

# VETERINARIA



Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay

Año LXXIV - Volumen 50 - Nº 194 - Abril a Junio de 2014 - ISSN 1688-4809

Indizada en: VET-CD/BEASTCD, Latindex

## CONTENIDO:

**SOBRE LA REVISTA** ..... 2

## ARTÍCULOS CIENTÍFICOS:

**Efecto de la suplementación con concentrados conteniendo granos de girasol o soja sobre las variables productivas y reproductivas y el metabolismo en vacas Holando primíparas durante el posparto temprano**

Effect of supplementation of whole sunflower seed and soybean seed on productive and reproductive variables and on metabolism in Holstein primiparous cows during the early postpartum period

Crespi, D.; Mendoza, A.; Cavestany, D. .... 4

**La restricción en el tiempo de acceso al forraje en ovinos alimentados con pastura de buena calidad afecta algunos grupos microbianos ruminales**

The restriction in the time of access to forage in ovine fed a high quality pasture affect groups of ruminal microorganisms

Pérez-Ruchel A., Repetto J.L., Fraga M., Perelmuter K., Zunino P., Cajarville C. .... 22

## ARTÍCULOS TÉCNICOS:

**Intoxicación espontánea y experimental por *Quercus robur* (roble inglés) en bovinos en Uruguay**

Spontaneous and experimental poisoning by *Quercus robur* (English oak) in bovine in Uruguay

Dutra F., Romero A., Trelles, P, Arruti F., Ferres, J., Quinteros C. .... 34

**Hemipelvectomy total em felino com osteosarcoma pélvico. Relato de caso**

Hemipelvectomy in cats with pelvic osteosarcoma. Case report

Izquierdo DFC, Ferrigno CRA, Rizzo MFC, Dal Bó , Valente AF, Dos Santos JF,

Poletto MF, Della Nina MI, Cavalcanti RAO, Ferraz VCM..... 49

**INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES** ..... 59

## SOBRE LA REVISTA:

Veterinaria (Montevideo) es la revista oficial de la Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay (SMVU) que tiene el objetivo de publicar artículos en idioma español sobre temas científicos, técnicos y otras comunicaciones de interés a las Ciencias Veterinarias. Es una publicación trimestral (versión electrónica – página web de la revista). El volumen completo de cada año (cuatro números) se imprime a fin de año y es distribuido gratuitamente a los socios de la SMVU. La versión electrónica de los números publicados se mantiene en la página oficial de la revista (<http://www.revistasmvu.com.uy>), la que permite la consulta gratuita de los ejemplares de los últimos años. Los contenidos y opiniones incluidos en los artículos son responsabilidad exclusiva de los autores. Se autoriza la reproducción parcial o total de lo editado mencionando la fuente.

Por convenio de la SMVU y Facultad de Veterinaria (16 de diciembre de 1988), el Departamento de Documentación y Biblioteca de la Facultad de Veterinaria, se realiza el canje internacional por otras publicaciones científicas.

La revista tiene dos secciones diferenciadas, Científica y Técnica. La inclusión de trabajos enviados en una u otra sección se hará de acuerdo a las especificaciones detalladas más abajo. Los contenidos y opiniones incluidos en los artículos son responsabilidad exclusiva de los autores.

### REDACTOR RESPONSABLE:

Dr. Ramiro Díaz (Presidente SMVU).

Cerro Largo 1895, Montevideo teléfono-fax (+598) 2408 6174 - 2409 9458

## SECCIÓN CIENTÍFICA:

### Editor Jefe:

Dr. Daniel Cavestany (PhD), Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay (UdelaR), Lasplaces 1620, CP 11600, Montevideo, Uruguay

### Consejo Editorial:

Dra. Cecilia Cajarville (PhD), Facultad de Veterinaria (UdelaR), Uruguay

Ing. Agr. Pablo Chilibroste (PhD), Facultad de Agronomía (UdelaR), Uruguay

Dr. Guillermo Couto (MV, dipl. ACVIM), Ohio State University, EE.UU

Dr. Luzbel de la Sota (PhD), Facultad de Veterinaria, Universidad de La Plata, Argentina

Dr. Andrés Gil (PhD), Facultad de Veterinaria (UdelaR), Uruguay

Dr. Roberto Kremer (MSc), Facultad de Veterinaria (UdelaR), Uruguay

Dr. Carlos Larsson (PhD), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, USP, Brasil

Dra. Jacqueline Maisonnave (PhD), Facultad de Veterinaria (UdelaR), Uruguay

Dra. Ana Meikle (PhD), Facultad de Veterinaria (UdelaR), Uruguay

Dr. José Luis Repetto (PhD), Facultad de Veterinaria (UdelaR), Uruguay

Dr. Franklin Riet (PhD), CSTR, UFCG, Patos PB, Brasil

Dr. Rodolfo Rivero (MSc), DILAVE “Miguel C. Rubino”, MGAP, Uruguay  
Dr. Heriberto Rodríguez-Martínez (PhD), CBR, Linköping University, Suecia  
Dr. Jorge Tórtora, FES Cuautitlán UNAM, México  
Ing. Agr. Jorge Urioste (PhD), Facultad de Agronomía (UdelaR), Uruguay  
Dra. Carolina Viñoles (PhD), INIA, Uruguay  
Dr. Pablo Zunino (PhD) IIBCE, Uruguay

### Secretario:

Dr. Rodrigo Puentes (MSc), Facultad de Veterinaria (UdelaR)

## SECCIÓN TÉCNICA:

### Editor:

Dra. María A. Solari, DILAVE “Miguel C. Rubino” - MGAP

### Consejo Editorial

“Profesor Walter García Vidal”:

Dr. Luis Barros (PhD), Facultad de Veterinaria (UdelaR)  
Dr. Uruguaysito Benavides, Facultad de Veterinaria (UdelaR)  
Dr. Ulises Cuore, DILAVE “Miguel C. Rubino” - MGAP  
Dra. Valeria Gayo (MSc), DILAVE “Miguel C. Rubino” - MGAP

## CONTACTO:

Email: [editor@revistasmvu.com.uy](mailto:editor@revistasmvu.com.uy)

Website: [www.revistasmvu.com.uy](http://www.revistasmvu.com.uy)

#### **Publicación trimestral (versión electrónica)**

El volumen completo (números 193- 196) será impreso a fin de año y será distribuido a los socios de la SMVU.

Los contenidos y opiniones incluidos en los artículos son responsabilidad exclusiva de los autores.

Se autoriza la reproducción parcial o total de lo editado mencionando la fuente.

Por convenio de la SMVU y Facultad de Veterinaria (16 - 12 - 1988), el Dpto. de Documentación y Biblioteca de la Facultad de Veterinaria, se realiza el canje internacional por otras publicaciones científicas.

## Efecto de la suplementación con concentrados conteniendo granos de girasol o soja sobre las variables productivas y reproductivas y el metabolismo en vacas Holando primíparas durante el posparto temprano

### Effect of supplementation of whole sunflower seed and soybean seed on productive and reproductive variables and on metabolism in Holstein primiparous cows during the early postpartum period

Crespi, D.<sup>1\*</sup>; Mendoza, A.<sup>2</sup>;  
Cavestany, D.<sup>1</sup>

Recibido: 20/6/2013  
Aprobado: 25/9/2013

#### RESUMEN

Para evaluar los efectos de la suplementación con fuentes de grasa poliinsaturadas en el posparto (PP) temprano en variables productivas, reproductivas y metabólicas se utilizaron 33 vacas primíparas de parición de otoño (3 tratamientos por 11 repeticiones) que recibieron diariamente 6 kg de 3 concentrados: control, suplementación con 0,7 kg de grano de girasol entero (GGE), o suplementación con 1,7 kg de grano de soja durante los primeros 50 días PP. Todos los concentrados fueron isoenergéticos e isoproteicos entre sí. Se determinó condición corporal (CC), producción y composición de leche, se obtuvieron muestras de sangre semanales luego del parto para caracterizar perfiles metabólicos, y se determinó el intervalo parto a primera ovulación. La suplementación no

#### SUMMARY

To evaluate the effects of fat supplementation during the early postpartum (PP) period on productive and reproductive variables and on the metabolism, 33 primiparous cows with Autumn calvings were fed daily with 6 kg of three different concentrates: control, addition of 0.7 kg of whole sunflower seeds, and 1.7 kg of soybean seeds during the first 50 days postpartum (PP). Diets were designed to be isocaloric and isoproteic. Body condition score (BCS) was evaluated, milk production and composition were analyzed and blood samples taken weekly from calving to characterize the metabolic profiles. Supplementation had no effect on consumption, milk production or composition, metabolic profiles, or reproductive parameters. Absence

1 Departamento de Reproducción Animal, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay. \*danielacrespi@gmail.com

2 Programa de Producción de Leche, INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay

tuvo efecto sobre ninguna de las variables medidas. La ausencia de efectos indeseables sobre el consumo o producción y composición de leche a estos niveles de suplementación sugiere que podrían utilizarse tanto grano de girasol como de soja como fuente de energía para la alimentación de vacas lecheras en pastoreo en lactancia temprana.

of undesirable effects on consumption or milk production and composition at these levels of supplementation suggests that sunflower or soybean seeds could be used as an energy source for feeding grazing dairy cows during early lactation.

### Palabras claves:

girasol, soja, anestro posparto, composición leche.

### Key words:

sunflower, soybean, first ovulation postpartum, milk composition.

## INTRODUCCIÓN

Las vacas con partos de otoño inician su lactancia durante un período en el que la oferta de pastura es escasa, por lo que se hace necesario recurrir a la suplementación con concentrados y/o forrajes conservados para sostener las elevadas exigencias nutricionales de esta etapa fisiológica (Acosta, 1997). En las condiciones de producción de Uruguay, las vacas paridas en otoño se adaptan con dificultad al inicio de la lactancia, lo que compromete su producción en el resto de la misma y retrasa el reinicio de la ciclicidad ovárica posparto (PP) (Chilibroste e Ibarra, 2002; Meikle y col., 2004).

La inclusión de ácidos grasos poliinsaturados

en la dieta de vacas lecheras en pastoreo incrementa la densidad de energía de la dieta y podría tener efectos positivos sobre distintos procesos reproductivos. Sin embargo, la respuesta al uso de grasa puede ser errática. En una revisión sobre la suplementación con grasa a vacas lecheras realizada por Mendoza (2008) se vio que en solo 8 de 29 experimentos la suplementación con fuente de grasa adelantó el reinicio de actividad luteal PP. El grano de girasol entero (GGE), rico en ácidos grasos poliinsaturados, puede ser incluido hasta 1,4 kg (6,5%, base seca) en la dieta de vacas lecheras en pastoreo al inicio de la lactancia sin efectos adversos sobre el consumo, la

producción o composición de leche (Mendoza y col. 2008). Además, las vacas primíparas suplementadas con GGE tuvieron su primera ovulación posparto unos 20 días antes que las no suplementadas (Mendoza y col. 2008).

El grano de soja (GS) podría constituir un suplemento adecuado para incluir en la dieta de vacas lecheras en pastoreo al inicio de la lactancia ya que, además de sus características nutricionales, podría tener efectos positivos sobre el reinicio de la ciclicidad ovárica PP del mismo modo que el GGE, debido a que posee un perfil de ácidos grasos similar al GGE (Mohamed y col. 1988). Sin embargo, no se han reportado trabajos en nuestras condiciones en los cuales se evalúe el suministro de GS y su efecto en la reproducción, ni su comparación con GGE.

El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la inclusión de dos concentrados conteniendo GGE o GS sobre variables productivas y reproductivas en vacas lecheras primíparas de partos de otoño.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en la Unidad de Lechería del INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay, en los meses de otoño. Toda la experimentación con animales se realizó cumpliendo con las nor-

mas establecidas por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal de la Universidad de la República

### *Diseño experimental*

Se utilizaron 33 vaquillonas Holando con un peso vivo (PV) y condición corporal (CC) al día 21 antes de la fecha prevista de parto de  $525 \pm 41$  kg y  $3,6 \pm 0,3$  (escala de 1 al 5; Edmonson y col. 1989), respectivamente. Las vaquillonas fueron asignadas a los siguientes tratamientos durante 50 días PP de acuerdo a un diseño completamente al azar: Control: Sin suplementación PP con granos oleaginosos, Girasol: Suplementación con 0,7 kg materia fresca (MF) de GGE/vaca/día y Soja: Suplementación PP con 1,7 kg MF de GS/vaca/día. Cada dieta completa fue formulada separadamente para ser isoenergética e isoproteica entre sí usando las normas del NRC (2001). Para ello se formularon tres concentrados diferentes, de forma tal que al adicionar el grano oleaginoso, las dietas resultantes fueran isoenergéticas e isoproteicas: “Concentrado Control”, “Concentrado Girasol” y “Concentrado Soja” (Cuadros I y II). Además se ofrecieron diariamente y por animal 14 kg materia seca (MS) de pastura mezcla de gramíneas (*Festuca arundinacea*) y leguminosas (*Medicago sativa*, *Trifolium repens*, *Lotus corniculatus*) y 16 kg MF de ensilaje de maíz de planta

entera. Los animales permanecían en la pastura ros individuales distribuidos en los dos ordeños, entre el ordeño de la tarde y el de la mañana, en mientras que el ensilaje fue ofrecido en comederos una misma franja. Los concentrados y granos ros individuales entre el ordeño de la mañana y el oleaginosas fueron administrados en comederos de la tarde.

**Cuadro I.** Composición química de los concentrados y granos correspondiente a los tres concentrados administrados (control, con grano de girasol o con grano de soja) y del ensilaje de maíz ofrecido y la pradera en que pastoreaban los animales

| Alimento            | MS <sup>1</sup> | PC <sup>2</sup> | FDA <sup>3</sup> | FDN <sup>4</sup> | Cenizas | EE <sup>5</sup> | ENL <sup>6</sup> |
|---------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|---------|-----------------|------------------|
| Concentrado Control | 87,0            | 21,6            | 11,6             | 33,6             | 7,5     | 2,4             | 1,73             |
| Concentrado Girasol | 90,3            | 21,2            | 27,1             | 42,5             | 11,9    | 1,4             | 1,50             |
| Concentrado Soja    | 89,9            | 15,8            | 24,4             | 43,9             | 14,4    | 1,2             | 1,54             |
| Grano de Girasol    | 95,9            | 16,5            | 32,8             | 39,6             | 3,5     | 49,1            | 3,05             |
| Grano de Soja       | 90,3            | 32,9            | 21,2             | 23,1             | 6,0     | 21,1            | 2,92             |
| Ensilaje de maíz    | 43,5            | 6,1             | 33,5             | 56,8             | 6,9     | 3,3             | 1,51             |
| Pradera             | 24,6            | 16,8            | 36,0             | 52,9             | 9,5     | 3,7             | 1,28             |

<sup>1</sup>: Porcentaje de materia seca, <sup>2</sup>: Proteína cruda, % <sup>3</sup>: Fibra detergente ácida, % <sup>4</sup>: Fibra detergente neutra, % <sup>5</sup>: Extracto Etéreo, <sup>6</sup>: Energía neta para lactancia, Mcal/kg MS

**Cuadro II.** Composición final de los concentrados para el Exp 1 (kg/100 kg de suplemento, base seca) según tratamiento

| Ingrediente                         | Control | Girasol | Soja  |
|-------------------------------------|---------|---------|-------|
| Grano de soja                       | 0,0     | 0,0     | 28,4  |
| Grano de girasol                    | 0,0     | 12,3    | 0,0   |
| Grano de maíz                       | 25,7    | 4,9     | 0,0   |
| Grano de sorgo                      | 8,2     | 0,0     | 3,7   |
| Grano de trigo                      | 8,3     | 4,1     | 5,8   |
| Grano de avena                      | 5,3     | 3,9     | 0,0   |
| Afrechillo de trigo                 | 21,7    | 0,0     | 0,0   |
| Afrechillo de arroz sin grasa       | 3,8     | 6,5     | 25,9  |
| Urea                                | 0,5     | 0,0     | 0,0   |
| Cáscara de soja                     | 0,0     | 30,3    | 25,1  |
| Harina de soja                      | 25,0    | 28,9    | 0,0   |
| Harina de girasol                   | 0,0     | 4,9     | 7,3   |
| Pre mezcla de vitaminas y minerales | 1,4     | 4,1     | 3,7   |
| Total                               | 100,0   | 100,0   | 100,0 |

*Determinaciones*En los animales

La determinación del consumo de pastura se realizó por medición de oferta y rechazo del grupo de animales, usando 19 rectángulos de 0,2 x 0,5 m en cada caso. Con el dato de la disponibilidad también se asignó el forraje correspondiente mediante la utilización de franjas diarias. Este procedimiento se repitió a la entrada y salida de cada potrero nuevo. El consumo individual de ensilaje y concentrado se determinó por la diferencia entre lo ofrecido y rechazado.

