosidad, pH, tiempo de reducción de azul de metileno (TRAM) en muestras de líquido ruminal obtenidas mediante sonda oro-ruminal, ruminocentesis y por cánula en vacas en lactancia.
- Determinar en vacas canuladas el grado de asociación entre los valores de pH de líquido ruminal obtenidos mediante sonda oro-ruminal, ruminocentesis y de cánula.
- Evaluar el estado de salud mediante examen clínico del animal, la temperatura rectal y la determinación de la presencia de aumentos de volumen y sensibilidad en la región de la ruminocentesis en vacas en lactancia sometidas a ruminocentesis repetidas.
- Verificar el grado de asociación entre los valores de pH de líquido ruminal, urinario y fecal de vacas en lactancia sometidas a ruminocentesis repetidas.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 EXPERIMENTO 1

4.1.1. Ubicación del ensayo

Se realizó en la estación experimental Vista Alegre dependiente de la Universidad Austral de Chile ubicado a 9 kilómetros al norte de Valdivia, provincia de Valdivia en la XIV Región, Chile (39°48' LS y 73°13' LO) a una altura promedio de 12 metros sobre el mar.

4.1.2. Animales e identificación

Se emplearon 4 vacas Frisón Negro en lactancia, fistuladas con cánulas ruminales. Las vacas fueron identificados con el número de autocrotal. Las vacas se encontraban a pastoreo en pradera en la que prevalece ballica (*Lolium perenne*). Además se les administró 2 kg de concentrado en la ordeña de las 8:00 horas de la mañana y 2 kg en la ordeña de las 17:00 horas de la tarde y sales minerales.

4.1.3. Duración del ensayo

El ensayo tuvo una duración de 24 días, entre el 28 de noviembre y el 21 de diciembre del 2008.

4.1.4. Obtención de muestras

Se recolectaron muestras de líquido ruminal de los 4 animales, efectuando 3 muestreos diarios (8:30, 13:30 y 17:30 h.) En cada muestreo fueron obtenidas una muestra mediante sonda oro-ruminal y 4 muestras de distintas zonas del rumen (cráneo ventral, cráneo dorsal, caudo ventral y caudo dorsal), a través de la cánula ruminal. Los mismos días se obtuvieron las muestras de líquido ruminal mediante ruminocentesis dorsal a las 17:30 h.

Los muestreos se realizaron con 4 repeticiones por animal con intervalo mínimo de 3 días de descanso entre ellos. Además se realizó una quinta ruminocentesis y obtención de una muestra de líquido ruminal a través de cánula desde el saco caudo ventral.

Para la realización de la ruminocentesis dorsal, primero se tricotomizó la región del flanco, luego se limpió y desinfectó con algodón empapado en alcohol yodado. Se realizó una punción en la fosa paralumbar, con una aguja de 15 cm de largo y 12G, 15 a 20 cm ventral a los procesos transversos de las vértebras lumbares. Luego de esto se conectó una jeringa de 20 ml a la aguja y se aspiró hasta obtener un volumen aproximado de 3,5 ml de muestra de

líquido ruminal. Se retiró la aguja y se vertió la muestra de líquido ruminal en un tubo, y luego se sumergió el potenciómetro del pH-metro para obtener la lectura del pH.

La obtención de líquido ruminal con sonda se realizó utilizando un tubo plástico introducido al rumen vía oral, ayudado por sujeción del animal mediante una tijera y un ayudante sujetando la cabeza y un espejo, para evitar que el animal muerda el tubo.

Para la obtención de líquido ruminal a través de la cánula, se introdujo un vaso plástico para obtención de muestras en el rumen, se situó en el saco correspondiente, se cubrió con la mano y se retiró. Luego los vasos fueron tapados herméticamente con su respectiva tapa rosca y mantenidos a 37 °C.

4.1.5. Análisis de muestras

4.1.5.1. pH ruminal. Los valores de pH de las muestras de líquido ruminal fueron determinados mediante el uso de un pH-metro digital portátil Hanna Instruments® modelo HI-98127. Esta determinación se realizó dentro de 2 minutos de obtenida la muestra.

4.1.5.2. Tiempo reducción azul de metileno (TRAM). En las muestras de líquido ruminal obtenidas por sonda oro-ruminal y las obtenidas a través de la cánula fueron realizados el test de reducción de azul de metileno, incubando a 37°C una alícuota de 2,5 ml de cada muestra en un tubo de ensayo y agregando 0,125 ml de Azul de metileno al 0,03%.

4.1.5.3. Color, olor y viscosidad. Se realizó un examen físico del líquido ruminal obtenido en el que se registró su color, olor y viscosidad.

4.1.6. Análisis estadístico

Los datos fueron ingresados a una planilla Excel 2007 se analizaron mediante estadística descriptiva usando la media (X), desviación estándar (DE) y error estándar (EE). Los datos fueron evaluados en cuanto a normalidad por Shapiro-Wilk y homocedasticidad mediante la prueba de Bartlett's. Los valores fueron comparados mediante ANDEVA de muestras repetidas, Kruskal-Wallis, Prueba T de Student o Mann-Wittney, según corresponda. Se consideraron diferencias cuando el valor de P fue inferior a 0,05. Se correlacionaron los valores de pH ruminal entre las muestras obtenidas por sonda oro-ruminal, mediante cánula y ruminocentesis. El programa computacional utilizado fue el Statistix versión 8.0 para Windows (Statistix 8, Copyright© 1985-2003, Analytical Software, USA).

4.2 EXPERIMENTO 2

4.2.1. Ubicación del ensayo

Se realizó en la estación experimental Santa Rosa dependiente de la Universidad Austral de Chile ubicado a 12 kilómetros al norte de Valdivia (39°46' LS y 73°13' LO), provincia de Valdivia en la XIV Región, Chile.

4.2.2. Animales e identificación

Se emplearon 30 vacas Frisón Negro en inicio de lactancia. Los animales fueron identificados mediante su número de autocrotal. Los animales se encontraban a pastoreo en pradera en la que prevalece ballica (*Lolium perenne*). Además los animales recibían 2 kg de concentrado en la ordeña de las 8:00 horas de la mañana y 2 kg en la ordeña de las 17:00 horas de la tarde y sales minerales.

4.2.3. Duración del ensayo

El ensayo duró de 22 días, entre el 4 y 26 de diciembre del 2008.

4.2.4. Obtención de muestras

4.2.4.1. Técnica de ruminocentesis. Se realizó la técnica de ruminocentesis dorsal a todos los animales en la forma descrita en el experimento 1. Esta ruminocentesis se realizó entre las 15:00 y 16:00 en 5 oportunidades, los días 0, 5, 10, 15 y 20 del estudio.

Se evaluó el procedimiento de ruminocentesis observando el comportamiento de los animales durante su ejecución y la efectividad de obtener un volumen mayor a 3 ml de muestra de líquido ruminal. El comportamiento fue medido según la modificación de la escala corta de Glasgow para evaluar dolor (Murrell y col 2008). Se realizaron ruminocentesis y recolección de muestras de heces y orina a los días 0, 5, 10, 15 y 20 del estudio.

1) Comportamiento de la vaca durante la punción:

Indiferente	0
Movimiento calmo	1
Movimiento moderado	2
Movimientos bruscos	3
Patea	4

Las eventuales alteraciones clínicas producidas por la ruminocentesis se evaluaron determinando la temperatura rectal de las vacas en el día de la ruminocentesis y a las 24 y 48 horas posteriores entre las 15:30 y 17:00 hrs. Además se visualizó y palpó el área puncionada para evaluar aumentos de volumen y dolor. Éste último se evaluó según su respuesta al ejercer presión moderada en el sitio de punción.

2) Al ejercer una presión moderada en el sitio de punción:	
No hace nada:	0
Vuelve la vista:	1
Intenta retirarse:	2
Patea:	3
Vocaliza:	4

4.2.4.2. Muestras de heces. Se obtuvieron a las mismas horas y oportunidades en que se realizó ruminocentesis. Su obtención se realizó mediante recolección manual desde el recto con una manga de palpación rectal.

4.2.4.3. Muestras de orina. Se obtuvieron a las mismas horas y oportunidades en que se realizó ruminocentesis. Su obtención se realizó mediante estímulo manual del vértice caudal de la vulva, recolectándose al menos 10 ml en envases plásticos.

4.2.5. Análisis de muestras

Los valores de pH en las muestras de líquido ruminal, heces y orina fueron determinados mediante el uso de un pH-metro digital portátil Hanna Instruments® modelo HI-98127. Esta determinación se realizó dentro de 2 minutos de obtenida la muestra.

4.2.6. Análisis estadístico

Los datos fueron ingresados a una planilla Excel 2007 se analizaron mediante estadística descriptiva usando promedios (\bar{X}), desviación estándar (DE) y error estándar (EE). Se determinó mediante análisis de correlación la presencia de asociación entre el pH ruminal, urinario y fecal. El programa computacional utilizado fue el Statistix versión 8.0 para Windows (Statistix 8, Copyright© 1985-2003, Analytical Software, USA).