La CC fue determinada siempre por el mismo observador previamente entrenado desde los 21 días previos al parto hasta los 35 días PP semanalmente (escala de 1 al 5; Edmonson y col. 1989).

Se registró la producción de leche individual diaria a partir del día 1 hasta el día 50 PP y se corrigió por grasa al 4% (LCG). Se tomaron muestras individuales semanales de leche que se analizaron en el laboratorio de calidad de leche de INIA "La Estanzuela" para determinar porcentaje de proteína y de grasa con un método de infrarrojo medio, usando un equipo Bentley Model 2000 de Bentley Instruments, Inc., Chaska, MN, USA, según el método establecido por la IDF, Standard 141 C: 2000.

Se extrajeron muestras de sangre por venopunción yugular, para la determinación de ácidos grasos no esterificados (NEFA), betahidroxibutirato (BHB), colesterol y urea en plasma en todas los animales. Los sangrados se realizaron el día -21 y -7 previos al parto y en el PP de forma semanal hasta el día 35 PP. Los metabolitos se determinaron en el DILAVE, Miguel C. Rubino, Montevideo. Los ácidos grasos no esterificados se determinaron por el método ACS-ACOD (acil-CoA sintetasa y acil-CoA oxidasa, Wako code No 999-34691, 991-34891, 993-3519), el betahidroxibutirato se determinó mediante el método 3-HBDH-NAD<sup>+</sup>-hidroxibutirato deshidrogenasa-NAD<sup>+</sup> (Randox REF RB1008), el colesterol se determinó mediante el método CHOD-PAP (Weiner Lab) y la urea mediante el método Urease UV (Weiner Lab).

Se realizó ultrasonografía ovárica con un transductor lineal de 7,5 MHz (Aloka SSD 500, Aloka, Tokio, Japón) 3 veces por semana a partir del día 8 PP para determinar el diámetro máximo del folículo dominante (FD) durante su primera onda folicular PP hasta determinar su destino (ovulación o regresión). A las vacas que no ovularon en esa primera onda folicular, se les realizó ultrasonografía ovárica dos veces por semana hasta detectar la presencia de un cuerpo lúteo o hasta



los 50 días PP para determinar el día de reinicio de la ciclicidad ovárica.

### En los alimentos

Se tomaron muestras semanales de la pastura, el ensilaje y los concentrados, que fueron analizadas en el Laboratorio de Nutrición del INIA de “La Estanzuela” para determinar: MS, cenizas, proteína cruda (PC) y extracto al éter (EE) (AOAC, 1990), fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) (Van Soest y col. 1991), y digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DMO) (Tilley y Terry, 1963). Se estimó la concentración de Energía neta de lactancia (ENL) como la sumatoria de las fracciones digeribles de cada alimento, multiplicadas por su calor de combustión, según el método sugerido por el NRC (2001). En caso de no disponer de datos de laboratorio para determinar las fracciones digeribles, se usaron valores de la tabla de composición química de alimentos del NRC (2001).

### *Análisis estadístico*

Para el análisis de variables continuas con más de una medición durante el transcurso del experimento (producción y composición de leche, CC, metabolitos y consumo de concentrado y ensilaje) se utilizó un modelo mixto (procedimiento MIXED del SAS (Statistical Analysis System; SAS

Institute Inc., Cary, NC, USA; versión 9.1.3)), que incluyó como efectos fijos: tratamiento, día PP de medición, y las interacciones entre estos efectos.

Para el análisis de variables continuas con un solo valor registrado durante el experimento intervalo parto a primera ovulación (IPOV) y diámetro máximo del FD de la primera onda folicular PP se utilizó un modelo lineal (procedimiento GLM del paquete estadístico SAS), que incluyó como efecto al tratamiento. En todos los casos se utilizó un nivel de significancia de 5% y la comparación de medias se realizó utilizando el procedimiento de mínima diferencia significativa. Los datos se presentan como medias de mínimos cuadrados  $\pm$  el error estándar de la media (EEM). La variable discreta proporción de vacas que ovulan durante la primera onda folicular PP se analizó con un modelo lineal generalizado (procedimiento GENMOD del SAS). El modelo incluyó como efecto al tratamiento, y los resultados se presentan como la probabilidad de que una vaca ovule durante dicho período.

## RESULTADOS

Durante el ensayo, las vaquillonas de los tres tratamientos consumieron en promedio 5,05 kg MS de concentrado, 5,95 kg MS de ensilaje de maíz y

se estimó un consumo de 7,12 kg MS de pastura mezcla de gramíneas y leguminosas por día. La información de consumo de pastura se presenta de forma descriptiva, no habiendo sido analizada estadísticamente ya que de las sucesivas determinaciones de oferta y rechazo de pastura, se obtuvo un dato único de consumo para todos los tratamientos ya que pastoreaban en la misma franja. Considerando el consumo de pastura de cada tra-

tamiento, el porcentaje (en base seca) de GGE y GS en los tratamientos Girasol y Soja fue 3,4 y 7,9%, respectivamente. No se vio una diferencia entre tratamientos en el consumo de nutrientes a partir del concentrado y ensilaje salvo un mayor consumo de EE en los tratamientos suplementados con granos de oleaginosas con respecto al tratamiento Control ( $P<0,001$ ; cuadro III).

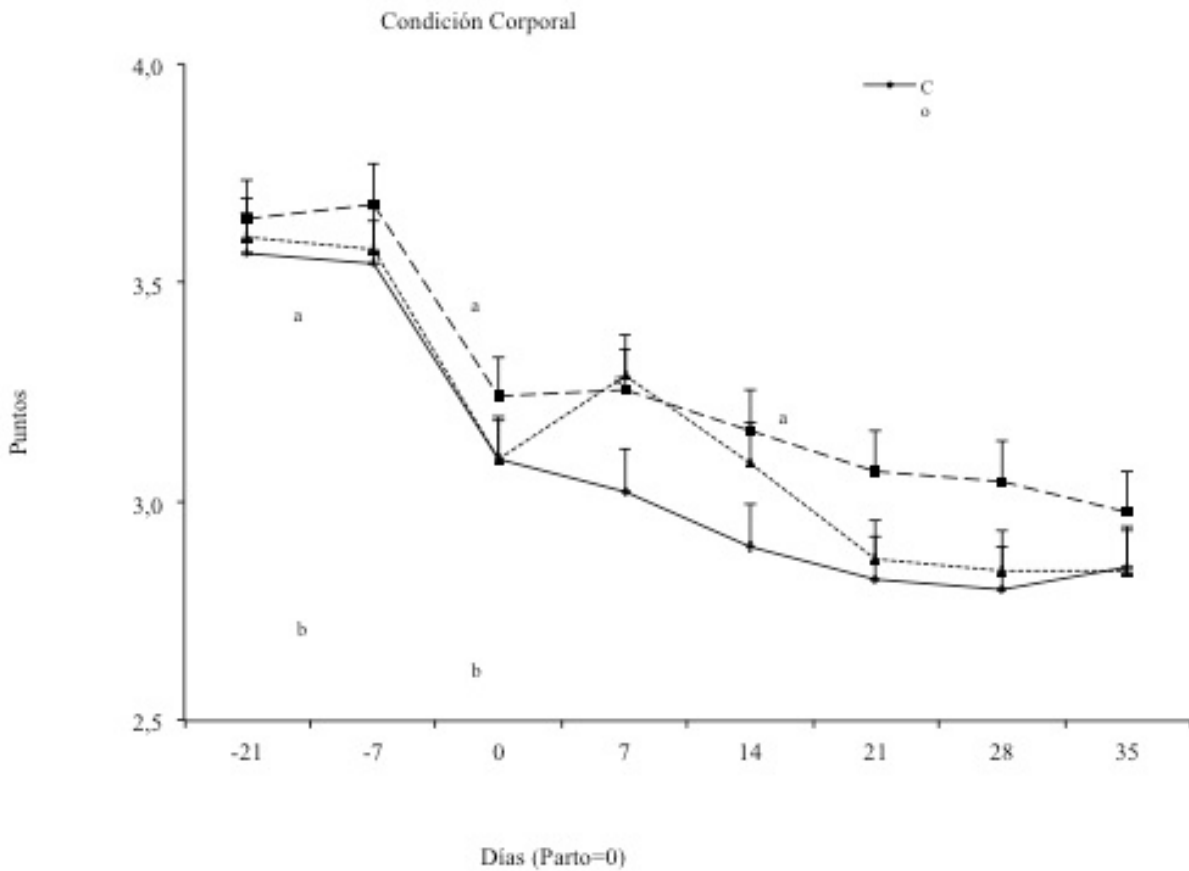
**Cuadro III.** Consumo de ensilaje y concentrado para los tratamientos Control, Girasol y Soja

| Alimento                               | Control           | Girasol           | Soja              | EEM  | Trat | Obs |
|--|-------------------|-------------------|-------------------|------|------|-----|
| CMS ensilaje (kg MS/día)               | 5,93              | 5,98              | 5,93              | 0,07 | NS   | *   |
| CMS concentrado (kg MS/día)            | 5,15              | 5,02              | 5,01              | 0,17 | NS   | NS  |
| PC ensilaje y concentrado (kg/día)     | 1,47              | 1,39              | 1,39              | 0,04 | NS   | NS  |
| EE ensilaje y concentrado (kg/día)     | 0,39 <sup>a</sup> | 0,65 <sup>c</sup> | 0,58 <sup>b</sup> | 0,01 | ***  | NS  |
| ENL ensilaje y concentrado (Mcal /día) | 17,72             | 17,53             | 18,47             | 0,32 | NS   | NS  |

No se incluye la interacción *Trat x Obs* por no ser significativa. CMS= Consumo de materia seca, PC=Proteína cruda, EE=Extracto al éter, ENL=Energía neta de lactación, Obs=semana de medición, NS No significativo, \* $P<0,05$ , \*\* $P<0,01$ , \*\*\* $P<0,001$

La suplementación con granos de oleaginosas no tuvo un efecto significativo del tratamiento sobre la CC aunque sí hubo un efecto de observación, e interacción tratamiento por observación ( $P<0,05$ ). Al día 21 parto los animales en los 3 tratamientos tuvieron una misma CC ( $3,6 \pm 0,3$  puntos), la evolución de la CC hasta el parto fue similar para los tres grupos; en promedio, en los

tres tratamientos el descenso fue de 0,7 puntos desde el día -21 hasta el día 21 PP ( $P<0,01$ ; Figura 1). Sin embargo, en los días 7 y 14 PP la CC fue menor en el grupo Control en comparación con los grupos suplementados ( $P<0,01$ ; Figura 1).



**Figura 1.** Evolución de la CC durante los 21 días previos al parto y 35 días posteriores al mismo para los tratamientos Control, Girasol y Soja. Letras distintas para una determinada fecha indican diferencias significativas <sup>a,b</sup> ( $P < 0,05$ )

No hubo un efecto de la suplementación sobre la producción de leche ( $20,7 \pm 0,9$  L/día), LCG ( $21,0 \pm 1,2$  L/día), producción ( $0,85 \pm 0,03$  kg/día) o porcentaje ( $4,07 \pm 0,23$ ) de grasa, y producción ( $0,59$  kg/día) o porcentaje de proteína ( $2,9 \pm 0,05$ ) (Cuadro IV). La producción de leche aumentó luego del parto hasta alcanzar un pico ( $23,0$  L/día) entre los días 21 y 28 PP. La evolu-

ción de la producción de grasa y proteína en el tiempo tuvo un comportamiento similar a la producción de leche, mientras que los porcentajes de grasa y proteína fueron máximos al día 7 PP y disminuyeron hasta el día 35 o 21, respectivamente, para luego permanecer constantes hasta el fin del experimento.

**Cuadro IV.** Medias de mínimos cuadrados de variables de producción y composición de leche

|               | Control | Girasol | Soja | EEM  | Trat | Obs | ObsxTrat |
|---------------|---------|---------|------|------|------|-----|----------|
| Leche (L/día) | 21,1    | 20,4    | 20,7 | 0,9  | NS   | *** | NS       |
| LCG (L/día)   | 21,0    | 20,6    | 21,3 | 1,2  | NS   | *** | NS       |
| Grasa (kg)    | 0,84    | 0,83    | 0,87 | 0,33 | NS   | *** | NS       |
| Grasa (%)     | 3,9     | 4,1     | 4,2  | 0,2  | NS   | *** | NS       |
| Proteína (kg) | 0,60    | 0,58    | 0,59 | 0,03 | NS   | *** | NS       |
| Proteína (%)  | 2,9     | 2,9     | 2,9  | 0,05 | NS   | *** | **       |

*Obs= Observación (semana), Trat= Tratamiento, NS no significativo, \*\*\* P<0,001, \*\*P<0,01, EEM = error estándar de la media.*

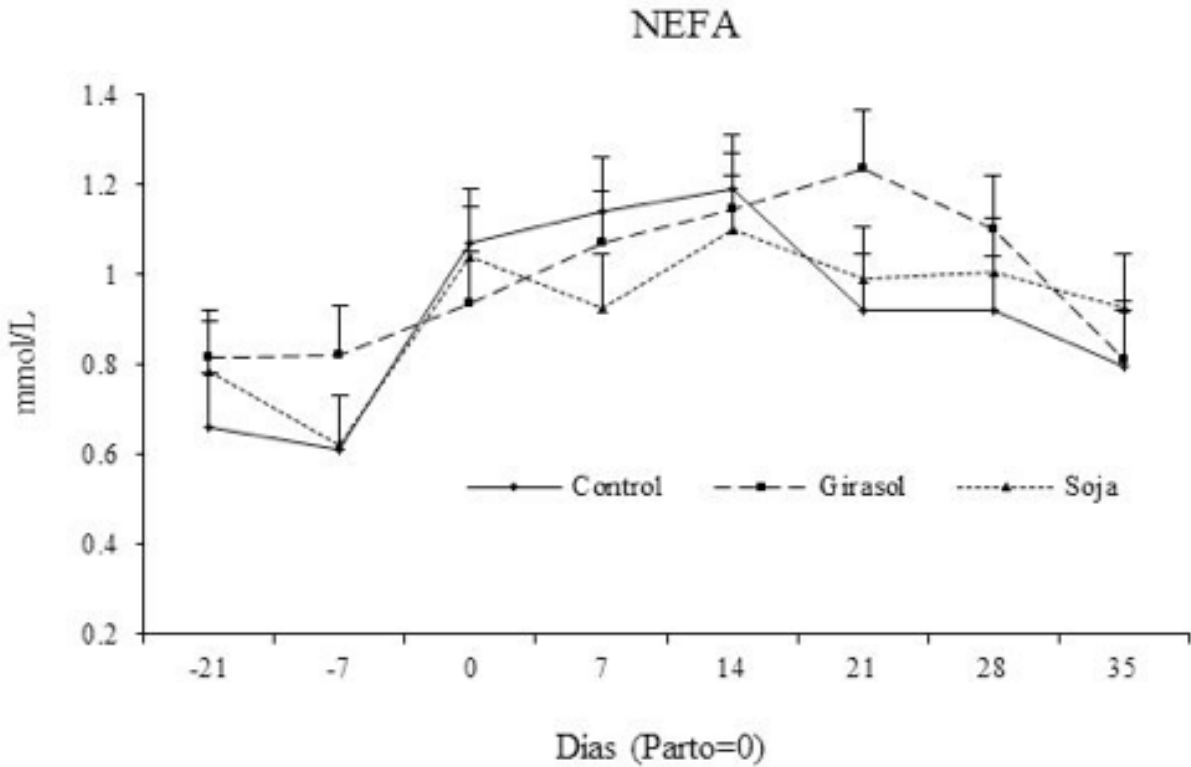
No hubo un efecto general de la suplementación con granos de oleaginosas sobre la concentración plasmática de NEFA, BHB, colesterol o urea aun- que en el caso NEFA hubo un efecto observación y en BHB, colesterol y urea una interacción entre Tratamiento por observación (Cuadro V).

**Cuadro V.** Medias de mínimos cuadrados de variables de metabolitos en plasma según tratamiento, efectos fijos (día y tratamiento) e interacciones

| Metabolito | Control | Soja | Girasol | EEM | Trat | Obs | TratxObs |
|------------|---------|------|---------|-----|------|-----|----------|
| NEFA       | 0,9     | 0,9  | 0,9     | 0,1 | NS   | *** | NS       |
| BHB        | 0,6     | 0,5  | 0,5     | 0,1 | NS   | NS  | *        |
| Colesterol | 2,6     | 2,8  | 2,9     | 0,1 | NS   | NS  | *        |
| Urea       | 5,4     | 5,8  | 5,1     | 0,3 | NS   | NS  | ***      |

*EEM = error estándar de la media, Trat= tratamiento, Obs= Observación (días), NS no significativo, \*\*\* P<0,001, \*\*P<0,01, \*P<0,05, Datos expresados como mmol /L*

En los tres tratamientos el pico de NEFA se dio entre los días 14 y 21 PP (1,1 mMol/L), y los niveles luego disminuyeron hasta el día 35 PP (Figura 2).



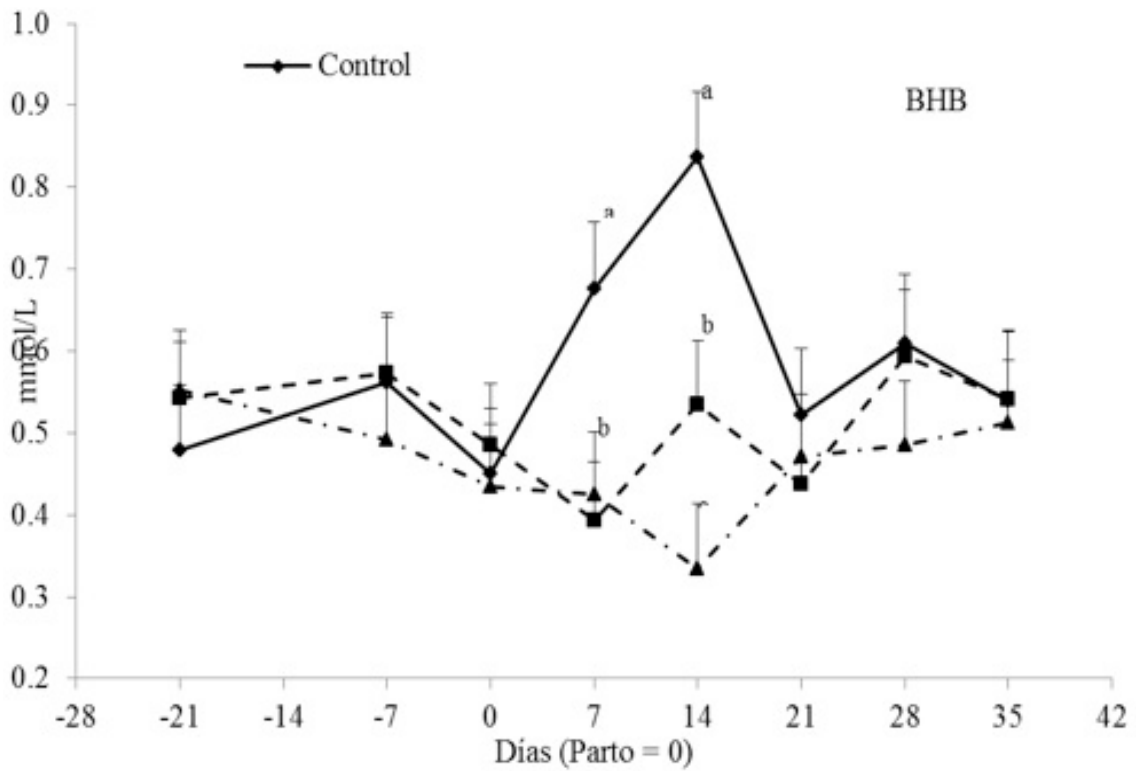
**Figura 2.** Evolución de la concentración plasmática de ácidos grasos no esterificados (mmol/L) durante los 21 días previos al parto y 35 días posteriores al mismo para los tratamientos Control, Girasol y Soja. Letras distintas para una determinada fecha indican diferencias significativas <sup>a,b</sup> ( $P < 0,05$ )

El nivel de BHB en plasma fue de 0,5 mMol/L al parto para todos los animales, pero el grupo Control tuvo mayores niveles de BHB en los días 7 y 14 PP en comparación con los grupos suplementados (Figura 3).

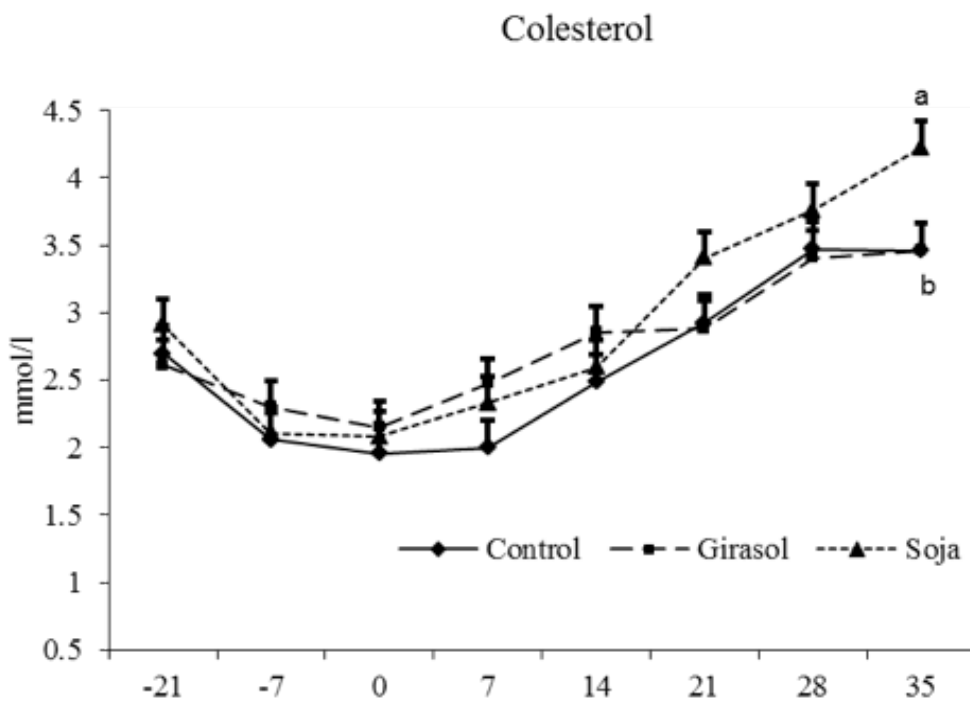
El nivel de colesterol sérico disminuyó durante el preparto con un nadir entre el parto y el día 7 PP (2 mMol/L) y aumentó desde el día 7 PP hasta el día 35 PP; el grupo Soja tuvo mayores niveles

de colesterol que el grupo Girasol al día 35 PP (Figura 4).

Todos los animales mantuvieron constantes sus niveles séricos de urea hasta el parto pero disminuyeron al día 14 PP donde se dio el nadir (4,5 mMol/L) y aumentaron hasta el final del período experimental. Al día 7 PP el grupo Control tuvo mayores niveles de urea comparado con el grupo Soja, y el grupo Girasol tuvo mayores niveles de urea comparados con el grupo Soja a los días 21



**Figura 3.** Evolución de la concentración plasmática de Betahidroxitirato (mmol/L) durante los 21 días previos al parto y 35 días posteriores al mismo para los tratamientos Control, Girasol y Soja. Letras distintas para una determinada fecha indican diferencias significativas <sup>a,b</sup> (P<0,05)

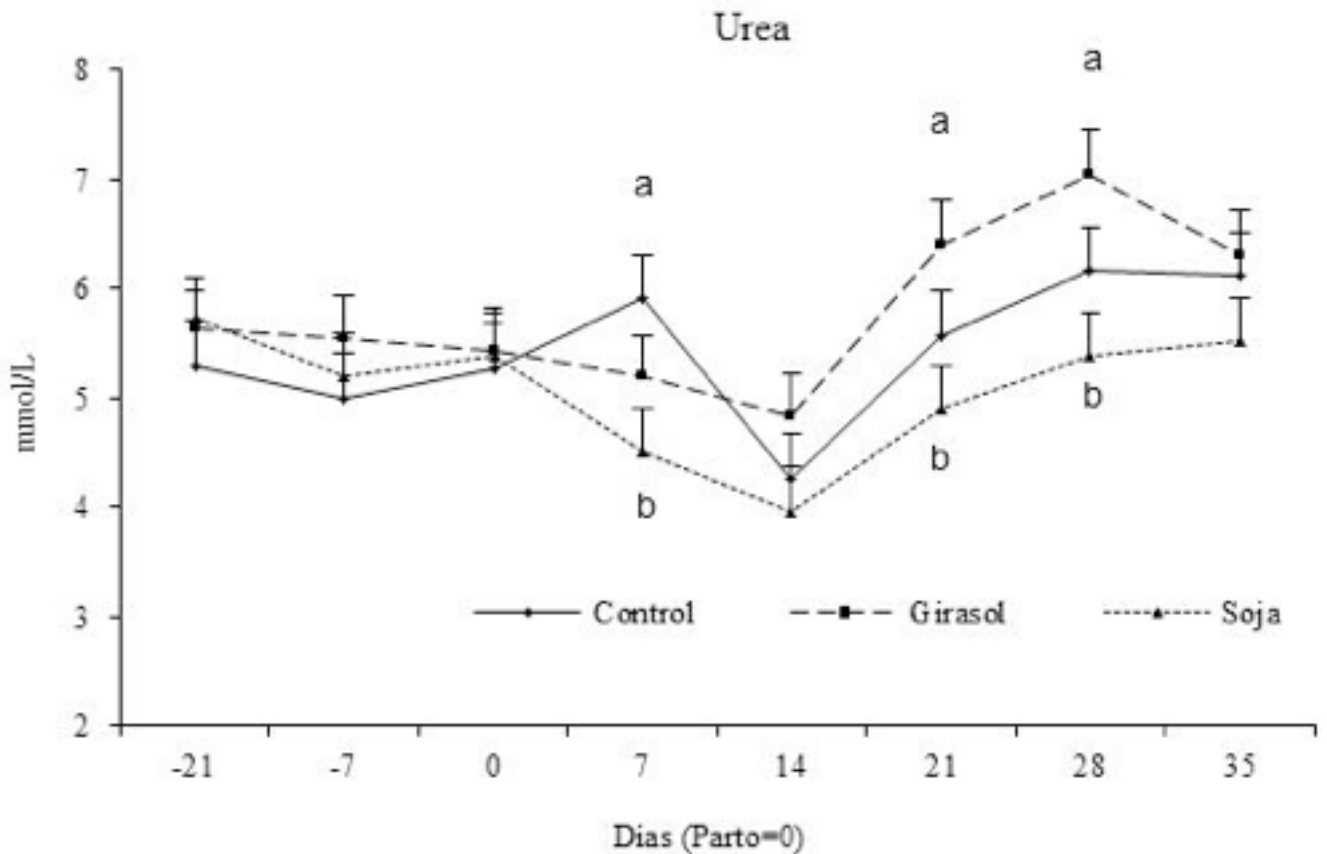


**Figura 4.** Evolución de la concentración plasmática de colesterol (mmol/L) durante los 21 días previos al parto y 35 días posteriores al mismo para los tratamientos Control, Girasol y Soja. Letras distintas para una determinada fecha indican diferencias significativas <sup>a,b</sup> (P<0,05)

y 28 PP (Figura 5).

Considerando todas las vacas del experimento, que hubieran ovulado o no antes del día 50 PP, no hubo efecto de los tratamientos sobre el IPOV. De las vacas afectadas al tratamiento Control, Girasol y Soja, la proporción de vacas que ovuló en la primer onda folicular fue 0.500, 0.364 y 0.455, respectivamente (EEM = 0.243), sin diferencias

significativas entre tratamientos. Un 43,75 % del total de las vacas ovularon en su primera onda folicular no existiendo diferencias significativas entre tratamientos, ni tampoco sobre el diámetro del folículo dominante de la primera onda folicular PP (Cuadro VI).



**Figura 5.** Evolución del nivel de urea en sangre (mmol/L) durante los 21 días previos al parto y 35 días posteriores al mismo para los tratamientos Control, Girasol y Soja. Letras distintas para una determinada fecha indican diferencias significativas <sup>a,b</sup> ( $P < 0,05$ )

## DISCUSIÓN

En este ensayo la suplementación PP de vacas primíparas con 0,7 kg de girasol o 1,7 kg de soja (3,4 y 7,9% de la dieta en base seca, respectivamente) no produjo un efecto general sobre el consumo, la producción de leche, el porcentaje

de sólidos en leche, los perfiles metabólicos, ni tuvo efecto sobre los parámetros reproductivos evaluados.