5. RESULTADOS

5.1. EXPERIMENTO 1

5.1.1. Análisis de pH del líquido ruminal

El valor promedio de pH del líquido ruminal obtenido mediante sonda fue superior al de las muestras obtenidas de los sacos cráneo ventral, cráneo dorsal, caudo ventral, caudo dorsal y por ruminocentesis ($p < 0,05$), que presentaron valores similares entre sí ($p > 0,05$; Cuadro 1). Sin embargo, durante el muestreo de las 8:30 horas los valores de pH ruminal de muestras obtenidas del saco cráneo dorsal presentaron valores superiores a los obtenidos de los sacos cráneo ventral, caudo dorsal y caudo ventral del rumen ($p < 0,05$; Figura 1). A su vez, los valores de pH ruminal se mantuvieron sin mayores fluctuaciones entre los muestreos de las 8:30 horas, 13:30 horas y 17:30 horas ($p > 0,05$; Figura 1).

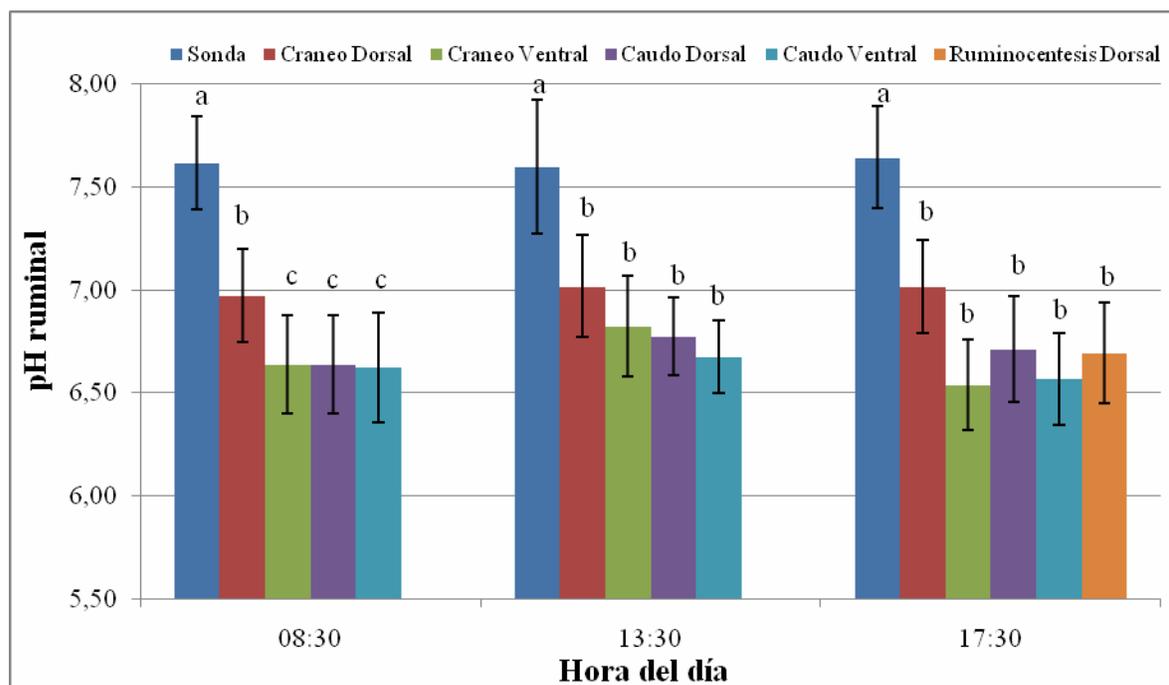


Figura 1. Valores medios ($X \pm DE$) de pH de líquido ruminal obtenidos mediante sonda oro-ruminal, de los sacos cráneo ventral, cráneo dorsal, caudo ventral y caudo dorsal del rumen mediante cánula ruminal y ruminocentesis dorsal.

a,b,c. Letras distintas indican diferencias entre tratamientos, $p < 0,05$.

Los valores promedios de pH de las muestras obtenidas mediante sonda oro-ruminal fueron mayores en aproximadamente un punto a los obtenidos mediante cánula o ruminocentesis. Los valores máximos de pH de líquido ruminal obtenido por sonda oro-ruminal (pH=9,0) fueron superiores a los pH máximos observados en las muestras obtenidos del saco caudo ventral (pH=7,6) y ruminocentesis (pH=7,6) (Cuadro 1).

Los valores mínimos de pH ruminal de muestras obtenidas mediante sonda también registraron valores más altos que los obtenidos de los distintos sacos del rumen mediante cánula (Cuadro 1).

Los valores medio, mínimo y máximo de pH ruminal obtenidos mediante ruminocentesis fueron similares a los muestras obtenidas de los distintos sacos del rumen mediante cánula ($p > 0,05$; Cuadro 1).

Cuadro 1. Número de muestras (n), valores medios ($X \pm DE$) y valor mínimo y máximo de pH de líquido ruminal obtenidos mediante sonda oro-ruminal, ruminocentesis dorsal y de los sacos cráneo ventral, cráneo dorsal, caudo ventral y caudo dorsal del rumen mediante cánula ruminal.

Muestra	N	Media \pm DE	Valor Mínimo	Valor Máximo
Sonda	48	7,62 \pm 0,54	6,60	9,00
Cráneo Dorsal	48	7,00 \pm 0,47	5,90	7,80
Cráneo Ventral	52	6,65 \pm 0,50	5,50	7,70
Caudo Dorsal	48	6,70 \pm 0,46	5,70	8,00
Caudo Ventral	48	6,62 \pm 0,45	5,70	7,60
Ruminocentesis	19	6,69 \pm 0,54	5,60	7,60

Los valores de pH ruminal de las muestras obtenidas mediante sonda oro-ruminal presentaron una buena correlación con el pH de las muestras obtenidas del saco cráneo ventral ($r=0,72$) y baja correlación con las muestras obtenidas del saco cráneo dorsal, caudo dorsal y caudo ventral del rumen (Cuadro 2).

Por otro lado se observó una buena correlación entre el pH del líquido ruminal de las muestras obtenidas mediante ruminocentesis dorsal y las muestras del saco caudo ventral ($r=0,77$; Cuadro 2; Figura 2d), seguida por la cráneo ventral ($r=0,76$; Cuadro 2; Figura 2b), y menores correlaciones con el pH de las muestras del saco cráneo dorsal ($r=0,66$; Cuadro 2; Figura 2a) y del saco caudo dorsal ($r=0,59$; Cuadro 2; Figura 2c).

Cabe destacar que se intentó obtener líquido ruminal por ruminocentesis caudo ventral, según lo descrito por Nordlund y Garrett (1994), e incluir estos resultados en este estudio, pero representó un riesgo para la integridad de las vacas puncionadas y para el encargado de

recolectar las muestras, por la violenta reacción de las vacas y el difícil acceso a la región caudo ventral del abdomen de la vaca ubicada en la manga.

Cuadro 2. Valores r (p) de correlación de Pearson entre los valores de pH de líquido ruminal obtenidos mediante sonda oro-ruminal, ruminocentesis dorsal y de los sacos cráneo ventral, cráneo dorsal, caudo ventral y caudo dorsal del rumen mediante cánula ruminal.

	Sonda	Cráneo Dorsal	Cráneo Ventral	Caudo Dorsal	Caudo Ventral
Cráneo Dorsal	0,5590 (0,0000)				
Cráneo Ventral	0,7231 (0,0000)	0,7555 (0,0000)			
Caudo Dorsal	0,4546 (0,0012)	0,7490 (0,0000)	0,7460 (0,0000)		
Caudo Ventral	0,5849 (0,0000)	0,6810 (0,0000)	0,7785 (0,0000)	0,7248 (0,0000)	
Ruminocentesis	0,4443 (0,0971)	0,6632 (0,0070)	0,7613 (0,0002)	0,5929 (0,0198)	0,7734 (0,0001)

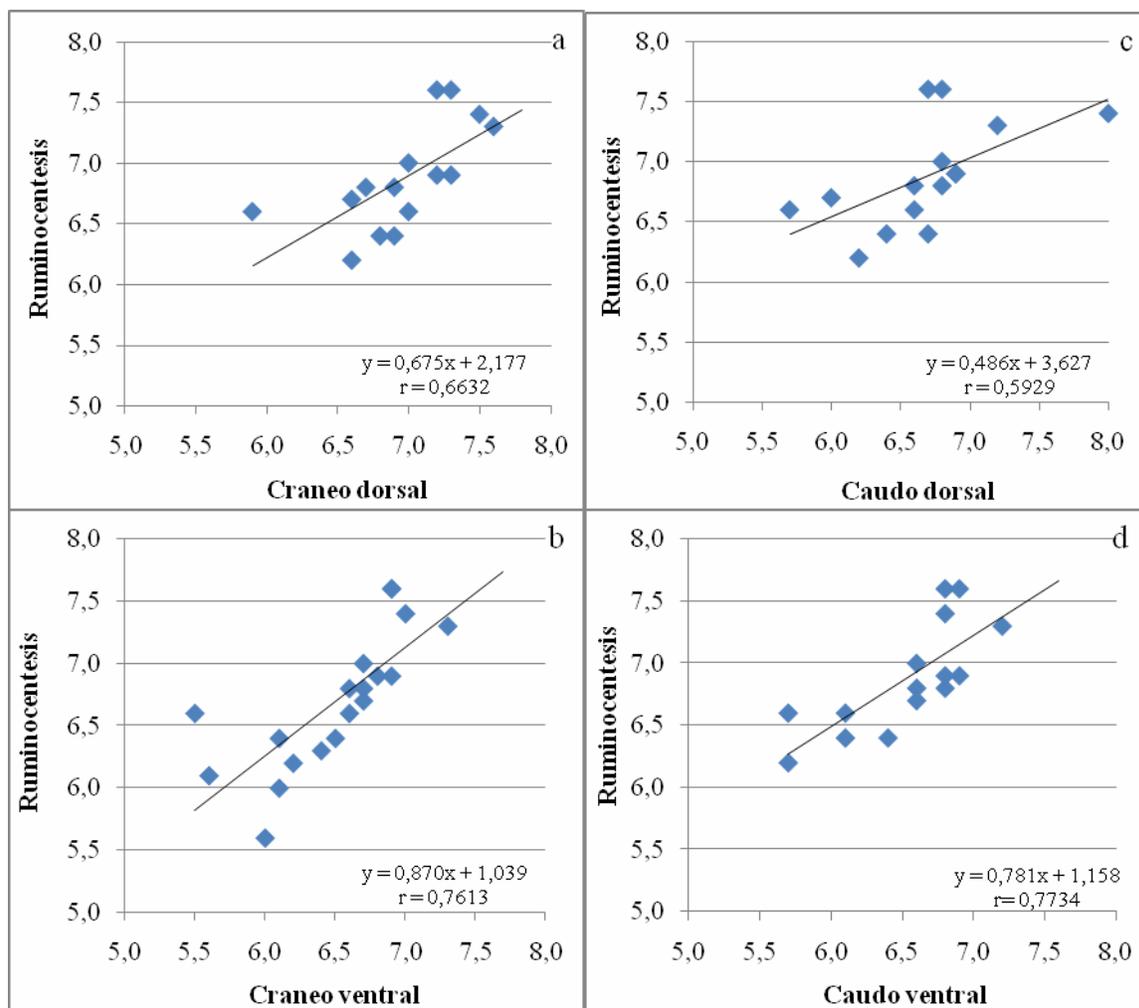


Figura 2. Curvas de regresión y valores de correlación entre pH del líquido ruminal de muestras obtenidas mediante ruminocentesis dorsal y muestras obtenidas mediante cánula desde los sacos cráneo dorsal (a), cráneo ventral (b) caudo dorsal (c) y caudo ventral (d) del rumen.

5.1.2. Análisis químico del líquido ruminal

En relación al tiempo de reducción de azul de metileno (TRAM), las muestras obtenidas mediante sonda oro-ruminal presentaron un mayor TRAM que las muestras obtenidas del saco caudo ventral del rumen o ruminocentesis, las cuales fueron similares entre sí (Cuadro 3). Por otro lado en algunas muestras obtenidas por sonda oro-ruminal no se produjo la reducción del azul de metileno.

Cuadro 3. Número de muestras (n), valores medios ($X \pm DE$) y valor mínimo y máximo de TRAM de muestras de líquido ruminal medido en segundos.

	N	Media	D.E.	Mínimo	Máximo
Caudal Ventral	45	84	42	25	225
Sonda	46	245	125	44	360
Ruminocentesis	13	130	72	60	290

5.1.3. Análisis de las características físicas del líquido ruminal

En la clasificación de acuerdo al color, al menos el 56% de las muestras obtenidas de cada uno de los sacos del rumen y a través de sonda fue categorizada como verde (Cuadro 4), sin embargo, no se observaron diferencias de color entre ellas ($p > 0,05$).

En cuanto a la clasificación de olor, la categoría asignada con mayor frecuencia fue la de olor suave (Cuadro 5).

Cuadro 4. Distribución porcentual de muestras obtenidas de distintas zonas del rumen y mediante sonda oro-ruminal, clasificadas según color.

	Verde Claro	Verde	Verde Oscuro
Caudal Dorsal	2,08	56,25	41,67
Caudal Ventral	8,33	77,08	14,58
Cráneo Dorsal	8,33	60,42	31,25
Cráneo Ventral	16,67	70,83	12,50
Sonda	12,77	63,83	23,40

Cuadro 5. Distribución porcentual de muestras obtenidas de los distintos sacos del rumen y mediante sonda oro-ruminal, clasificadas según olor.

	Pasto	Suave	Fuerte
Caudal Dorsal	12,50	85,42	2,08
Caudal Ventral	4,17	75,00	20,83
Cráneo Dorsal	16,67	79,17	4,17
Cráneo Ventral	4,17	85,42	10,42
Sonda	14,58	83,33	2,08

En el cuadro 6 se observan los valores de viscosidad asignados a cada una de las muestras, resultando la mayoría de las muestras calificadas como levemente viscosa (viscosidad +), excepto para las muestras tomadas en el saco craneo ventral del rumen, la cual concentra la mayoría en la clasificación de medianamente viscosa (viscosidad ++).

Cuadro 6. Distribución porcentual de las muestras de líquido ruminal obtenidas de distintos sacos del rumen y mediante sonda oro-ruminal, clasificadas según viscosidad.

	Líquido	Viscosidad+	Viscosidad ++	Viscosidad +++
Caudo Dorsal	6,25	60,42	33,33	0,00
Caudo Ventral	6,25	47,92	33,33	12,50
Cráneo Dorsal	12,50	54,17	31,25	2,08
Cráneo Ventral	4,17	31,25	41,67	22,92
Sonda	8,33	52,08	14,58	25,00

Viscosidad+ = levemente viscoso; *Viscosidad++* = viscosidad media; *Viscosidad+++* = muy viscoso.

5.2. EXPERIMENTO 2

5.2.1. Técnica de ruminocentesis dorsal

La técnica de ruminocentesis dorsal permitió obtener en todas las punciones realizadas al menos 3 ml de muestra de líquido ruminal.

5.2.1.1. Comportamiento de las vacas a la punción. Presentó diferencias marcadas entre ellas, siendo las respuestas más bruscas en el día 0, en el cual ningún animal permaneció indiferente a la punción (Cuadro 7).

Cuadro 7. Distribución porcentual de las respuestas observadas durante la realización de la ruminocentesis en vacas de lechería.

	Indiferente	Mov. Calmo	Mov. Moderado	Mov. Brusco	Patea
Ruminocentesis 1	0	21	21	21	38
Ruminocentesis 2	22	11	11	33	22
Ruminocentesis 3	25	15	35	20	5
Ruminocentesis 4	27	13	13	33	13
Ruminocentesis 5	11	4	43	32	11

Las temperaturas rectales determinadas a los dos días posteriores a la punción fueron similares a la temperatura previa a la punción con valores promedio dentro del límite fisiológico en los tres días. Sin embargo algunos animales presentaron valores superiores al rango fisiológico, previo y posterior a la punción (Cuadro 8).

Cuadro 8. Número de muestras (n), Valores medios ($X \pm DE$) y valor mínimo y máximo de pH de las temperaturas registradas en vacas de lechería el día de la punción (Día 0) y los dos días siguientes (Día 1 y 2).

	N	Media	D.E.	Mínimo	Máximo
Día 0	110	39,0	0,54	37,6	40,5
Día 1	148	38,8	0,55	37,0	40,7
Día 2	119	38,7	0,44	37,6	39,9

5.2.1.2. Respuesta a la palpación posterior a la punción. Para evaluar la respuesta al dolor se realizó una palpación a las 24 y 48 horas en el sitio de punción para evidenciar dolor, no habiendo respuestas evidentes.

Se observaron 6 vacas del total de 150 ruminocentesis con pequeños aumentos de volumen (aproximadamente 1 a 1,5 cm) en el sitio de punción, 3 se observaron 1 día después de la segunda punción, y 3 posterior a la tercera punción, desapareciendo todas estas antes del final del estudio.

5.2.2 Valores de pH

Los valores promedios de pH de las muestras de orina fueron mayores en 0,8 puntos a las muestras de heces y 1,8 puntos mayores al de las muestras de líquido ruminal obtenido mediante ruminocentesis (Cuadro 9).