Como era esperable, hubo un mayor consumo de EE en los animales de los tratamientos suplementados comparadas con los del tratamiento Control. Al igual que lo reportado por Rearte y

**Cuadro VI.** Intervalo parto- 1ª ovulación (días), tomando en cuenta todos los animales del experimento hayan ovulado o no antes del día 50 PP, y diámetro máximo del folículo dominante (FD) según tratamiento

| Variable                          | Control | Girasol | Soja |
|-----------------------------------|---------|---------|------|
| IPOV (días)                       | 30,0    | 27,0    | 29,0 |
| Max diámetro FD <sup>1</sup> (mm) | 14,0    | 15,0    | 14,1 |

<sup>1</sup>FD: Folículo dominante

col. (1989) se pudo comprobar que a estos niveles de suplementación no existió disminución en el consumo de MS, al menos de la proveniente del concentrado y del ensilaje. Mendoza y col. (2008), con un nivel de suplementación con GGE mayor que en este experimento (7,1 % de la dieta en base seca), tampoco reportaron una disminución en el consumo total de nutrientes. La suplementación con grasa puede disminuir el consumo a través un efecto negativo sobre los microorganismos celulolíticos, lo que afectaría la digestión de la fibra y enlentecería la tasa de pasaje, aumentando el tiempo de retención del

alimento en el rumen y reduciendo la capacidad de consumo (Allen, 2000). Sin embargo, es posible que en este experimento el consumo no haya sido afectado por que la cubierta externa del grano de girasol y de soja (aunque en menor medida) exige que el animal lo mastique previamente, lo cual favorece la salivación. Por otra parte, esa cubierta impide una rápida salida de los ácidos grasos poliinsaturados del grano hacia el rumen, lo que evita que puedan interferir con la actividad de los microorganismos enlenteciendo la liberación de ácidos grasos (Mohammed y col. 1988). También lo podemos atribuir a que a



los niveles de grasa usados en este experimento no habrían sido tan elevados como para afectar a los microorganismos del rumen. La ausencia de diferencias en consumo de ENL y PC a partir de concentrado y ensilaje entre los tratamientos con GGE o GS sugerirían que las dietas fueron isoenergéticas e isoproteicas, según lo planeado en el diseño de este experimento.

La CC al parto (previa al período de suplementación) no fue diferente entre tratamientos, por lo que todos los animales partieron de un buen nivel de reservas lipídicas al iniciar el tratamiento (CC promedio =  $3,2 \pm 0,1$ ). El menor nivel de CC en el grupo Control en los días 7 y 14 PP coincide con un mayor nivel de BHB en el mismo período haciendo suponer que podrá haberse alterado el status energético para los animales del grupo Control puntualmente en este momento.

La suplementación con granos de oleaginosas no afectó la producción ni la composición de leche, lo que concuerda con el hecho que el consumo de ENL y proteína no habría diferido de forma importante entre tratamientos. La suplementación tampoco afectó ni la producción de grasa y proteína al igual que lo reportado por He y col. (2005) y Mendoza y col. (2008) trabajando con GGE o Chilliard y Ferlay (2004) trabajando con GS. Se sugiere que, en la medida que no se supere el 6% de extracto etéreo en la dieta com-

pleta, no se esperaría observar diferencias en los niveles de grasa en leche. El bajo nivel de suplementación con granos oleaginosos, así como por el alto nivel de fibra que contiene la cáscara de estos granos, contribuirían a explicar por qué no se observaron efectos adversos sobre la secreción de grasa láctea. Adicionalmente, tomadas en conjunto estas variables sugieren que la energía secretada en leche fue similar para los tres tratamientos.

La suplementación con grano de girasol o soja no tuvo un efecto significativo sobre la concentración plasmática de NEFA a diferencia de lo reportado Mendoza y col. (2008). Esto concordaría con un similar balance energético en los animales, dado por similares niveles de lipomovilización y producción y composición de leche para los tres tratamientos. Aunque en el caso de BHB hubo mayores niveles en los días 7 y 14 PP en el grupo Control. Esto se podría explicar a través de los diferentes orígenes del BHB sérico. Este se produce tanto en el hígado por la mayor movilización de tejido adiposo, como por la absorción de ácido butírico en la pared de los preestómagos en la cual se hidroxila, por lo que suponemos podría ser un reflejo del aumento de consumo de pasturas durante éste período aunque este parámetro no fue medido en nuestro trabajo. En el caso del colesterol el grupo Soja tuvo un

mayor nivel al día 35 PP aunque no tenemos una explicación para este aumento. Con respecto a la interacción tratamiento por observación encontrada en los niveles de urea sérica no se podría atribuir al consumo de PC ya fue similar en los grupos al igual que la producción de proteína en leche, aunque es posible que haya habido diferencias en la degradabilidad de la proteína ingerida entre tratamientos que expliquen parcialmente estos resultados.

No se encontraron diferencias en ninguna de las variables reproductivas evaluadas luego de suplementar con lípidos en el PP, a diferencia de lo reportado por Mendoza y col. (2008); en este último trabajo las vacas primíparas suplementadas con el mismo nivel de GGE que en este experimento, tuvieron un IPOV más corto que las no suplementadas; sin embargo, este efecto no fue observado en las vacas múltiparas. Esta diferencia se podría explicar por el mayor nivel de CC al parto en nuestro experimento (CC 3,2) comparado con el de Mendoza y col. (2008) (CC 2,4). La mayor CC podría enmascarar el posible efecto que podría tener la suplementación lipídica sobre esta variable, ya que para algunos autores (Bellows y col. 2001; Funston 2004; Boken y col. 2005), las vacas en situación de estrés son las que tienen mayor probabilidad de responder a la suplementación con lípidos, pero no aquellos

animales con un adecuado estado nutricional. El IPOV fue similar al reportado en otros trabajos nacionales en vacas primíparas (Cavestany y col. 2009; Crespi, 2011) y menor a lo reportado por Adrien (2010).

Tampoco se encontró un efecto de la suplementación con lípidos sobre el diámetro máximo del FD de la primera onda PP al igual que lo reportado por Mendoza y col. (2008). Podemos suponer que de por sí la buena CC al parto, aseguró que las vacas volvieran a ciclar rápidamente luego del parto al igual que lo reportado por Cavestany y col. (2001).

## CONCLUSIONES

Los resultados demostraron que la suplementación de vacas primíparas a inicio de lactancia con GGE o GS no afecta el consumo, la producción de leche, la concentración de sólidos, o el reinicio de la actividad ovárica PP, cuando se ofrecen dietas isoenergéticas e isoproteicas.

La ausencia de efectos indeseables sobre el consumo o producción y composición de leche a los niveles de suplementación usados en los experimentos sugiere que podrían utilizarse tanto GGE como GS como fuente sustituta de energía y/o proteína para incluir en la dieta de vacas lecheras en lactancia temprana manejadas en sistemas de base pastoril.

## AGRADECIMIENTOS

A los tesisistas de grado que participaron en el trabajo de campo de la tesis: Florencia Díaz, Martín Klaassen, Juan Pablo Viera.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Acosta Y. (1997). Utilización de ensilajes, concentrados y pasturas para producción de leche. En: Restaino, E., Indarte, E. (Eds.), *Pasturas y Producción Animal en Áreas de Ganadería Intensiva*. Serie Técnica N° 15. INIA. Uruguay. pp 157-166.
2. Adrien (2010). Regulación nutricional del estado corporal al inicio del período de transición en vacas lecheras en condiciones de pastoreo: Efectos sobre producción de leche, reinicio de la ciclicidad ovárica posparto y parámetros metabólicos. Tesis de maestría en Producción Animal. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. Uruguay. 36 p.
3. Allen 2000 Allen MS. (2000). Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *J Dairy Sci*; 83: 1598–1624.
4. AOAC. (1990). Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of analysis*. 15th ed. Arlington, VA, EEUU.
5. Bellows RA, Grings EE, Simas DD, Geary TW, Bergman JW. (2001). Supplemental dietary fat effects of feeding supplemental fat during gestation to first-calf beef heifers. *Prof Anim Sci*; 17:81–89.
6. Boken SL, Staples CR, Sollenberger LC, Jenkins TC, Thatcher WW. (2005). Effect of grazing and fat supplementation on production and reproduction of Holstein cows. *J Dairy Sci*; 88:4258-4272.
7. Cavestany D, Viñoles C, Crowe MA, La Manna A, Mendoza A. (2009). Effect of prepartum diet on postpartum ovarian activity in Holstein cows in a pasture-based dairy system. *Anim Reprod Sci*; 114:1–13.
8. Cavestany D, Galina CS, Viñoles C. (2001). Efecto de las características del reinicio de la actividad ovárica posparto en la eficiencia reproductiva de vacas Holstein en pastoreo. *Archivos de Medicina Veterinaria (Chile)*;

- 33:217-226.
9. Chilibroste P, Ibarra D, Zibil S, Laborde D. (2002). Proyecto de Alimentación Reproducción Conaprole. Informe final.
  10. Chilliard Y, Ferlay A. (2004). Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod Nutr Dev*; 44:467-492.
  11. Crespi, D. (2011). Granos de oleaginosas como fuente de lípidos poliinsaturados para vacas lecheras primíparas en pastoreo en el posparto temprano. Tesis Maestría en Producción. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. Uruguay. 54 p.
  12. Edmonson AJ, Lean J, Weaver LD, Farver T, Webster G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci*; 72:68-78.
  13. Funston RN. (2004). Fat supplementation and reproduction in beef females. *J Anim Sci*; 82 (E.Suppl):154-161.
  14. He ML, Mir PS, Beauchemin KA, Ivan M, Mir Z. (2005). Effects of dietary sunflower seeds on lactation performance and conjugated linoleic acid content of milk. *Can J Anim Sci*; 85:75-83.
  15. Meikle A, Kulcsar M, Chilliard Y, Febel H, Delavaud C, Cavestany D, Chilibroste P. (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction*; 127:727-737.
  16. Mendoza, A. (2008). La semilla de girasol entera como fuente de lípidos poliinsaturados para vacas lecheras en pastoreo. Tesis Magister en Ciencias Agrarias. Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Uruguay. 91 p.
  17. Mendoza A, LaManna A, Crespi D, Crowe MA, Cavestany D. (2008). Whole sunflower seeds as a source of polyunsaturated fatty acids for grazing dairy cows. Effects on metabolic profiles and resumption of postpartum ovarian cyclicity. *Livest Sci*; 119:183-193.
  18. Mohamed OE, Satter LD, Grummer RR, Ehle FR. (1988). Influence of dietary cottonseed and soybean on milk production and composition. *J Dairy Sci*; 71:2677-2688.
  19. National Research Council (NRC).

- (2001). Nutrient requirements of dairy cattle. 7<sup>th</sup> revised edition. National Academy Press, Washington D.C., USA. 405 p.
20. Rearte DH, Santini FJ, García PT, Maritano M, Elizalde JC. (1989). Efectos de la suplementación de semilla de girasol sobre la producción y composición de la leche. *Rev Arg Prod Anim*; 9 (Supl. 1): 6-7.
21. Tilley, J.M.A. and Terry, R.A. 1963. A two-step technique for the in vitro digestion of forage crops. *J Br Grass Soc*; 18: 104-111.
22. Van Soest PJ, Robertson J, Lewis B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci*; 74: 3583–3597.

## La restricción en el tiempo de acceso al forraje en ovinos alimentados con pastura de buena calidad afecta algunos grupos microbianos ruminales

### The restriction in the time of access to forage in ovine fed a high quality pasture affect groups of ruminal microorganisms

Pérez-Ruchel A.<sup>1</sup>, Repetto J.L.<sup>2</sup>, Fraga M.<sup>3</sup>,  
Perelmuter K.<sup>3</sup>, Zunino P.<sup>3</sup>, Cajarville C.<sup>1\*</sup>

Recibido: 27/9/2013  
Aprobado: 20/1/2014

## RESUMEN

Se estudiaron los efectos de restringir el tiempo de acceso al forraje y del tiempo desde el inicio de la ingesta, sobre diferentes grupos bacterianos ruminales. Seis borregos fistulados, alojados en jaulas individuales, consumiendo únicamente forraje fresco (88% leguminosas) fueron distribuidos en 2 grupos: 24h y 6h (forraje disponible todo el día y 6 h/día, respectivamente). Luego de 30 días de adaptación, se extrajeron muestras de contenido ruminal (líquido + sólido) para estudiar la microbiota de cada grupo (24h vs. 6h). En los animales con acceso restringido al forraje (grupo 6h) se comparó también la microbiota entre las horas 0, 4 y 8 desde el inicio de la ingesta. Las muestras se analizaron por FISH (Fluorescence in situ hybridization), utilizando sondas para el

## SUMMARY

The effects of restricting the time of access to forage and of the time from the beginning of the intake on different groups of ruminal microbes were studied. Six fistulized wethers, allocated in individual cages, consuming only fresh forage (88% legumes) were separated in 2 groups: 24h and 6h (forage available during all the day and 6 h/d, respectively). After 30 days of adaptation, ruminal content samples (fluid + solid) were extracted to evaluate the microbiota of each group (24h vs. 6h). In animals with restricted access to forage (6h group) the microbiota was also compared among 0, 4 and 8 hours from the beginning of the meal. The samples were analyzed by FISH (Fluorescence in situ hybridization), using

<sup>1</sup>Departamento de Nutrición, <sup>2</sup>Departamento de Bovinos, Facultad de Veterinaria, UdelaR. <sup>3</sup>Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. \*Lasplacas 1550, Montevideo, Uruguay  
Autor para correspondencia C. Cajarville: ccajarville

Dominio Bacteria (Eubacterias), bacterias fibrolíticas (*Ruminococcus albus* y *flavefaciens*), productoras de lactato (*Streptococcus spp.*) y consumidoras de lactato (*Megasphaera elsdenii*, *Propionibacterium spp.*, *Selenomonas ruminantium*). El pH ruminal no fue afectado por la restricción, pero *R. albus*, *R. flavefaciens* y *S. ruminantium* fueron más abundantes para el grupo 24h. Dentro de los animales sometidos a restricción las Eubacterias tendieron a ser menos abundantes a las horas 4 y 8, cuando el pH ruminal también fue menor respecto a la hora 0, posiblemente debido al ingreso de alimento fresco. No se observaron diferencias entre grupos bacterianos debidas al horario de muestreo.

probes targeting the Domain Bacteria (Eubacteria), fibrolytic (*Ruminococcus albus* and *flavefaciens*), lactate-producing (*Streptococcus spp.*) and lactate-consuming (*Megasphaera elsdenii*, *Propionibacterium spp.*, *Selenomona ruminantium*) bacterias. The ruminal pH was not affected by the restriction, but *R. albus*, *R. flavefaciens* and *S. ruminantium* were more abundant for the 24h group. Within the animals under restriction the number of Eubacterias tended to be lower at hours 4 and 8, when ruminal pH was lower too, regarding to the hour 0, possibly due to the entry of fresh food. There were not differences between bacteria groups due to the sampling time were not observed.

### Palabras claves:

pastura templada, microbiota ruminal, bacterias fibrolíticas, *Selenomonas ruminantium*

### Key words:

temperate pasture, ruminalmicrobiota, fibrolytic bacteria, *Selenomonas ruminantium*

## INTRODUCCIÓN

En los sistemas semi-intensivos pastoriles de producción de rumiantes es habitual que se limite el tiempo de acceso diario a la pastura, tanto por el cuidado de los animales como de la propia pastura. Es sabido que la restricción en el tiempo de acceso al alimento genera cambios en la

fermentación ruminal, en general vinculadas a fluctuaciones en el pH (Freer y col., 2007) debidas a las elevadas tasas de ingestión en los momentos del día en que el alimento está disponible (Forbes y Mayes, 2002). Este tipo de variación ha sido comunicada no solo cuando se utilizan dietas con elevada proporción de concentrados,

sino también al utilizar forrajes muy fermentables como único alimento de la dieta, y tanto en bovinos (Félix y col., 2011a,b) como en ovinos (Cajarville y col., 2006). Los trabajos anteriores sugieren que la restricción del tiempo de acceso al forraje podría afectar la microbiota ruminal o su actividad, aun cuando no se incluyan concentrados en la dieta. Si consideramos que, entre los distintos grupos bacterianos, las bacterias fibrolíticas son las más sensibles a variaciones en el pH ruminal y que presentan las tasas de crecimiento más bajas dentro de la población ruminal (Arcuri y col., 2011), la restricción en el tiempo de acceso al forraje podría afectar este grupo en particular, lo que en sistemas de alimentación a base de forrajes, podría ser una limitante importante para el aprovechamiento digestivo de la dieta.

La mayor parte de los microorganismos ruminales son anaerobios estrictos o facultativos, no cultivables, lo que dificulta su estudio mediante métodos convencionales de cultivo, particularmente cuando se intentan estudiar grupos específicos de microorganismos. El uso de técnicas moleculares (Kamra, 2005) ha permitido un avance en este sentido. Particularmente, la técnica *Fluorescens in situ hybridization* (FISH) permite detectar microorganismos mediante la hibridación del ARN ribosomal utilizando sondas específicas conjuga-

das a fluoróforos (Lascano y col., 2009).

Este trabajo integra una serie de estudios con un objetivo común: evaluar el efecto del tiempo de acceso al forraje sobre el consumo y el aprovechamiento digestivo del mismo. La hipótesis de este estudio en particular, es que la restricción en el tiempo de acceso al forraje de una pastura templada genera fluctuaciones en ecosistema ruminal que afectan en forma diferencial a las distintas poblaciones de microorganismos ruminales. El objetivo de este estudio fue cuantificar y comparar distintos grupos de la microbiota bacteriana ruminal en animales alimentados con una pastura como único alimento, a la que tenían acceso durante todo el día o durante un período de tiempo restringido. Asimismo, en los animales sometidos a alimentación restringida, se estudió la evolución diaria de estos grupos bacterianos en relación al inicio de la ingesta.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en el Campo Experimental de Libertad - Facultad de Veterinaria, UdelaR (34°S y 55°O), Departamento de San José. Todos los procedimientos fueron realizados de acuerdo a los principios bioéticos y protoco-



los de supervisión propuestos por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA) de la UdelaR. Como ya se mencionó, este trabajo forma parte de una serie de estudios sobre los efectos de restringir el tiempo de acceso al forraje sobre el aprovechamiento digestivo en rumiantes. Así, en un artículo recientemente publicado (Pérez-Ruchel y col., 2013) se presentan resultados de otras variables (digestión y ambiente ruminal) medidas en este mismo experimento.

#### *Animales, dietas y diseño experimental*

Se utilizaron 6 borregos (1 a 2 años de edad), Corriedale x Milchschaf ( $47,8 \pm 6,4$  kg de peso vivo (PV)), fistulizados en rumen y con sonda permanente. Los animales fueron alojados en jaulas metabólicas individuales, bloqueados por PV (3 bloques) y distribuidos al azar en 2 grupos con alimentación diferente: 24h: acceso al forraje durante todo el día y 6h: acceso al forraje durante un período de tiempo restringido de 6 h por día (7:00 – 13:00 h). Todos los animales fueron alimentados únicamente con forraje proveniente de una pastura compuesta principalmente por 88% (base seca) de leguminosas: *Lotus corniculatus* (80%) y *Lolium multiflorum*, *Trifolium pratense* y *T. repens*, con una disponibilidad inicial de

2065 kg MS/ha. La pastura contenía 29,5% de MS y 44,4% de FND; 28,5% de FAD y 12,8% de PB; en base seca. Los animales tuvieron libre acceso al agua en bebederos y se les ofreció el forraje fresco sin restricción de cantidad durante el tiempo establecido para cada tratamiento (todo el día o 6 h por día). El forraje fue cortado diariamente a 5 cm del suelo con una segadora de disco y ofrecido inmediatamente luego del corte que fue a las 07:00 h. Para el grupo 24h, cada día se refrigeró el forraje cortado para ofrecerlo luego de la hora 6 en relación al inicio de la ingesta.

Luego de un período de adaptación de 30 días, se extrajeron muestras del contenido ruminal (líquido + sólido), a partir del fondo del saco ventral del rumen mediante la sonda ruminal, para realizar 2 estudios diferentes:

**Estudio I:** evaluación de la microbiota ruminal de los animales sometidos a los distintos esquemas de alimentación. Para esto se extrajeron muestras de contenido ruminal a las 4 horas luego del inicio de la ingesta en ambos grupos (24h y 6h). Dicho horario de muestreo se seleccionó en base a los resultados de pH ruminal obtenidos en el mismo experimento (Pérez-Ruchel y col., 2013); la hora 4 fue la hora con menor pH, indicando una mayor actividad microbiana.

**Estudio 2:** evolución de la microbiota ruminal en animales con acceso restringido al forraje. Para esto las muestras fueron extraídas solamente de los animales sometidos al tratamiento 6h, a los tiempos 0, 4 y 8 horas luego del inicio de la ingesta.

#### *Mediciones, análisis y cálculos*

Inmediatamente luego de extraídas las muestras, se midió el pH del contenido ruminal con un pHmetro (eChem Instruments Pte. Ltd., Oakton, Singapur). El contenido ruminal presentó un porcentaje de materia orgánica (MO) de 82,6 % (determinado a 520 °C durante 3 h), 10 mL de contenido ruminal fueron mezclados con 10 mL de buffer salino fosfatado (PBS) suplementado con 0,025 g/L de Na<sub>2</sub>-Cisteína (PBS-Cys). Inmediatamente, la suspensión resultante se procesó en un homogeneizador Stomacher 80 LabBlender (Seward, UK) durante 60 segundos a máxima velocidad. Estos procedimientos fueron realizados para disgregar la fase sólida y con el fin de mantener las condiciones reductoras y anaerobias de la muestra. Las muestras fueron fijadas en etanol absoluto (1:1) a 4 °C por 24 h y luego almacenadas a -20 °C hasta su utilización. Posteriormente las muestras fijadas fueron diluidas

y se filtraron utilizando filtros ISOPORE de 0,2 µm (MILLIPORE, Irlanda) que se almacenaron a -20 °C hasta su utilización. Posteriormente se permeabilizaron las células bacterianas fijadas para facilitar el ingreso de las sondas. Para ello los filtros se incubaron con lisozima (10 mg/mL), a 37 °C durante 1 hora, y luego con proteinasa k (0.09 u/mL) en buffer TE (10 x), a 37°C durante 15 minutos.

Las hibridaciones fueron realizadas sobre los segmentos de filtro según Pernthaler y col. (2003). Las sondas dirigidas al ARNr16S bacteriano así como el porcentaje de formamida utilizado se presentan el Cuadro 1 y han sido previamente utilizadas (Fraga y col., 2013).

Se utilizó una mezcla equimolar de 3 sondas para la detección de miembros del Dominio *Bacteria* (Amann y col., 1990; Daims y col., 1999). Las sondas estuvieron dirigidas a detectar grupos y especies bacterianas tradicionalmente asociadas a miembros de la microbiota ruminal con diferentes funciones. Se utilizaron sondas de oligonucleótidos específicas dirigidas a bacterias fibrolíticas: *Ruminococcus albus* y *Ruminococcus flavefaciens*, consumidoras de lactato: *Selenomonas ruminatum*, *Propionibacterium* spp., *Megaesphaera eldesnii*, y una sonda para

**Cuadro 1.** Sondas de oligonucleótidos para FISH

| Sonda                            | Secuencia de la sonda (5'-3')* | % formamida |
|----------------------------------|--------------------------------|-------------|
| <i>Selenomonas ruminantium</i>   | CCCATCTTTGCGGCAGGTTG           | 40          |
| <i>Megasphaera elsdenii</i>      | ACCCGTTTGCCACTCGAATC           | 30          |
| <i>Ruminococcus albus</i>        | TGCGGTTAGAACACAGGC             | 30          |
| <i>Propionibacterium</i> spp.    | AATTCCATTCTCCCCTACCTTC         | 50          |
| <i>Streptococcus</i> spp.        | GTAGGCAGGTTACCTACGCG           | 50          |
| <i>Ruminococcus flavefaciens</i> | CCCTCTCTCTAAGGTAGG             | 10          |
| Eubacteria                       | GCTGCCTCCCGTAGGAGT             |             |
|                                  | GCAGCCACCCGTAGGTGT             | 35          |
|                                  | GCTGCCACCCGTAGGTGT             |             |

\*Sondas marcadas con FITC en el extremo 5' (Fraga y col., 2013)

detectar *Streptococcus* spp., dada su relevancia en la acidosis de rumiantes. Para cada filtro, se contaron aproximadamente 1000 células totales (marcadas con DAPI: fluorocromo que tiñe todo el ADN de forma inespecífica). En esa cantidad de células totales se hizo el recuento de bacterias representantes de los diferentes grupos evaluados y de bacterias totales (detectados con la mezcla de sondas para Bacteria), luego conociendo la cantidad de campos en los que se hizo el recuento (superficie), la cantidad de muestra y dilución utilizada, se calculó el número total de cada grupo por mL de contenido ruminal.

#### Análisis estadístico

Se analizó la normalidad en las variables evaluadas mediante Proc. Univariate del SAS® (SAS Institute, Cary, USA, 2000). Los recuentos de microorganismos no presentaron una distribución normal por lo que los datos fueron normalizados mediante la transformación a  $\log_{10}$  para su posterior análisis mediante el Proc. Mixed del SAS.

Los grupos bacterianos y los valores de pH ruminal se compararon entre animales sometidos a cada uno de los 2 tratamientos de alimentación (24h vs. 6h, *Estudio 1*), utilizando el modelo  $Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + e_{ijk}$ , donde  $Y_{ijk}$  es la variable depen-

diente,  $\mu$  es la media general,  $T_i$  es el efecto fijo del tratamiento (24h vs. 6h) en  $k$  réplicas animales ( $n = 3$  borregos),  $B_j$  es el efecto aleatorio del bloque ( $j = 3$  bloques) y  $e_{ijk}$  es el error residual.

Los recuentos de diferentes grupos bacterianos ruminales, y los valores de pH ruminal entre animales con acceso restringido al forraje (*Estudio 2*) a diferentes horarios luego del comienzo de la ingesta se analizaron como medidas repetidas sobre el animal de acuerdo al modelo  $Y_{ijk} = \mu + H_i + B_j + e_{ijk}$ , donde  $Y_{ijk}$  es la variable dependiente,  $\mu$  es la media general,  $H_i$  el efecto fijo hora (h 0, 4 y 8) en  $k$  réplicas animales ( $n = 3$  borregos),  $B_j$  es el efecto aleatorio del bloque ( $j = 3$  bloques), y  $e_{ijk}$  es el error residual. Las medias de los datos de los diferentes horarios (h0, h4 y h8) fueron comparados mediante el test de Tukey. Se aceptaron como diferencias significativas valores de  $P \leq 0,05$  y como tendencia valores de  $P$  mayores a 0,05 y menores a 0,1.

## RESULTADOS

### *Estudio 1*

El recuento de bacterias para los animales con 24 h de acceso al alimento se situó en  $4,5 \times 10^{10}$  cel/mL y el de los animales con acceso restringido en  $4,37 \times 10^{10}$  cel/mL. La restricción en el tiempo de acceso no afectó esta variable ( $P > 0,05$ ), pero modificó el perfil bacteriano ya que llevó a variaciones en algunos grupos (Cuadro 2). Los recuentos de *R. albus*, *R. flavefaciens* y *S. ruminantium* fueron mayores en las muestras correspondientes a los animales del grupo 24h que en aquellas de los animales del grupo 6h (Cuadro 2), mientras que las poblaciones de *M. elsdenii*, *Propionibacterium spp.*, y *Streptococcus spp.*, no fueron afectadas por los tratamientos. No se registraron diferencias en el pH ruminal entre los animales de ambos tratamientos.

### *Estudio 2.*

En el Cuadro 3 se presenta la evolución diurna del número de microorganismos y del pH ruminal en los animales alimentados durante 6 h por día. Como se observa, si bien el pH ruminal fue menor a la hora 4 y 8 en relación a la hora 0 desde el inicio de la ingesta, los recuentos de bacterias totales, tendieron a ser menores a las 4 y 8 h ( $P = 0,077$ ) sin diferencias para las distintos grupos bacterianos analizados.

**Cuadro II.** Recuentos absolutos de microorganismos ruminales ( $\log_{10}$  promedio de células/mL) y pH ruminal en animales alimentados con forraje fresco durante 24h o 6h por día

|                               | Tiempo de acceso al forraje |      | ESM  | P     |
|-------------------------------|-----------------------------|------|------|-------|
|                               | 24h                         | 6h   |      |       |
| <b>Eubacterias</b>            | 10,4                        | 10,1 | 0,13 | 0,145 |
| <i>M. elsdenii</i>            | 9,63                        | 8,76 | 0,36 | 0,166 |
| <i>Propionibacterium spp.</i> | 8,98                        | 8,64 | 0,14 | 0,215 |
| <i>R. albus</i>               | 9,13                        | 8,74 | 0,10 | 0,052 |
| <i>R. flavefaciens</i>        | 9,08                        | 8,71 | 0,09 | 0,041 |
| <i>S. ruminantum</i>          | 8,89                        | 8,37 | 0,08 | 0,008 |
| <i>Streptococcus spp.</i>     | 7,86                        | 7,88 | 0,14 | 0,924 |
| <b>pH</b>                     | 6,75                        | 6,77 | 0,10 | 0,842 |

SEM: error estándar de las medias; para cada fila letras diferentes entre medias son diferentes significativamente ( $P \leq 0,05$ ).

**Cuadro III.** Recuentos absolutos de microorganismos ruminales ( $\log_{10}$  promedio de células/mL) y pH ruminal en animales alimentados durante 6 h a las horas 0, 4 y 8 desde el inicio de la ingesta

|                               | Tiempo desde el inicio de la ingesta |                    |                    | ESM  | P     |
|-------------------------------|--------------------------------------|--------------------|--------------------|------|-------|
|                               | 0h                                   | 4h                 | 8h                 |      |       |
| <b>Eubacterias</b>            | 10,44 <sup>x</sup>                   | 10,09 <sup>y</sup> | 10,20 <sup>y</sup> | 0,08 | 0,077 |
| <i>M. elsdenii</i>            | 8,83                                 | 8,76               | 9,07               | 0,27 | 0,723 |
| <i>Propionibacterium spp.</i> | 8,85                                 | 8,64               | 9,18               | 0,24 | 0,302 |
| <i>R. albus</i>               | 8,96                                 | 8,74               | 9,10               | 0,21 | 0,527 |
| <i>R. flavefaciens</i>        | 8,90                                 | 8,71               | 9,14               | 0,35 | 0,716 |
| <i>S. ruminantum</i>          | 8,91                                 | 8,37               | 8,91               | 0,30 | 0,408 |
| <i>Streptococcus spp.</i>     | 7,87                                 | 7,88               | 8,11               | 0,24 | 0,747 |
| <b>pH</b>                     | 7,27 <sup>a</sup>                    | 6,51 <sup>b</sup>  | 6,52 <sup>b</sup>  | 0,18 | 0,006 |

SEM: error estándar de las medias; para cada fila letras diferentes entre medias son diferentes significativamente ( $P \leq 0,05$ ).