Cuadro 9. Valores de pH de muestras de líquido ruminal obtenidas mediante ruminocentesis, de orina y de heces.

	N	Media	D.E.	Mínimo	Máximo
Ruminocentesis	150	6,24	0,42	5,4	7,4
Orina	146	8,01	0,51	6,1	8,9
Heces	149	7,21	0,35	6,3	8,7

Los valores de pH ruminal de las muestras obtenidas mediante ruminocentesis presentaron una baja correlación con el pH de las muestras de heces ($r = 0,41$; Figura 3) y no se correlacionó con el pH urinario ($r = 0,21$; Figura 4).

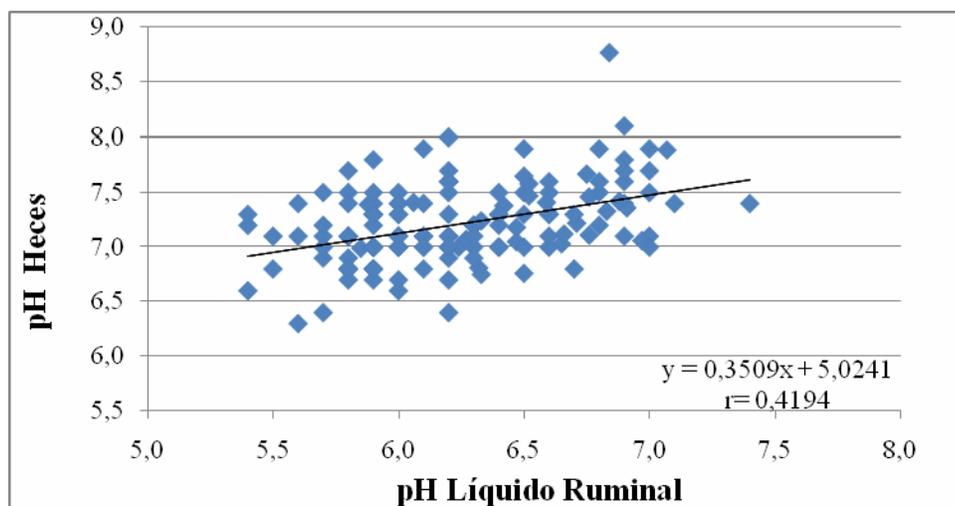


Figura 3. Curva de regresión y valores de correlación entre pH del líquido ruminal obtenidos mediante ruminocentesis y pH fecal.

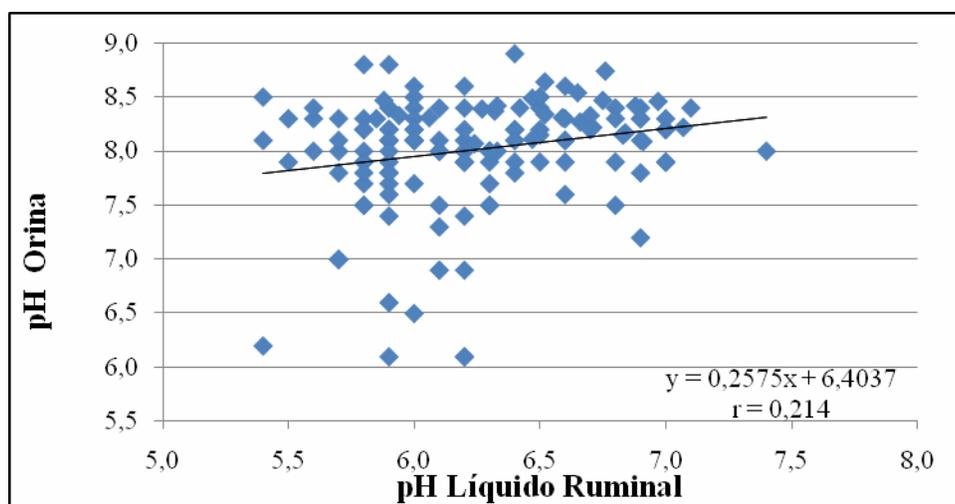


Figura 4. Curva de regresión y valores de correlación entre el pH del líquido ruminal de muestras obtenidas mediante ruminocentesis y pH urinario.

6. DISCUSIÓN

6.1. EXPERIMENTO 1

6.1.1. Análisis de pH de líquido ruminal

El valor de pH de líquido ruminal obtenido mediante sonda oro-ruminal fue superior al de las muestras obtenidas mediante ruminocentesis dorsal, resultado concordante con los obtenidos en otros estudios (Nordlund y Garrett 1994) que demostraron que el pH de líquido ruminal obtenido mediante sonda oro-ruminal fue 1,1 punto superior a la ruminocentesis, con un rango de 0,6 a 1,7 puntos. Esto se explicaría por la contaminación con saliva que recibe la muestra obtenida mediante sonda, que varía entre 2 a 30% (Dirksen y Smith 1987).

Otro factor que influye en esta diferencia entre los valores de pH del líquido ruminal obtenido mediante sonda y ruminocentesis, es por el limitado control del sitio de recolección que provee la sonda, ya que se aspira líquido desde el sitio donde llega la punta de la sonda, el cual puede variar en cada toma de muestra, cambiando así también el resultado (Nordlund y Garrett 1994).

El valor de pH de líquido ruminal obtenido mediante sonda oro-ruminal también fue superior a las muestras obtenidas del saco caudo ventral del rumen por medio de cánula. El pH ruminal cambia considerablemente en diferentes lugares del rumen, por lo que para una evaluación de pH de líquido ruminal se deberían recolectar las muestras de la misma región del rumen en cada muestreo (Garrett y col 1999, Duffield y col 2004) lo que puede lograrse con la ruminocentesis.

Los valores promedios de pH de muestras de líquido ruminal obtenidas mediante ruminocentesis dorsal ($X = 6,69$) fueron similares a las obtenidas del saco caudo ventral ($X = 6,62$) y del saco caudo dorsal del rumen ($X = 6,70$), presentando también una alta correlación entre sí ($r = 0,77$ y $r = 0,59$, respectivamente). En un estudio realizado por Garrett y col (1999) se observó que las muestras obtenidas mediante ruminocentesis ventral fueron 0,28 puntos de pH inferiores a las obtenidas mediante cánula del saco caudo ventral del rumen. En este estudio también se observó una correlación lineal positiva entre los valores de pH de las muestras obtenidas mediante ruminocentesis caudo ventral y cánula ($r = 0,72$). En cambio las muestras obtenidas mediante sonda oro-ruminal fueron en promedio 0,9 puntos superiores a las muestras obtenidas del saco caudo ventral del rumen presentando una baja correlación ($r = 0,58$).

La alta correlación y baja variación de los valores del pH del líquido ruminal de muestras obtenidas mediante ruminocentesis dorsal o directamente del saco caudo ventral del rumen validan el uso de este procedimiento para obtención de muestras de líquido ruminal para el diagnóstico de alteraciones ácido-básicas ruminales en vacas lecheras.

6.1.2. Análisis químico del líquido ruminal

Los valores de TRAM de las muestras obtenidas mediante sonda fueron superiores a los obtenidos mediante ruminocentesis o cánula desde el saco caudo ventral del rumen. Este tiempo aumentado de TRAM se explicaría por una contaminación por saliva de la muestra obtenida mediante la sonda, la cual altera el pH óptimo de reacción reductora de las bacterias presentes en el líquido ruminal (Dirksen y Smith 1987).

6.1.3. Análisis de las características físicas del líquido ruminal

Las muestras de líquido ruminal obtenidas por sonda, cánula o ruminocentesis presentaron colores en tonos de verdes, considerado fisiológico y compatible con la dieta de los animales.

Según Wittwer (2008) el color del líquido ruminal en un animal sano es verde a café, mientras que Bouda y col (1997) lo describe como verde olivo, cambiando a otras coloraciones en presencia de patologías, como negro verdoso en cuadros de putrefacción ruminal, verde pardo o café verdoso en cuadros de alcalosis, gris verdoso o café en cuadros de acidosis crónica y lechoso en cuadros de acidosis láctica aguda.

La mayoría de las muestras de líquido ruminal fueron clasificadas en las categorías de olor pasto y suave (Cuadro 5), las que podrían ser catalogadas por otros autores como aromático (Bouda y col 1997, Wittwer 2008). Un 20 % de las muestras obtenidas desde el saco caudo ventral, y un 10 % de las obtenidas desde el saco craneo ventral fueron catalogadas con olor fuerte, esto puede deberse a una mayor fermentación en los sacos ventrales.

Se describe que el líquido ruminal de animales sanos posee un olor aromático, mientras que en estados patológicos se describen cambios, como mohoso en cuadros de indigestión ruminal simple, ácido en cuadros de acidosis ruminal, amoniacal en cuadros de alcalosis ruminal y a heces o pútrido en cuadros de putrefacción ruminal (Bouda y col 1997, Wittwer 2008).