## DISCUSIÓN

El tiempo de acceso al forraje no afectó la cantidad de bacterias totales. Los recuentos de bacterias totales que se ubicaron en torno a  $10^{10}$  células/mL de contenido ruminal, se encuentran dentro de las cantidades descritas en la literatura (Kamra, 2005; Arcuriy col., 2011). Algunos grupos bacterianos fueron afectados en forma importante por la restricción. En particular, las especies fibrolíticas *R. flavefaciens* y *R. albus* se vieron significativamente disminuidas en los animales que consumieron pastura solamente durante 6 h al día. Las bacterias fibrolíticas son sensibles a variaciones en el pH ruminal y dependen del N-NH<sub>3</sub> ruminal ya que lo utilizan como principal fuente de nitrógeno (Bryant y Robinson, 1961; Grant y Mertens, 1992). En este experimento los valores de pH ruminal fueron cercanos a la neutralidad y similares entre tratamientos. Por otra parte no se observaron diferencias entre tratamientos en las concentraciones de N-NH<sub>3</sub>. En el otro estudio derivado de este mismo experimento mencionado, en el que se determinó la concentración de N-NH<sub>3</sub> durante 24 h, la concentración media fue de 23,7 y 23,5 mg/dL (para animales alimentados durante todo el día o durante 6 h/d, respectivamente), ubicándose los valores mínimos en niveles superiores

a 16 mg/dL (Pérez-Ruchel y col., 2013), lo que se sitúa por encima de los niveles mínimos necesarios para el óptimo crecimiento microbiano (Satter y Slyter, 1974). Ninguno de estos dos factores (pH y concentración de amonio) parece haber estado relacionado con la menor concentración de bacterias fibrolíticas observadas en este experimento, por lo que estos grupos serían sensibles a otras variaciones del ambiente ruminal. Consistentemente con el resultado anterior, cuando se evaluó la actividad fermentativa del inóculo ruminal de estos mismos animales sobre un sustrato fibroso (paja de trigo) mediante la técnica de producción de gas, se observó que el inóculo de los animales alimentados durante 6 h/d presentó una menor actividad, generando menor volumen de gas (Pérez-Ruchel y col., 2013).

Otra especie afectada por la restricción alimenticia fue *S. ruminantium*, bacteria muy importante en el control de la acidosis subclínica ya que es capaz de consumir lactato y producir propionato (Strobel and Russell, 1986) que se absorbe por la pared ruminal. Este resultado podría estar indicando una situación más desfavorable para las bacterias consumidoras de lactato en aquellos animales sometidos a restricción.

La disminución observada en las especies de bacterias fibrolíticas estudiadas y en *S. ruminantium* (consumidora de lactato), podría explicarse por la menor disponibilidad de sustratos (dada por un menor consumo de MO) y/o por el menor tiempo de retención del alimento en el rumen, ambos resultados observados por Pérez-Ruchel y col. (2013) en este mismo experimento para los animales alimentados durante 6 h en comparación con los alimentados durante todo el día. En este sentido, es de considerar el hecho de que las bacterias fibrolíticas, además de presentar elevados tiempos de generación, deben adherirse a la partículas de la fibra vegetal para poder digerirla (Krause y col., 2003), lo que haría más sensible a este grupo a disminuciones en el tiempo de retención ruminal.

En los animales alimentados durante un período de tiempo restringido, el número de bacterias totales tendió a ser inferior a las 4 y 8 horas desde el inicio de la ingesta, respecto a la hora 0. Este resultado coincide con lo reportado por Lascano y col. (2009), quienes evaluando diferentes niveles de concentrados y de levaduras en vaquillonas lecheras, encontraron que los recuentos de células viables disminuyeron desde el inicio de la alimentación hacia la hora 4 y al mismo tiempo aumentaron las células muertas. Según Arcuri y

col. (2011), a partir del inicio de la ingesta ocurriría una reducción en el número de microorganismos por mL de contenido ruminal debido a un aumento en la dilución del mismo causada por el ingreso de alimento fresco, agua y saliva al retículo-rumen.

## CONCLUSIONES

El tiempo de acceso de los animales al forraje afectó la microbiota ruminal. La restricción en el tiempo de acceso al forraje disminuyó las cantidades por mililitro de contenido ruminal de las bacterias fibrolíticas y consumidoras de lactato estudiadas. Estos cambios se produjeron sin modificaciones del pH ruminal, y podrían tener relación con un tránsito digestivo más acelerado. En los animales que fueron alimentados durante 6 h por día, si bien el número de bacterias totales fue menor a las horas 4 y 8 en relación al inicio de la ingesta, no se encontraron diferencias entre horas en los grupos bacterianos estudiados.

## AGRADECIMIENTOS

A los tesisistas de grado que participaron en el trabajo de campo de la tesis: Florencia Díaz, Martín Klaassen, Juan Pablo Viera.

## REFERENCIAS

1. Amann RI, Binder BJ, Olson RJ, Chisholm SW, Devereux R, Stahl DA. (1990). Combination of 16SrRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. *Appl Environ Microbiol* 56:1919-1925.
2. Arcuri PB, Feraz FC, Carneiro JC. (2011). Microbiología do rúmen. En: Berchielli TT, Pires AV, Olivera SG (Eds.), *Nutrição de ruminantes*. 2ª edn. Funep, Jaboticabal, SP, pp. 115-160.
3. Bryant MP, Robinson IM. (1961). Studies on the nitrogen requirement of some ruminant cellulolytic bacteria. *Appl Microbiol* 9:96.
4. Cajarville C, Pérez A, Aguerre M, Britos A, Repetto JL. (2006). Effect of the timing of cut on ruminal environment of lambs consuming temperate pastures. *J Anim Sci* 84, suppl. 1:103.
5. Daims H, Bruhl A, Amann R, Schleifer KH, Wagner M. (1999). The domain-specific probe EUB338 is insufficient for the detection of all Bacteria: development and evaluation of a more comprehensive probe set. *Syst Appl Microbiol* 22:434-444.
6. Félix A, Hernández N, Figueredo N, Génova M, Ibarra M, Mendoza A, Aguerre M, Pérez-Ruchel A, Repetto JL, Cajarville C. (2011 a). The time of access to temperate pasture influences rumen pH and NH<sub>3</sub>-N concentration in heifers. *J Anim Sci* 89 E-Suppl 1:379.
7. Félix A, Hernández N, Torterolo N, Roja S, Aguerre M, Pérez-Ruchel A, Repetto JL, Cajarville C. (2011 b). The time of access to temperate pasture influences intake and feeding behavior in heifers. *J Anim Sci* 89 E-Suppl 1:380.
8. Forbes JM, Mayes RW. (2002). Food choice. En: Freer M, Dove H (eds.), *Sheep nutrition*. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 51-69.
9. Fraga M, Perelmutter K, Valencia MJ, Cajarville C, Zunino P. (2013). Caracterización de la microbiota bacteriana ruminal de un bovino a pastoreo mediante técnicas clásicas e independientes de cultivo. *Veterinaria* 49:40-55.
10. Freer M, Dove H, Nolan JV. (2007). Application. En: *Nutrient requirements of domesticated ruminants*, CSIRO Publishing, Collingwood, Australia, pp. 227-233.



11. Fuhrman JA, Ouverney CC. (1998). Marine microbial diversity studied via 16SrRNA sequences: cloning results from coastal waters and counting of native *Archaea* with fluorescent single cell probes. *Aquat Ecol* 32:3-15.
12. Grant RJ, Mertens DR. (1992). Influence of buffer and raw corn starch addition on in vitro fiber digestion kinetics. *J Dairy Sci* 73:1823-1833.
13. Kamra DN. (2005). Rumen microbial ecosystem. *Current Sci* 89:124-135.
14. Krause DO, Denman SE, Mackie RI, Morrison M, Rae AL, Attwood GT, McSweeney CS. (2003). Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics. *FEMS Microbiology Reviews* 27:663-693.
15. Lascano GJ, Zanton GI, Heinrichs AJ. (2009). Concentrate levels and *Saccharomyces cerevisiae* affect rumen fluid-associated bacteria numbers in dairy heifers. *Livestock Sci* 126:189-194.
16. Pérez-Ruchel A, Repetto JL, Cajarville C. (2013). Suitability of live yeast addition to alleviate the adverse effects due to the restriction of the time of access to feed in sheep fed only pasture. *J Anim Physiol Anim Nutr* 97:1043-1050.
17. Pernthaler J, Pernthaler A, Amann R. (2003). Automated enumeration of groups of marine picoplankton after fluorescence in situ hybridization. *Appl Environ Microbiol* 69:2631-2637.
18. Satter LD, Slyter LL. (1974). Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *Br J Nutr* 32:199-208.
19. Strobel HJ, Russell JB. (1986). Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. *J Dairy Sci* 69:2941-2947.

## Intoxicación espontánea y experimental por *Quercus robur* (roble inglés) en bovinos en Uruguay

### Spontaneous and experimental poisoning by *Quercus robur* (English oak) in bovine in Uruguay

Dutra F.<sup>1</sup>, Romero A.<sup>1</sup>, Trelles, P.<sup>2</sup>, Arruti F.<sup>2</sup>,  
Ferres, J.<sup>2</sup>, Quinteros C.<sup>1</sup>

Recibido: 25/2/2013  
Aprobado: 2/5/2013

#### RESUMEN

Se describe por primera vez en Uruguay la intoxicación espontánea y experimental por árboles de roble de la especie *Quercus robur* L. (Fagaceae). Tres focos ocurrieron en dos predios en los meses de mayo de 1997, 2001 y 2013, todos en el departamento de Maldonado, donde es común la existencia de grandes robledales. Enfermaron 15 de 90 novillitos sobreaños en 1997, 7 de 74 en el 2001 y 10 de 60 en el 2013, con una letalidad del 26,6%, 14,2% y 30,0%, respectivamente. Los animales presentaban constipación, debilidad y adelgazamiento progresivo, uremia con niveles elevados de urea y creatinina en sangre, riñones pálidos, edema perirrenal y ulceraciones del esófago a la necropsia, y lesiones de nefrosis tóxica

#### SUMMARY

Three outbreaks of intoxication by *Quercus robur* L. (Fagaceae) are described for the first time in Uruguay. Spontaneous cases occurred in May (autumn) of 1997, 2001 and 2013, all in the department of Maldonado where it is common the existence of large oak forests. Fifteen of 90 1-2 years-old steers were affected in 1997, 7 of 74 in 2001 and 10 of 60 in 2013, with a case fatality rate of 26.6% , 14.2% and 30.0%, respectively. The animals showed constipation, weakness and progressive loss of weight, uremia with elevated levels of urea and creatinine. Pale kidneys, perirenal edema and ulceration of the esophagus were found at necropsy and severe toxic nephrosis at histopathology. Acorns were found in the

1DILAVE Miguel C Rubino, Laboratorio Regional Este, Avelino Miranda 2045, Treinta y Tres, Uruguay.

2Ejercicio liberal, Uruguay. - Autor de correspondencia: fdutra@mgap.gub.uy

severa a la histopatología. Gran cantidad de bellotas se encontraron en el contenido ruminal de uno de los animales necropsiados. La enfermedad se confirmó experimentalmente en 2 terneros de 5-6 meses de edad a los que se administró por vía oral 10,7 kg y 22,8 kg hojas y bellotas de *Quercus robur* repartidas en dosis de 15-30 g/kg durante 22 y 30 días, respectivamente. El examen macro y microscópica mostró edema perirrenal moderado, riñones pálidos y nefrosis tubular aguda en ambos animales, lesiones similares a los casos de campo que confirman la intoxicación espontánea por *Quercus robur*.

rumen contents of one of the necropsied animals. The disease was confirmed experimentally in two calves 5-6 months of age, which were dosed orally with 22.8 kg 10.7 kg of acorns and leaves of *Quercus robur*, divided in several doses of 15-30 g/kg during 22 and 30 days, respectively. In both experimental animals, macro and microscopic examination showed perirenal edema, pale kidneys and acute tubular nephrosis, lesions comparable to field cases which confirm the spontaneous poisoning by *Quercus robur*.

### Palabras clave:

bovino, nefrosis tóxica, roble inglés, *Quercus robur*.

### Keywords:

Bovine, toxic nephrosis, oak poisoning, *Quercus robur*.

## INTRODUCCIÓN

La intoxicación de bovinos por árboles del género *Quercus* spp. (Roble) es una enfermedad de amplia distribución en el hemisferio norte pero que puede ocurrir donde sea que existan montes de roble (Burrows y Tyrl, 2013). La mayoría de los casos se reportan en el sudoeste de Estados Unidos, Canadá, Europa del Norte, Balcanes y Rusia (Dollahite y col., 1966; Garg y col., 1992; Dirksen y col., 2005). En el Reino Unido, la enferme-

dad se asocia a veranos largos y calurosos que disminuyen la disponibilidad de forraje alternativo y a vientos fuertes que voltean gran cantidad de bellotas bajo los bosques (Wiseman y Thompson, 1984). En California, EEUU, solo en el mes de abril de 1985 murieron más de 2700 terneros en 60 ranchos de 3 condados a consecuencia del clima frío, la escasez de forraje y tormentas de nieve (Spier y col., 1987). En Texas la enferme-

dad es endémica estimándose las pérdidas en más de 1000 cabezas al año (Dollahite y col., 1966). En el hemisferio sur la intoxicación se ha reportado en Sudáfrica (Kellerman y col., 1988), Australia y Nueva Zelanda (Parton y Bruere, 2002). En Sudamérica, existe sólo un reporte de intoxicación espontánea por *Quercus* sp. (especie no reportada) en bovinos en Argentina (Odrizola y col., 1990). La intoxicación espontánea por *Quercus* spp. se ha reportado también en equinos (Maxie y Newman, 2007), ovinos (Ben Salem y col., 2003) y animales salvajes como el alce y la llama (Vikøren y col., 1999; Chamorro y col., 2013).

Aunque todas las especies de *Quercus* y de sus innumerables híbridos se consideran potencialmente tóxicos, solo algunas se han implicado en mortandad de animales (Burrows y Tyrl, 2013). Su toxicidad se atribuye al alto contenido en taninos hidrolizables, en particular galotaninos y elagitaninos, que pueden alcanzar concentraciones de hasta 23% (g/kg MS de ácido tánico equivalente, método Folin-Ciocalteu) en hojas jóvenes y bellotas verdes, las partes más tóxicas del roble (Doce y col., 2012). Si el consumo es moderado la mayoría de los taninos hidrolizables y sus productos de degradación ruminal (ácido gálico, digálico, elágico, y otros polifenoles) se eliminan por el tracto digestivo unidos a las proteínas de la dieta (Makkar, 2003), pero si la ingesta es alta,

y especialmente luego de períodos de inanición prolongados (Pérez y col., 2011), la cantidad y velocidad de absorción de los compuestos fenólicos aumenta por el efecto astringente de los taninos sobre la mucosa intestinal, se excede la capacidad de detoxificación del hígado y la destrucción de los tejidos se produce en los sitios de más alta concentración de las toxinas (Burrows y Tyrl, 2013). En los bovinos, la destrucción tisular se produce principalmente en los riñones donde la injuria se caracteriza por degeneración y necrosis tubular aguda (Maxie y Newman, 2007; Pérez y col., 2011). Si la dosis es muy alta también aparecen lesiones degenerativas en el hígado que contribuyen a la muerte de los animales (Maxie y Newman, 2007). Los bovinos afectados desarrollan un cuadro de insuficiencia renal aguda o subaguda caracterizada por pérdida de estado corporal, pelaje hirsuto, abdomen retraído, constipación y diarrea intermitentes, y mucus o sangre en las heces (Dirksen y col., 2005).