En cuanto a la viscosidad se observó una mayor presentación de líquido ruminal levemente viscoso, seguidos por viscosidad media, luego muy viscoso y por último acuoso. Se describe que el líquido ruminal de animales sanos es ligeramente viscoso y puede presentarse acuoso en cuadros de indigestión simple y acidosis ruminal aguda. Para otros estados patológicos, distintos autores le otorgan distintas clasificaciones (Bouda y col 1997, Wittwer 2008).

6.2. EXPERIMENTO 2

La técnica de ruminocentesis dorsal tuvo un 100 % de efectividad en las 150 punciones realizadas obteniendo en todas al menos 3 ml de muestra en las vacas.

Se observó que la respuesta a la punción disminuyó posterior a punciones seriadas. En estudios previos de Garrett y col (1999) y Duffield y col (2004) en los que se ha realizado ruminocentesis no se ha informado sobre el comportamiento de los animales durante la punción, probablemente porque en ellos se ha usado xilazina como sedante para facilitar el procedimiento. Además de esto se realizó una palpación en el sitio de punción 24 y 48 horas posteriores a ésta, no obteniendo respuesta evidente en ninguno de los animales. Los resultados del presente estudio validan la técnica de ruminocentesis para obtener líquido ruminal sin el uso previo de sedantes, ya que la molestia del animal tendría mayor relación con la presencia humana que al dolor producido.

En relación a la aparición de lesiones en el sitio de punción se registraron 6 pequeños aumentos de volumen, de un total de 150 punciones realizadas, lo que representa un 4% de los muestreos. Estos resultados son superiores que los que reporta Nordlund y Garrett (1994) los que varían entre 1 a 2 %, lo que estaría asociado a ruminocentesis repetidas.

Las temperaturas rectales determinadas previo y posterior a las punciones mantuvieron valores promedio dentro del límite fisiológico. Sin embargo algunos animales presentaron valores superiores al rango fisiológico, previo y posterior a la punción, esto se debe a que el estudio se realizó en verano en el mes de diciembre, y los registros de temperaturas rectales se llevaron a cabo con temperaturas ambientales altas, entre 14,6°C y 29,4°C según registros de la estación meteorológica ubicada en la estación experimental Santa Rosa (Anexo 5), por lo que no estaría relacionado a cuadros de peritonitis, sino más bien al golpe de calor, ya que no hubo ninguna otra evidencia de alteración clínica ni variaciones en producciones de leche durante el estudio.

Con respecto al pH urinario, el pH promedio fue de 8,0, el cual según Bouda y col 1997 estaría dentro del rango fisiológico, el cual se ubica entre 7,7 y 8,4.

Lo mismo ocurre con el pH de las heces, ya que el rango fisiológico es entre 7,0 y 8,5 (Rosenberger 1979), y en el presente estudio el valor promedio fue de 7,2.

La correlación del pH urinario y del pH del líquido ruminal fue muy bajo, por lo que no se recomienda la medición de pH urinario para el diagnóstico de alteraciones ácido-básicas ruminales subagudas, con valores de pH que no se alejan tanto de los valores de referencia. Resultados similares fueron observados con el pH fecal que tampoco presentó buena correlación con el líquido ruminal, por lo que no se recomienda la medición del pH de heces para el diagnóstico de alteraciones ácido-básicas ruminales, aunque no se niega que la observación de sus características físicas podría ayudar a llegar a un diagnóstico.

A su vez es importante considerar que los animales presentaron valores de pH dentro del rango de referencia. Quizás en animales cursando con SARA o acidosis láctica aguda se observaría correlación conforme fue descrito por Maruta y col (2008), quien en su estudio encontró correlación entre pH sanguíneo y fecal en novillos con acidosis láctica aguda inducida.

Al observarse que las muestras de líquido ruminal obtenidas mediante ruminocentesis es un fidedigno indicador del estado del ambiente ruminal, se postula que es válido realizar una prueba diagnóstica de alteraciones ácido-básicas ruminales basándose en sus características físicas y químicas.

6.3. CONCLUSIONES

La ruminocentesis dorsal es una técnica práctica para la obtención de una muestra representativa del líquido ruminal que no altera el estado de salud de las vacas, pudiendo ser utilizada para la determinación del equilibrio ácido básico ruminal en condiciones de terreno.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Anrique R, R Fuchslocher, S Iraira, R Saldaña. 2008. Composición de alimentos para el ganado bovino. Tercera Edición. Valdivia, Chile. Pp 19-20.
- Asanuma N, T Hino. 2002. Regulation of fermentation in a ruminal bacterium, *Streptococcus bovis*, with special reference to rumen acidosis. *Anim Sci* 73, 313–325.
- Blood D, M Radostits. 1989. Diseases of the Alimentary Tract-II Acute carbohydrate engorgement of ruminants. In: Baillière Tindall (Ed) *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of Cattle, Sheep; pigs, Goats & Horses*. D Blood, O. Radostits 7th Ed. London, England. Pp 247-253.
- Bouda J, M Paasch, O Yabuta. 1997. Desarrollo y empleo del método de diagnóstico preventivo de los trastornos ruminales y metabólicos en bovinos. *Vet. Mex* 28, 189 - 195.
- Cuevas E. 1985. Alimentación de vacas lecheras en pastoreo. En: Latrille L (Ed.) *Alimentación de bovinos para leche y carne*. Valdivia, Chile. Pp 91-125.
- Clayton E, I Lean, J Rowe, J Cox. 1999. Effects of Feeding Virginiamycin and Sodium Bicarbonate to Grazing Lactating Dairy Cows. *J Dairy Sci* 82, 1545-1554.
- Dirksen G. 1985. The rumen acidosis complex-recent knowledge and experiences. A review. *Tierarztl Prax* 13, 501-512.
- Dirksen G, M Smith. 1987. Acquisition and analysis of bovine rumen fluid. *Bovine Pract* 22, 108-116.
- Duffield T, J Plaizier, A Fairfield, R Bagg, G Vessie, P Dick, J Wilson, J Aramini, B McBride. 2004. Comparison of Techniques for Measurement of Rumen pH in Lactating Dairy Cows. *J Dairy Sci* 87, 59-66.
- Garrett E, M Pereira, K Nordlund, L Armentano, W Goodger ,G Oetzel. 1999. Diagnostic Methods for the Detection of Subacute Ruminant Acidosis in Dairy Cows. *J Dairy Sci* 82, 1170-1178.
- Garry F. 2002. Indigestion in ruminants. In: Smith, B. P.(Ed.) *Large Animal Internal Medicine*, 3rd edn. Pp 722 - 747. Mosby, St Louis and Baltimore.

- Hinostraza R GA. 2004. Efecto del tipo de carbohidrato en el concentrado sobre el consumo y comportamiento ingestivo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral. Memoria de título, Escuela de Agronomía, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Kleen J, G Hooijer, J Rehage, J Noordhuizen. 2003. Subacute ruminal acidosis (SARA): A review. *J Vet Med* 50, 406-414.
- Kolver E, M Veth. 2002. Prediction of ruminal pH from pasture based diets. *J Dairy Sci* 85, 1255-1266.
- Maruta C, Leal M, Netto D, Mori C, Antonelli A, Ortolani E. 2008 The measurement of urine pH to predict the amount of buffer used in the treatment of acute rumen lactic acidosis in cattle. *Cienc. Rural* 38, 717 – 722.
- Morgante M, C Stelletta, P Berzaghi, M Giancesella, I Andrighetto. 2007. Subacute rumen acidosis in lactating cows: an investigation in intensive Italian dairy herds. *J Anim Physiol An N* 91, 226-234.
- Murrell J, E Psatha, E Scott, J Reid, L Hellebrekers. 2008. Application of a modified form of the Glasgow pain scale in a veterinary teaching centre in the Netherlands. *Vet Rec* 162, 403 – 408.
- Nocek J. 1997. Bovine Acidosis: Implications on Laminitis. *J Dairy Sci* 80, 1005-1028.
- Nordlund K, E Garrett. 1994. Rumenocentesis: A technique for collecting rumen fluid for the diagnosis of subacute rumen acidosis in dairy herds. *Bovine Pract* 28, 109-112.
- Nordlund K, E Garrett, G Oetzel. 1995. Herd-based rumenocentesis: A clinical approach to the diagnosis of subacute rumen acidosis. *Comp Cont Educ Food Anim* 17, 48-56.
- Noro M, P Sepúlveda. 2008. Acidosis y alcalosis ruminal En: P.A.Contreras y M. Noro (Ed) Rumen Morfofisiología, trastornos y modulación de la actividad fermentativa. Valdivia, Chile. Pp 79-91.
- Oetzel G. 2003. Herd-based biological testing for metabolic disorders. *Adv Dairy Tech* 15, 275.
- Owens F, D Secrist, W Hill, D Gill. 1998. Acidosis in cattle: a review. *J Anim Sci* 76, 275-286.
- Roberts J, A Delgado C. 2001. Acidosis ruminal subclínica: diagnóstico por Ruminocentesis. *Rev Investig Vet Perú* 12, 135-137.

- Romero O. 2003. Establecimiento – manejo de praderas y balance forrajero. En: Catrileo A (Ed.) Producción de terneros para una ganadería de carne competitiva.”Primer curso de capacitación ganadera para la agricultura familiar campesina (AFC)”. Temuco, Chile. Pp 7 -8.
- Rosenberger G. 1979. Clinical examination of the cattle. Verlag Paul Parey. Berlin and Hamburg, Germany. Pp 236-240.
- Scandolo D, M Noro, H Böhmwald, PA Contreras, F Wittwer. 2007. Variación diurna del pH y de las concentraciones de magnesio y potasio del fluido ruminal en vacas lecheras a pastoreo. *Arch Med Vet* 39, 141-146.
- Slyter LL. 1976. Influence of acidosis on rumen function. *J Anim Sci* 43, 910–929.
- Wales W, E Kolver, P Thorne, A Egan. 2004. Diurnal Variation in Ruminal pH on the Digestibility of Highly Digestible Perennial Ryegrass During Continuous Culture Fermentation. *J Dairy Sci* 87, 1864-1871.
- Wittwer F. 2008. Análisis del líquido ruminal como ayuda diagnóstica en alteraciones en el rumen. En: Contreras PA y Noro M (Ed) Rumen Morfofisiología, trastornos y modulación de la actividad fermentativa. Valdivia, Chile. Pp 93-101.

8. ANEXO 1

Datos de pH y TRAM obtenidos de muestras de líquido ruminal en el Experimento 1, de 4 vacas fistuladas.

Vaca	Día	Hora	pH.CrV	ph.CrD	pH.CaV	pH.CaD	pH.Son	pH.R	T.CaV	T.Son	T.Rum
1844	1	8:30	7,1	7,2	7,1	6,5	8,3	-	45	165	-
1501	1	8:30	7,4	7,8	7,5	7,6	7,9	-	45	165	-
1608	1	8:30	7,1	7,7	7,6	7,4	8,2	-	105	180	-
1606	1	8:30	7,6	7,4	7,6	7,5	7,8	-	45	55	-
1844	2	8:30	6,3	7,1	6,2	6,0	7,5	-	85	165	-
1501	2	8:30	6,9	7,2	6,1	6,5	8,2	-	180	360	-
1608	2	8:30	6,3	6,2	6,1	6,8	7,3	-	150	195	-
1606	2	8:30	6,2	7,3	6,3	6,7	7,4	-	90	190	-
1844	3	8:30	6,2	6,7	6,0	6,3	6,7	-	75	170	-
1501	3	8:30	6,5	6,5	6,5	6,2	7,0	-	125	360	-
1608	3	8:30	6,5	7,1	6,5	6,6	7,3	-	70	100	-
1606	3	8:30	7,0	7,0	6,7	6,7	7,9	-	65	360	-
1844	4	8:30	6,0	6,4	6,6	6,6	7,5	-	225	340	-
1501	4	8:30	6,4	6,7	6,3	6,3	7,7	-	85	100	-
1608	4	8:30	6,1	6,6	6,3	6,0	7,2	-	75	360	-
1606	4	8:30	6,6	6,7	6,6	6,5	8,0	-	90	360	-
1844	1	13:30	7,0	7,3	6,9	6,5	7,4	-			-
1501	1	13:30	7,2	7,0	7,1	7,2	7,6	-	45	90	-
1608	1	13:30	7,2	7,8	7,4	7,3	7,8	-	25	135	-
1606	1	13:30	7,3	7,5	7,2	7,2	8,5	-		44	-
1844	2	13:30	6,7	7,3	6,9	7,1	7,8	-	55	360	-
1501	2	13:30	7,0	7,5	6,3	7,1	7,4	-	75	90	-
1608	2	13:30	7,7	7,5	6,8	7,2	9,0	-	90	360	-
1606	2	13:30	7,5	7,2	6,8	7,1	8,6	-	80	360	-
1844	3	13:30	5,8	6,1	6,5	6,2	6,6	-	60	60	-
1501	3	13:30	6,6	6,0	6,3	6,2	6,9	-	75	360	-
1608	3	13:30	6,5	7,1	6,4	6,6	6,9	-	90	360	-
1606	3	13:30	7,0	6,8	6,7	6,8	7,8	-	110	360	-
1844	4	13:30	6,3	6,9	6,1	6,4	6,8	-	55	95	-

Continúa en la página siguiente

Vaca	Día	Hora	pH.CrV	ph.CrD	pH.CaV	pH.CaD	pH.Son	pH.R	T.CaV	T.Son	T.Rum
1501	4	13:30	6,3	7,1	6,5	6,6	7,6	-	65	65	-
1608	4	13:30	6,6	6,8	6,5	6,4	7,4	-	50	100	-
1606	4	13:30	6,5	6,4	6,4	6,5	7,5	-	65	360	-
1844	1	17:30	6,7	6,9	6,8	6,6	7,6	6,8			60
1501	1	17:30	6,9	7,3	6,9	6,9	8,3	6,9	45	75	80
1608	1	17:30	6,8	7,2	6,8	6,9	7,3	6,9	55	65	
1606	1	17:30	6,9	7,2	6,8	6,7	7,8	7,6	45	360	
1844	2	17:30	6,9	7,3	6,9	6,8	7,7	7,6	75	360	75
1501	2	17:30	7,0	7,5	6,8	8,0	7,7	7,4	55	290	70
1608	2	17:30	7,3	7,8	7,1	7,1	8,5		55	360	
1606	2	17:30	7,3	7,6	7,2	7,2	8,1	7,3	55	360	290
1844	3	17:30	5,5	5,9	5,7	5,7	7,2	6,6	75	115	90
1501	3	17:30	6,2	6,6	5,7	6,2	7,0	6,2	195	360	235
1608	3	17:30	6,6	7,0	6,1	6,6	7,1	6,6	175	360	205
1606	3	17:30	6,6	6,7	6,6	6,8	7,4	6,8	75	360	90
1844	4	17:30	6,5	6,9	6,4	6,4	7,5	6,4	90	360	115
1501	4	17:30	6,1	6,8	6,1	6,7	7,1	6,4	115	310	160
1608	4	17:30	6,7	6,6	6,6	6,0	8,6	6,7	90	360	90
1606	4	17:30	6,7	7,0	6,6	6,8	7,4	7,0	90	360	125
1844	5	17:30	5,6		5,6			6,1			
1501	5	17:30	6,0		6,0			5,6			
1608	5	17:30	6,1		6,1			6,0			
1606	5	17:30	6,4		6,4			6,3			

*TRAM expresado en segundos, **pH.CrV**, pH de muestra del saco cráneo ventral; **pH.CrD**, pH de muestra del saco cráneo dorsal; **pH.CaV**, pH de muestra del saco caudo ventral del rumen; **pH.CaD**, pH de muestra del saco caudo dorsal del rumen; **pH.Son**, pH de muestra obtenida a través de sonda; **pH.R**, Valor de pH de muestra obtenida mediante ruminocentesis; **T.CaV**, Tiempo reducción de azul de metileno de muestra del saco caudo ventral del rumen; **T.Son**, Tiempo reducción de azul de metileno de muestra obtenida mediante sonda ororuminal; **T.Rum**, Tiempo reducción de azul de metileno de muestra obtenida mediante ruminocentesis dorsal.*

ANEXO 2

Datos de pH obtenidos de muestras de líquido ruminal, heces y orina en el Experimento 2, de 30 vacas en lactancia, los días 0, 5 y 10.