En Uruguay el *Q. robur*, “roble inglés” o “roble europeo” fue la primera especie de roble introducida en el siglo XIX en Uruguay y es la más difundida. Se lo encuentra principalmente como ejemplares ornamentales aislados y también en grandes robledales como montes de abrigo y sombra (Ing. Agr. Raúl Nin, comunicación personal, 2007). Otras especies de roble introduci-

das en Uruguay son el *Quercus ilex* o Encina, *Quercus suber* o roble corcho, especie encontrada fundamentalmente en las zonas de viñedos, el *Quercus rubra* o roble americano (Ing. Agr. Raúl Nin, comunicación personal, 2007) y en los últimos 20 años el *Quercus pallustris*, muy utilizado en parques y jardines por sus hojas de color rojizo en el otoño (Ing. Agr. Carlos Brussa, comunicación personal, 2007).

En el presente trabajo se comunica por primera vez en Uruguay la intoxicación espontánea y experimental por *Quercus robur* en bovinos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El diagnóstico patológico de los casos espontáneos y la reproducción experimental de la enfermedad se realizaron en el Laboratorio Regional Este, DILAVE Miguel C Rubino, Treinta y Tres, Uruguay.

### *Casos espontáneos*

Los datos epidemiológicos, clínicos y patológicos de tres focos de intoxicación ocurridos en dos predios rurales diferentes, ambos ubicados en el departamento de Maldonado, fueron recabados en las visitas realizadas a los establecimientos afectados. Se realizaron 2 necropsias

completas en el primer foco (Casos N° 1 y 2) y se procesaron macroscópicamente órganos y vísceras refrigeradas de 1 animal del segundo foco (Caso N° 3) y de 2 casos del tercer foco (Casos N° 4 y 5). Del tercer foco se realizó además la bioquímica sanguínea de 2 animales clínicamente afectados. Para la histopatología, muestras de distintos órganos, incluyendo los riñones, se fijaron en formol bufferado al 10%, se deshidrataron en alcohol, se incluyeron en parafina, se cortaron a 5-7 µm de espesor y se colorearon con Hematoxilina y Eosina (H&E).

### *Reproducción experimental*

El protocolo de investigación se realizó siguiendo las normativas y con la aprobación de la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA) de la Universidad de la República.

En los meses de mayo y agosto de 2007 se colectaron muestras de hojas, rebrotes y bellotas del robledal del primer predio (Figura 1).

Las muestras se pesaron y se mantuvieron en un lugar seco durante el período experimental de cada animal. El nivel de taninos y el grado de toxicidad de las hojas de *Quercus* no se afectan por el desecado a distintos niveles de temperatura y tiempo (Makkar, 2003). Para la reproducción experimental se utilizaron dos terneros, machos



**Figura 1.** Robledal de *Quercus robur* L. en predio de paraje Garzón, 13ª Sección Policial de Maldonado donde ocurrieron dos brotes de intoxicación. Hojas y bellotas de *Q. robur* (recuadro). Fotos tomadas el 13 de mayo 2007.

enteros, de 5-6 meses de edad. Los animales se pesaron antes y después del experimento y se mantuvieron con agua *ad libitum* en un potrero de campo natural con relativamente buena disponibilidad de forraje. Al ternero N° 1 (Hereford, 110 kg PV) se le administró manualmente por vía oral 10,7 kg de hojas y bellotas jóvenes molidas repartidas en 6 dosis de 15-20 g/kg de peso vivo cada 5 días durante 30 días. El segundo animal (Aberdeen Angus, 80 kg PV) recibió una dosis total de 22,8 kg hojas y bellotas maduras en dosis

diarias (excepto domingos) de 10-15 g/kg durante 22 días. Los animales se evaluaron diariamente antes y durante el experimento (temperatura corporal, frecuencia cardio-respiratoria y movimientos ruminales) y muestras diarias de suero se congelaron a -20 °C hasta su análisis para urea y creatinina en el laboratorio de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República (Dres. Luis Barros y Virginia Golberg).

Al final del experimento, los animales se sacrificaron por exsanguinación aguda previa sedación

con xilacina (0,2 mg/kg i/m, Rompun Bayer), se necropsiaron y muestras de distintos órganos se fijaron en formol bufferado y se procesaron para histopatología igual que los casos espontáneos.

#### *Identificación botánica*

Se colectaron muestras de hojas, brotes y bellotas de los robledales de los 2 predios problema, las cuales se acondicionaron y se enviaron para su clasificación a la Cátedra de Botánica de la Facultad de Química (Universidad de la República).

## RESULTADOS

#### *Descripción de los brotes*

El primer foco ocurrió en mayo de 1997 en un establecimiento ganadero ubicado en el paraje Garzón, 13ª Sección Policial del departamento de Maldonado y en el mismo predio un nuevo brote ocurrió en mayo de 2001. En ambos casos se afectaron novillitos de sobreaño de raza Hereford. En 1997, enfermaron 15 y murieron 4 de un total 90 animales (morbilidad 16,6%, mortalidad 4,4%, letalidad 26,6%), 20 a 30 días después de ingresar a un extenso robledal (Figura 1). En el 2001 de 74 novillitos que estaban pastoreando bajo el mismo robledal desde hacía dos meses enfermaron 7 y murió 1 (morbilidad 9,5%, mortalidad 1,4%, letalidad 14,2%). El tercer foco ocurrió en mayo de 2013 en un predio ganadero localizado en el paraje Laguna del Sauce, 11ª

Sección Policial del departamento de Maldonado. En un lote de 60 novillos de 1 a 2 años de edad enfermaron 10 y murieron 3 animales (morbilidad 16,6%, mortalidad 5%, letalidad 30%). Los animales pastoreaban desde hacía meses en un campo natural con numerosos bosques artificiales donde predominaban los robles. La bioquímica sanguínea de dos animales enfermos evidenció insuficiencia renal descompensada (síndrome urémico) con niveles de urea de 34 y 39 mmol/L (normal 2.00-5.90 mmol/L) y creatinina de 388 y 794 mmol/L (normal < 115 mmol/L), respectivamente (Dr. Gonzalo Uriarte, Dpto. de Patología Clínica, DILAVE, Montevideo). Los signos clínicos y patológicos eran similares en todos los casos. Los animales mostraban debilidad, adelgazamiento progresivo, mal estado corporal, mucosas pálidas, taquicardia, compactación del rumen y constipación con heces secas recubiertas de mucus, recuperándose o muriendo al cabo de 5-7 días de observarse los primeros signos clínicos. El examen postmortem de dos animales del primer foco (casos N° 1 y 2) mostró marcada deshidratación, ascitis moderada a severa, ulceraciones severas en tercio distal de esófago (Figura 2) y en bordes laterales de la lengua, contenido abomasal hemorrágico y hemorragias subendocárdicas difusas. Las úlceras de esófago también se encontraron en el caso N° 5.



**Figura 2.** Esófago de novillo sobreño (Caso N° 1). Ulceras lineales en tercio distal de esófago secundarias a insuficiencia renal crónica (uremia).



**Figura 3.** Riñón de novillo sobreño (Caso N° 5). Superficie de corte mostrando la corteza renal pálida e irregular por la nefrosis y la fibrosis crónica.

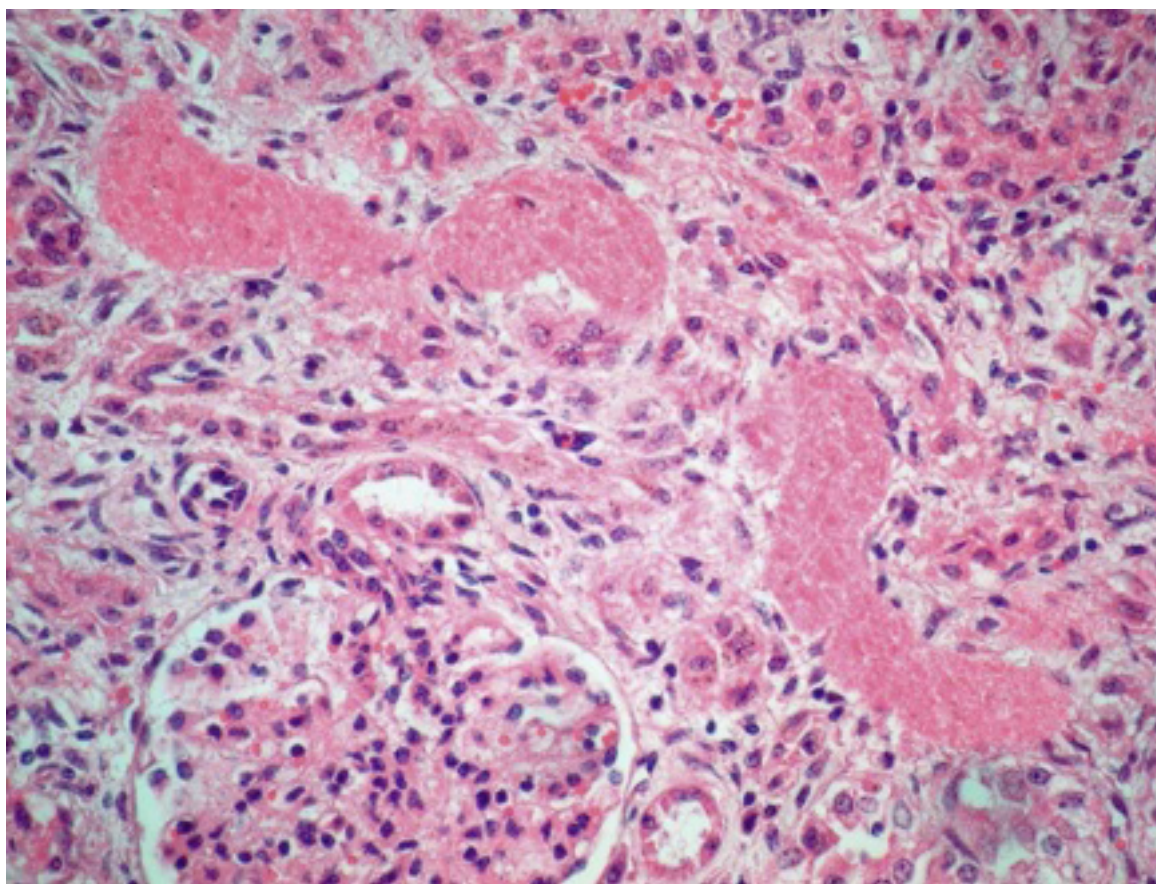


En el caso N° 3, el contenido ruminal estaba seco y compacto y contenía gran cantidad de bellotas de roble. Las lesiones más constantes se encontraron en los riñones, que en todos los casos estaban firmes, pálidos, con el tejido perirrenal moderadamente edematoso. Al corte, la corteza era fibrosa, irregular y de color blanco-amarillento (Figura 3).

A la histopatología, las lesiones a nivel de riñón eran típicas de un cuadro nefrotóxico subagudo a crónico, severo, en los 5 casos diagnosticados. Se caracterizaban por necrosis de las células epite-

liales de los túbulos contorneados proximales, dilatación tubular, formación de cilindros hialinos y grados variables de edema y fibrosis intersticial con distorsión tisular (Figura 4).

La membrana basal de los túbulos se mantenía intacta. Había hemorragias intratubulares e intentos de regeneración tubular. El hígado de los novillos N° 1, 3 y 5 mostraba moderada a severa necrosis de coagulación de hepatocitos de la región periacinar.



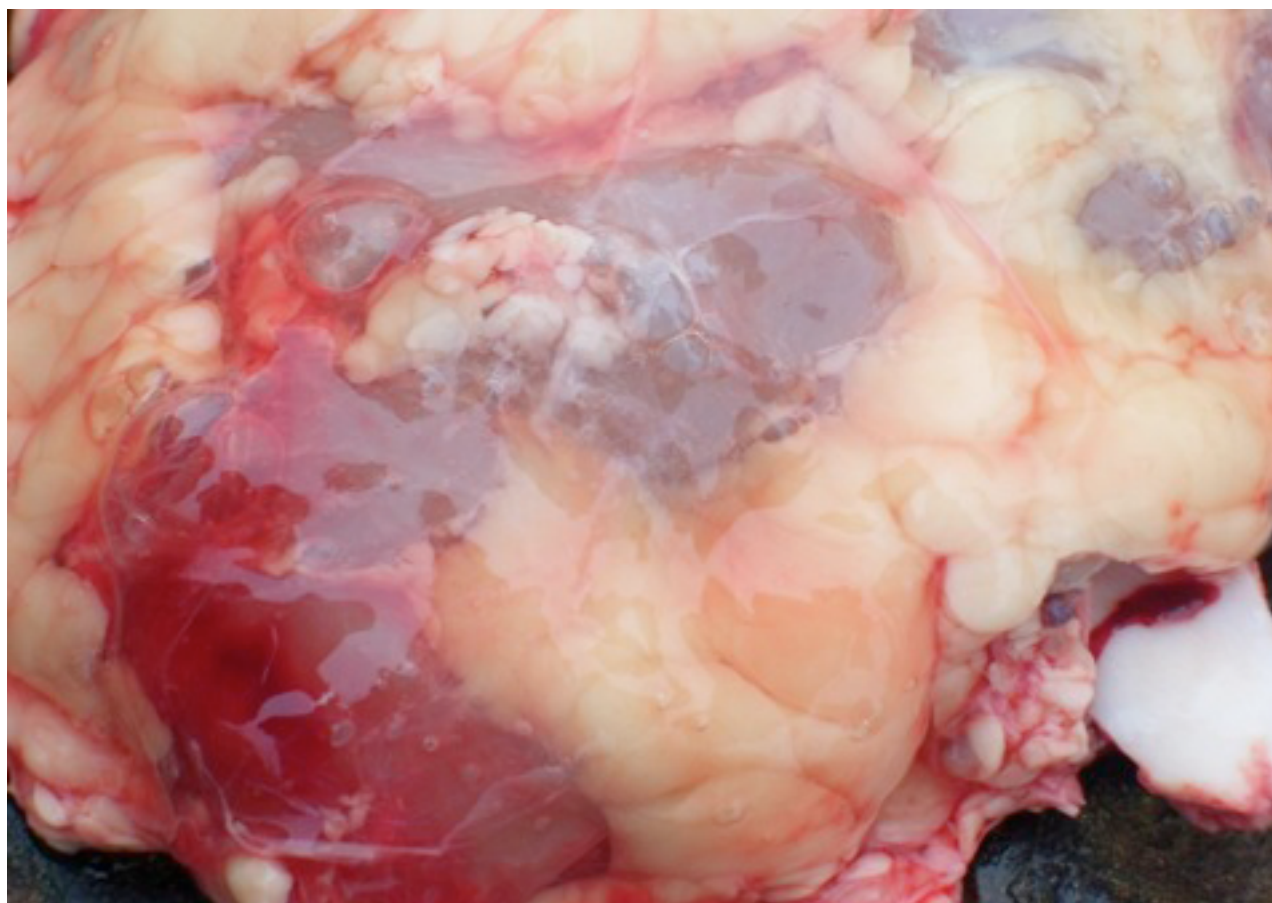
**Figura 4.** Lesiones nefrotóxicas crónicas en novillo N° 5. Se observa nefrosis con cilindros hialinos, fibrosis intertubular y distorsión tisular.