Animal	Día 0			Día 5			Día 10		
	pHLR	pHO	pHH	pHLR	pHO	pHH	pHLR	pHO	pHH
46	5,9	8,4	7,2	7,0	8,2	7,7	6,4	8,4	7,4
57	5,7	8,0	7,1	6,6	7,6	7,6	6,3	8,4	6,8
87	6,4	8,9	7,5	5,8	7,9	7,1	6,7	8,2	7,2
94	5,8	8,2	6,8	5,9	8,1	7,0	6,3	8,4	7,1
99	5,6	8,3	6,3	5,8	8,0	6,9	6,5	8,2	6,8
130	5,9	8,8	7,0	5,8	8,2	7,7	6,5	8,3	7,6
319	6,2	8,0	7,5	6,9	7,8	7,6	6,9	8,1	7,4
322	6,2	8,0	7,6	6,9	8,4	7,7	6,9	8,4	7,4
325	5,8	8,3	7,5	7,0	7,9	7,9	6,8	8,5	7,7
333	6,2	7,9	7,1	6,8	8,3	7,9	6,8	8,2	8,7
335	6,2	8,6	7,0	6,8	7,5	7,6	6,6	8,3	7,4
349	6,1	8,0	7,1	6,5	8,2	7,5	6,5	8,6	7,5
350	6,4	7,9	7,0	7,4	8,0	7,4	6,2	8,1	7,0
1452	6,2	7,9	7,1	6,9	8,1	7,4	6,7	8,5	7,0
1491	6,0	8,4	7,5	6,2	8,4	8,0	6,3	8,0	6,8
1493	6,8	8,4	7,2	7,1	8,4	7,4	7,1	8,2	7,9
1498	6,0	8,2	7,1	7,0	7,9	7,5	6,5	8,5	7,7
1581	5,7	8,1	6,9	5,9	7,9	7,4	6,5	8,5	7,2
1586	6,3	8,0	7,2	5,9	8,1	6,8	6,1	8,3	7,4
1597	7,0	8,2	7,1	6,3	7,5	7,0	7,0	8,5	7,1
1598	6,5	8,4	7,3	6,1	8,1	7,9	6,7	8,3	7,1
1683	6,6	8,6	7,5	6,9	8,3	7,8	6,8		7,1
1712	5,9	8,4	7,3	6,6	8,3	7,3	6,7	8,3	7,3
2012	5,7	8,3	7,2	6,2	8,1	7,6	6,8	8,7	7,5
2117	5,4	8,5	6,6	6,8	7,9	7,5	5,9	8,3	
5165	7,0	8,3	7,0	5,4	8,1	7,2	6,8	8,2	7,3
5175	5,5	8,3	6,8	5,6	8,4	7,4	5,9	8,5	7,4
5181	6,0	8,5	6,7	5,9		7,8	5,9	8,3	7,0
5182	6,0	8,6	7,0	6,1	8,4	7,1	6,5	8,1	7,1
5185	6,0	8,3	7,4	6,5	8,5	7,9	6,3	8,4	7,2

pHLR, pH muestras de líquido ruminal; *pHO*, pH muestras de Orina; *pHH*, pH muestras de heces.

Datos de pH obtenidos de muestras de líquido ruminal, heces y orina en el Experimento 2, de 30 vacas en lactancia, los días 0, 5 y 10.

Animal	Día 15			Día 20		
	pHLR	pHO	pHH	pHLR	pHO	pHH
46	5,9	8,2	7,0	6,4	8,2	7,3
57	5,7	7,0	7,0	5,9	8,2	6,8
87	6,1	6,9	6,8	5,6	8,0	7,1
94	6,1	7,3	7,0	5,8	7,8	7,1
99	6,0	7,7	6,6	6,2		6,4
130	5,5	7,9	7,1	6,3	8,0	6,9
319	6,3	7,5	7,2	6,6	7,9	7,0
322	6,3	7,9	7,2	6,4	8,2	7,2
325	6,0	6,5	7,0	6,0	8,1	7,3
333	5,9	7,6	7,5	6,4	8,1	7,3
335	6,2	6,1	7,0	6,4	8,1	7,0
349	5,9	7,4	7,3	6,5	7,9	7,0
350	6,2	6,1	7,7	6,3	8,0	7,2
1452	5,8	7,5	6,8	6,6	8,1	7,3
1491	5,9	6,1	6,7	5,9	8,1	7,0
1493	5,9	7,8	7,3	6,0	8,1	7,3
1498	6,0	8,1	7,0	5,8	8,8	6,8
1581	5,9	6,6	7,0	6,9	8,3	7,1
1586	5,4	6,2	7,3	6,2	7,9	7,6
1597	5,9	7,7	7,3	6,4	7,8	7,0
1598	6,2	6,9	6,9	6,2	8,0	7,0
1683	5,9	7,8	6,8	5,7	7,8	6,4
1712	5,8	7,7	7,1	6,6	8,1	7,1
2012	6,2	7,4	7,3	6,1	8,0	7,0
2117	5,7	7,0	7,5	5,8	7,9	6,7
5165	6,0	8,2	7,4	5,9	8,0	7,0
5175	6,1	7,5	7,4	6,0	8,1	7,1
5181	5,8		6,8	6,2	8,2	6,7
5182	5,8	7,5	7,4	6,3	7,7	7,1
5185	6,9	7,2	8,1	6,7	8,2	6,8

pHLR, pH muestras de líquido ruminal; *pHO*, pH muestras de Orina; *pHH*, pH muestras de heces.

ANEXO 3

Temperaturas rectales previas a la ruminocentesis dorsal en 30 vacas en lactancia.

Animal	Punción	T°C	Animal	Punción	T°C	Animal	Punción	T °C	Animal	Punción	T°C
46	2	39,4	1597 A	3	38,7	57	4	38,9	5182	5	39,1
57	2	39,4	350	3	38,8	1712	4	38,9	1498	5	39,2
87	2	39,4	1597	3	38,8	99	4	39,0	333	5	39,3
94	2	39,4	94	3	38,9	1586	4	39,0	5185	5	39,4
99	2	39,4	130	3	38,9	5185	4	39,0	1491	5	39,5
130	2	39,4	1712	3	38,9	325	4	39,1	1581	5	39,5
319	2	39,4	2012	3	39,0	1491	4	39,1	94	5	39,7
322	2	39,4	5165	3	39,3	5181	4	39,1	1597 A	5	40,0
325	2	39,4	5181	3	39,3	5182	4	39,1			
333	2	39,4	5185	3	39,3	333	4	39,3			
335	2	39,4	322	3	39,4	46	4	39,4			
349	2	39,4	46	3	39,5	335	4	39,8			
350	2	39,4	99	3	39,5	5181	5	38,0			
1452	2	39,4	333	3	39,5	1452	5	38,3			
1491	2	39,4	1586	3	39,6	87	5	38,4			
1493	2	39,4	349	3	40,2	99	5	38,4			
1498	2	39,4	335	3	40,5	130	5	38,4			
1581	2	39,4	1493	4	37,6	1597	5	38,4			
1586	2	39,4	1581	4	37,6	5175	5	38,4			
1597	2	39,4	2012	4	37,8	57	5	38,5			
1597 A	2	39,4	349	4	37,9	1586	5	38,5			
1683	2	39,4	1498	4	38,0	1493	5	38,6			
1712	2	39,4	1597	4	38,0	2117	5	38,6			
2012	2	39,4	130	4	38,1	46	5	38,7			
2117	2	39,4	1683	4	38,3	322	5	38,7			
5165	2	39,4	5165	4	38,3	319	5	38,8			
5175	2	39,4	87	4	38,4	325	5	38,8			
5181	2	39,4	322	4	38,5	1683	5	38,8			
5182	2	39,4	350	4	38,5	5165	5	38,8			
5185	2	39,4	1452	4	38,5	350	5	39,0			
87	3	38,2	94	4	38,6	1712	5	39,0			
319	3	38,3	319	4	38,6	335	5	39,1			
1498	3	38,4	5175	4	38,6	349	5	39,1			
1683	3	38,4	2117	4	38,8	2012	5	39,1			

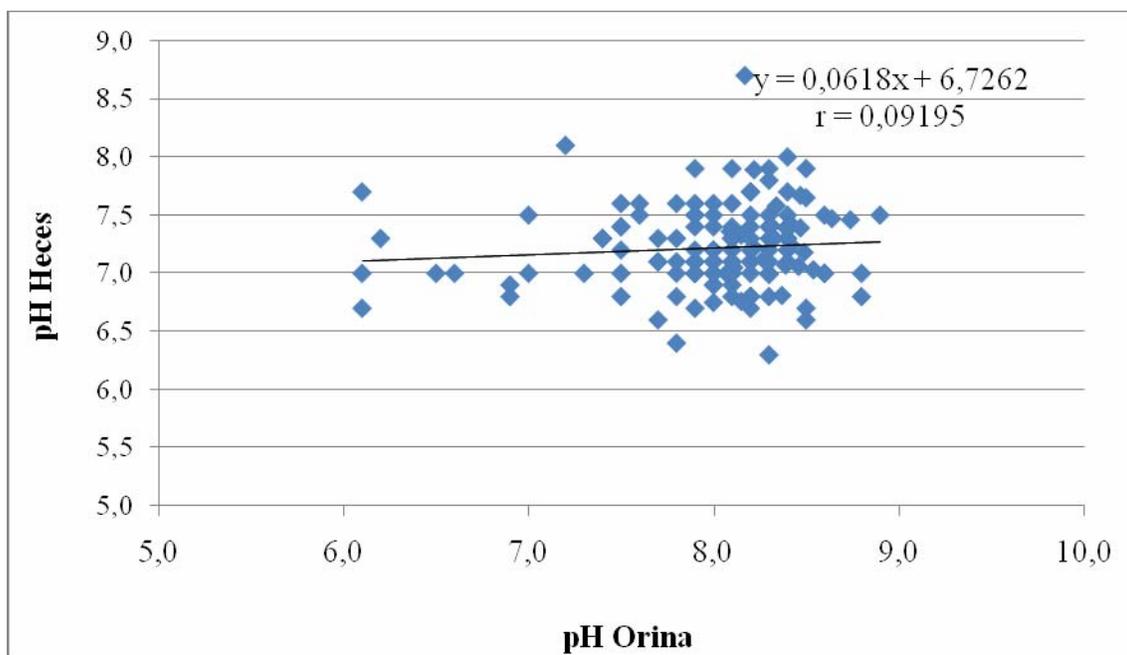
Temperaturas rectales 24 horas posterior a la ruminocentesis dorsal en 30 vacas en lactancia.

Animal	Punción	T°C									
46	1	39,3	322	2	39,0	1491	3	38,5	1683	4	38,1
57	1	39,8	325	2	39,2	1493	3	37,8	1712	4	38,4
87	1	38,3	333	2	39,1	1498	3	38,1	2012	4	38,0
94	1	39,0	335	2	39,2	1581	3	38,4	2117	4	38,1
99	1	39,8	349	2	39,3	1586	3	38,9	5165	4	38,4
130	1	39,2	350	2	39,1	1597	3	38,8	5175	4	37,0
319	1	38,9	1452	2	38,7	1597 A	3	38,8	5181	4	38,4
322	1	40,0	1491	2	38,7	1683	3	38,2	5182	4	38,5
325	1	40,0	1493	2	38,8	1712	3	38,8	5185	4	38,9
333	1	39,6	1498	2	38,9	2012	3	39,2	46	5	38,6
335	1	40,7	1581	2	38,8	2117	3	38,3	57	5	38,7
349	1	40,0	1586	2	38,7	5165	3	38,3	87	5	38,8
350	1	39,3	1597	2	38,2	5175	3	38,8	94	5	38,6
1452	1	38,6	1597 A	2	38,3	5181	3	39,1	99	5	39,2
1491	1	39,5	1683	2	38,0	5182	3	38,8	130	5	38,5
1493	1	38,9	1712	2	38,7	5185	3	38,2	319	5	38,8
1498	1	39,6	2012	2	39,1	46	4	38,7	322	5	38,9
1581	1	39,3	2117	2	38,7	57	4	38,4	325	5	38,8
1586	1	39,4	5165	2	38,1	87	4	38,6	333	5	38,8
1597	1	39,2	5175	2	38,2	94	4	38,6	335	5	39,3
1597 A	1	38,7	5181	2	38,3	99	4	38,7	349	5	38,9
1683	1	38,9	5182	2	38,5	130	4	38,0	350	5	39,2
1712	1	39,7	5185	2	38,8	319	4	38,7	1452	5	38,6
2012	1	40,6	46	3	38,4	322	4	37,4	1491	5	38,9
2117	1	39,4	57	3	38,5	325	4	38,0	1493	5	38,3
5165	1	39,1	87	3	38,4	333	4	37,7	1498	5	39,3
5175	1	39,2	94	3	38,3	335	4	38,8	1581	5	38,5
5181	1	39,2	99	3	38,8	349	4	38,7	1597	5	38,0
5182	1	39,9	130	3	38,0	350	4	38,1	1683	5	38,7
5185	1	39,7	319	3	38,9	1452	4	38,5	1712	5	38,9
46	2	38,7	322	3	38,8	1491	4	38,6	2012	5	38,7
57	2	38,8	325	3	38,4	1493	4	38,3	2117	5	38,2
87	2	39,3	333	3	39,2	1498	4	38,1	5165	5	38,7
94	2	38,7	335	3	39,1	1581	4	38,6	5175	5	38,4
99	2	38,6	349	3	38,9	1586	4	38,2	5181	5	38,5
130	2	38,4	350	3	38,4	1597	4	38,5	5182	5	39,0
319	2	38,7	1452	3	37,8	1597 A	4	38,6	5185	5	39,1

Temperaturas rectales 48 horas posterior a la ruminocentesis dorsal en 30 vacas en lactancia.

<u>Animal</u>	<u>Punción</u>	<u>T°C</u>									
319	1	38,5	1498	3	38,4	130	4	38,4	5181	5	38,8
1493	1	38,5	319	3	38,5	333	4	38,4	87	5	38,9
5165	1	38,5	325	3	38,5	349	4	38,4	2012	5	39,0
94	1	38,6	349	3	38,5	2012	4	38,4	350	5	39,1
1586	1	38,6	57	3	38,6	5175	4	38,4	1581	5	39,1
87	1	38,8	87	3	38,6	319	4	38,5	1586	5	39,1
1683	1	38,8	1683	3	38,6	1491	4	38,5	5185	5	39,1
46	1	39,0	94	3	38,7	1712	4	38,5	325	5	39,4
57	1	39,0	130	3	38,7	2117	4	38,5	1491	5	39,4
130	1	39,1	1452	3	38,7	46	4	38,6	335	5	39,5
349	1	39,1	1712	3	38,7	1452	4	38,6	349	5	39,5
1491	1	39,1	333	3	38,8	5185	4	38,6			
1581	1	39,1	335	3	38,8	5182	4	38,7			
1597	1	39,1	1597	3	38,8	350	4	38,8			
1597 A	1	39,1	1597 A	3	38,8	1581	4	38,8			
5181	1	39,1	2012	3	38,8	5181	4	38,8			
5185	1	39,1	2117	3	38,8	94	4	38,9			
99	1	39,2	5182	3	38,9	5182	5	38,0			
350	1	39,2	5175	3	39,0	1683	5	38,0			
2117	1	39,2	5185	3	39,0	130	5	38,1			
5182	1	39,2	46	3	39,1	1498	5	38,2			
1452	1	39,3	1581	3	39,1	46	5	38,4			
322	1	39,5	5181	3	39,4	94	5	38,4			
333	1	39,5	5165	4	37,6	5165	5	38,4			
1498	1	39,5	335	4	37,7	5175	5	38,4			
1712	1	39,5	1493	4	37,9	57	5	38,5			
5175	1	39,5	1498	4	38,0	322	5	38,5			
325	1	39,6	1586	4	38,0	1493	5	38,5			
335	1	39,6	57	4	38,1	1452	5	38,6			
2012	1	39,9	87	4	38,1	1597	5	38,6			
99	3	38,3	322	4	38,1	1597 A	5	38,6			
1491	3	38,3	1597	4	38,2	1712	5	38,6			
1493	3	38,3	1683	4	38,2	99	5	38,7			
1586	3	38,3	325	4	38,3	319	5	38,7			
5165	3	38,3	1597 A	4	38,3	333	5	38,8			
322	3	38,4	99	4	38,4	2117	5	38,8			

ANEXO 4



Curva de regresión y valor de correlación de pH de muestras de orina y pH de las heces.

ANEXO 5

Temperaturas ambientales e índice de radiación ultravioleta obtenidas en la estación meteorológica de la estación experimental Santa Rosa los días de obtención de temperaturas rectales de vacas lecheras.

Fecha	Hora	Temperatura °C	Índice U.V.	Obtención
04-12-2008	15:30	25,3	11	1
05-12-2008	15:30	29,4	11	2
06-12-2008	15:30	21,6	10,8	3
09-12-2008	15:30	25,1	10,8	1
10-12-2008	15:30	25,3	9,4	2
11-12-2008	15:30	26,8	10,2	3
14-12-2008	15:30	24,3	11,1	1
15-12-2008	15:30	19,6	11,9	2
16-12-2008	15:30	19,5	10,8	3
19-12-2008	15:30	19,6	6	1
20-12-2008	15:30	14,6	8,5	2
21-12-2008	15:30	15,9	11,1	3
24-12-2008	15:30	21,3	12	1
25-12-2008	15:30	26,7	11,2	2
26-12-2008	15:30	25,9	11	3

*Obtención 1= Día de punción; Obtención 2= 24 horas posteriores a punción;
Obtención 3= 48 horas posteriores a punción*

Fuente: Estación experimental Santa Rosa. Instituto de Ingeniería Agraria y Suelos. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile. 2009.

9. AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todas las personas que de una u otra forma ayudaron a la realización de esta Memoria de Título, en forma especial:

- A mis padres, por su cariño, paciencia y comprensión, ya que sin ellos nada de esto hubiera sido posible.
- A la Dra. Mirela Noro por su disposición a ayudarme, por su valiosa guía y correcciones y por contagiarme de motivación para la realización de este trabajo.
- Al Dr. Fernando Wittwer por sus consejos y correcciones.
- A Pilar Sepulveda y Pilar Cerna, con quienes tuve el agrado de trabajar en las obtenciones de muestras, y a Luis Maza por su ayuda en la toma de temperatura de las vacas.
- A mi gran amigo Claudio Henriquez, por sus consejos y ayuda en la redacción del escrito.
- Al proyecto fondecyt 107039-1 y al Dr. Pulido por el uso de vacas canuladas en este estudio y al proyecto FIA-CS-C-2004-1-P-002 M2P6 del Consorcio de la Leche.