*Reproducción experimental*

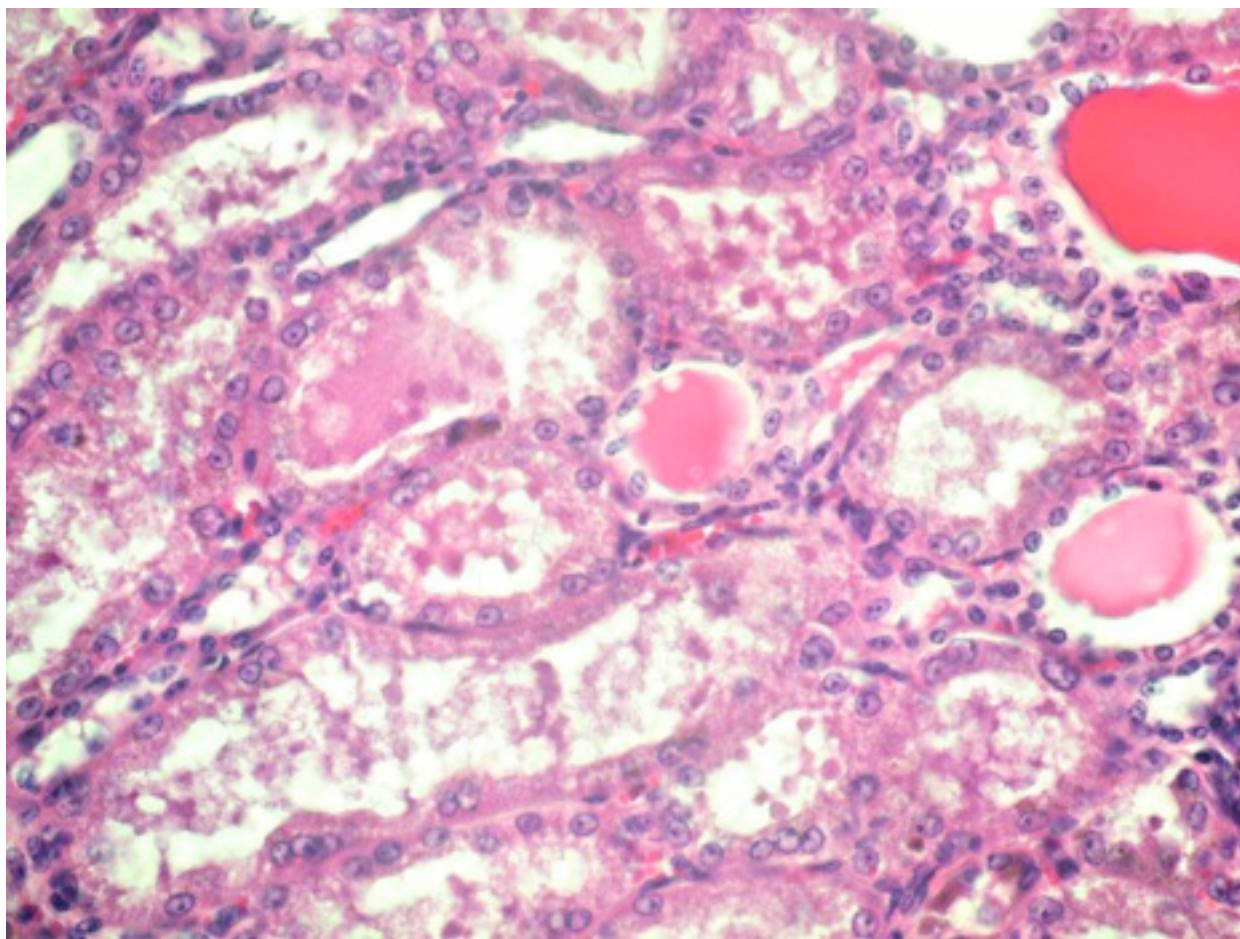
En ninguno de los dos animales experimentales se observaron variaciones significativas en la frecuencia respiratoria ( $34,5 \pm 3,1$  resp./min) (Media $\pm$  DS), frecuencia cardíaca ( $69,1 \pm 0,06$  lat./min) y temperatura rectal ( $38,6 \pm 0,17$  °C). Ambos animales mantuvieron el peso durante el período experimental. Los análisis de urea en suero ( $3,7 \pm 0,6$  mmol/L) y creatinina ( $91,0 \pm 5,59$  mmol/L) fueron también normales en ambos experimentos. Clínicamente, lo más significativo en ambos animales fue la constipación y el te-

nesmo intermitente, con deposición de materia fecal seca recubierta de mucus y a veces hilos de sangre. A la necropsia, en ambos animales los riñones estaban hinchados, eran de color blanco-amarillento, con hemorragias subcapsulares y un moderado edema perirenal (Figura 5).

A la histopatología, se encontró nefrosis leve a moderada, con degeneración hidrópica de los túbulos proximales, cilindros hialinos o granulares y moderado edema a nivel del intersticio intertubular (Figura 6).



**Figura 5.** Edema peritrenal. Reproducción experimental (ternero N° 1).



**Figura 6.** Microfotografía de riñón de ternero experimental N° 1 mostrando la degeneración tubular y el contenido proteináceo en la luz tubular. H&E (400x).

No se encontraron lesiones de significación patológica en el sistema nervioso central ni en el resto de los órganos examinados histológicamente.

#### *Identificación botánica*

Las muestras de roble fueron identificadas como *Quercus robur* L. por el Lic. Eduardo Alonso, Facultad de Química, Montevideo, quedando identificada en la Cátedra de Botánica como MVFQ N° 4302.

## DISCUSIÓN

Los resultados del presente trabajo confirman por primera vez en el Uruguay la intoxicación espontánea y experimental en bovinos por árboles de roble de la especie *Quercus robur*. La patología clínica, la necropsia y la histopatología fueron todos coincidentes con otros trabajos que muestran el carácter nefrotóxico primario del *Q. robur* (Spier y col., 1988; Plumlee y col., 1998). Los brotes fueron de relativamente alta morbilidad

(9% a 16%) y de evolución subaguda a crónica, apareciendo los primeros casos varias semanas luego del pastoreo bajo los robledales. Esto indica que las lesiones renales deben ser significativas y superar la reserva metabólica renal antes de que los animales desarrollen uremia y signos clínicos evidentes (Maxie y Newman, 2007). Otras plantas nefrotóxicas en bovinos en Uruguay son el *Amaranthus quitensis* o “yuyo colorado” (Dutra y col., 1993) y la *Anagallis arvensis* (Rivero y col., 2001), pero a diferencia del roble estas enfermedades son agudas, causan altas mortalidades (40% - 50%) y los brotes ocurren en verano asociados a rastrojos viejos o tierras roturadas invadidos por dichas plantas. Una enfermedad neurotóxica crónica similar al roble, conocida como “Enfermedad de la Isla”, de etiología aún no esclarecida, ocurre en bovinos en el noreste argentino (Sánchez Negrette y col., 2000), mientras que casos idénticos de nefrosis tóxica asociada a la ingestión del árbol *Thiloa glaucocarpa* (Combrataceae), el cual contiene gran cantidad de taninos, se describen en bovinos en la región semiárida del nordeste de Brasil (Miranda Neto y col., 2009).

El *Quercus robur*, roble inglés o roble europeo, es la especie de roble más extendida en Uruguay y se la encuentra comúnmente como extensos robledales principalmente en los departamen-

tos de Maldonado, Rocha y Lavalleja (Ing. Agr. Raúl Nin, comunicación personal, 2007). Esto concuerda con que los brotes por esta especie se hayan diagnosticados todos en Maldonado, en el Este del país. En condiciones naturales, en el hemisferio norte, las distintas especies de *Quercus* son una fuente nutricional importante para los animales silvestres y el ganado durante gran parte del año, y los brotes solamente ocurren cuando los animales son forzados a subsistir durante semanas o meses bajo los árboles con escaso forraje o sin suplementación (Dollahite y col., 1966; Wiseman y Thompson, 1984; Spier y col., 1987). La enfermedad puede ocurrir en cualquier época del año siempre que haya penuria forrajera, los casos generalmente aparecen a fines de verano u otoño cuando el forraje es escaso y la disponibilidad las bellotas verdes en el sotobosque es muy alta, o al inicio de la primavera cuando la disponibilidad de pasto es aún baja y existe una amplia disponibilidad de rebrotes y hojas jóvenes de roble (Dollahite y col., 1966; Spier y col., 1987). Factores climáticos como el frío, los vientos fuertes y los temporales pueden forzar a los animales a consumir hojas y bellotas caídas y rebrotes en lugar de otros forrajes (Spier y col., 1987). Similares condiciones epidemiológicas se dieron en nuestro caso, ya que todos los focos ocurrieron en otoño (mayo), el forraje bajo los árboles era

escaso y gran parte de la dieta de los animales estaba compuesta de rebrotes y bellotas, como se constató en el contenido ruminal de los animales necropsiados. El uso de heno o concentrados y la adición de 5% - 10% de hidróxido de calcio a la ración para limitar el consumo de roble por parte de los animales, reducen o previenen la incidencia de la enfermedad (Dollahite y col., 1966b).

La patología asociada a la intoxicación por roble difiere con la especie animal. Los animales monogástricos desarrollan principalmente lesiones hepáticas y gastrointestinales, mientras que en el bovino y otros rumiantes el principal órgano afectado es el riñón, siendo el hígado afectado solo con altas dosis (Maxie y Newman, 2007).

En el presente estudio, todos los casos de campo presentaban lesiones renales severas con uremia y ulceración del esófago y, en dos casos, había además necrosis hepática, confirmando que la dieta en roble de los animales era muy alta. En la reproducción experimental, los animales desarrollaron lesiones macroscópicas e histológicas en los riñones, pero sin lesiones hepáticas ni cambios significativos en los niveles de urea y creatinina, indicando que las lesiones fueron subclínicas. Las lesiones renales eran similares en ambos terneros, a pesar de que la dosis total fue de 10,7 kg en un caso y más del doble, 22,8 kg., en el otro. Esto puede ser debido a que el se-

gundo animal recibió hojas y bellotas maduras, recolectadas en el mes agosto, que contienen mucha menor cantidad de taninos hidrolizables (Burrows y Tyrl, 2013). Los resultados experimentales sugieren que para reproducir clínicamente la enfermedad se requiere dosis tóxicas aún mayores que las suministrada en el presente estudio y/o bien un tiempo de dosificación más prolongado. También se ha sugerido que la ocurrencia de la enfermedad experimental no es estrictamente dependiente de la dosis, sino que existe una dosis umbral, y que hay además una considerable variación de toxicidad entre las plantas (Dollahite y col., 1966) y, posiblemente, en la susceptibilidad de los animales individuales debido a diferencias en la microbiota ruminal (González-Barrio y col., 2012).

En conclusión, la intoxicación por *Quercus robur* es una enfermedad tóxica presente en nuestro país. La enfermedad es nefrotóxica y debe sospecharse siempre que los animales tengan acceso a montes de roble durante varias semanas o meses. Para el control de la enfermedad los animales bajo robledales deben suplementarse para evitar una dieta exclusiva con *Quercus robur*.

## AGRADECIMIENTOS

A los Dres. Mario Bonilla, Oscar Jackson y Luis García por su colaboración en los casos de campo, al Lic. Eduardo Alonso por la clasificación botánica del roble, y a los Ing. Agr. Raúl Nin y Carlos Brussa por la información del *Quercus robur* en Uruguay.

## REFERENCIAS

1. Ben Salem H, Ben Salem I, Nefzaoui A, Ben Saïd MS. (2003). Effect of PEG and olive cake feed blocks supply on feed intake, digestion, and health of goats given kermes oak (*Quercus coccifera* L.) foliage. *Anim Feed Sci Tech* 110: 45–59.
2. Burrows, G.E.; Tyrl, R.J. (2013). *Quercus* L. En: *Toxic plants of North America* / George E. Burrows, Ronald J. Tyrl. – 2a ed., Iowa 50014-8300, USA, Ed. John Wiley & Sons, Inc. Cap. 36, pp. 677-685.
3. Chamorro MF, Passler T, Joiner K, Poppenga RH, Bayne J, Walz PH. (2013). Acute renal failure in 2 adult llamas after exposure to Oak trees (*Quercus* spp.). *Can Vet J* 54: 61–64.
4. Cozzo, D. (1979). Árboles forestales, maderas y silvicultura de la Argentina. En: *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. 2a ed., Ed. Lorenzo R. Parodi, ACME S.A.C.I, Buenos Aires, vol. II, pp. 156.
5. Dirksen G, Gründer H-D, Stöber M. (2005). *Medicina Interna y Cirugía del Bovino*. 4a. ed. Buenos Aires, Ed. Intermédica, pp.649-652.
6. Doce RR, Belenguer A, Toral PG, Hervás G, Frutos P. (2013). Effect of the administration of young leaves of *Quercus pyrenaica* on rumen fermentation in relation to oak tannin toxicosis in cattle. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 97:48-57.
7. Dollahite JW, Housholder GT, Camp BJ. (1966). Oak poisoning in livestock. *Texas Agric. Exp. Station*. 8 p Disponible en: <http://hdl.handle.net/1969.1/90547>
8. Dollahite, J.W.; Housholder G.T.; Camp, B.J. (1966b). Effect of calcium hydroxide on the toxicity of post oak (*Quercus stellata*). *JAVMA* 148:908-912.
9. Dutra F, Lewin E, Paiva N. (1993). Necrosis tubular tóxica y edema perirrenal en bovinos asociado a la ingestión de *Amaranthus quitensis*. *Veterinaria (Montevideo)* 119:4-16.
10. Garg SK, Makkar HP, Nagal KB, Sharma SK, Wadhwa DR, Singh B. (1992). Oak (*Quercus incana*) leaf poisoning in cattle. *Vet*

- Hum Toxicol. 34:161-164.
11. González-Barrio R, Truchado P, García-Villalba R, Hervás G, Frutos P, Espín JC, Tomás-Barberán FA. (2012). Metabolism of oak leaf ellagitannins and urolithin production in beef cattle. *J Agric Food Chem* 60:3068-3077.
  12. Kellerman TS, Coetzer JA, Naude WT. (1988). *Plant Poisoning and Micotoxins of Livestock in Southern Africa*. Oxford University Press. Cape Town, pp. 161-177.
  13. Makkar HPS. (2003). Effect and fate of tannins in ruminants animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Rumin Res* 49:241-256.
  14. Maxie MG, Newman S. (2007). Urinary system. En: Jubb, Kennedy, and Palmer's *Pathology of Domestic Animals*. 5a. ed. Philadelphia, Ed. Saunders, Vol. 2, pp. 473-474.
  15. Miranda Neto EG, de Pereira ALL, Souza JCA, Mendonça CL, Riet-Correa F, Dantas AFM, Costa NA, Rego RO, Silva Filho AP, Afonso JAB. (2009). Toxic nephrosis in cattle from Pernambuco State, Northeastern Brazil associated with the ingestion of *Thiloua glaucocarpa*. En: *Poisonings by Plants, Mycotoxins and Related Toxins*. Franklin Riet-Correa, Jim Pfister, Ana Lucia Schild, and Terrie Wierenga (Eds.). CAB International 2011, Cap. 67, pp. 412-415.
  16. Odriozola E, López T, Daguerre S, Viejo R, Cacace P. (1990). Nefropatía tóxica natural en bovinos por consumo de roble (*Quercus* spp.). *Veterinaria (Argentina)*. 7:608-612.
  17. Parodi, D. (2004). *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. 2a. ed. Buenos Aires, Ed. Acme Agency 1194 pp
  18. Parton K, Bruere, NA. (2002). Plant poisoning in livestock in New Zealand. *N Z Vet J* 50: 22-27 (Suppl.)
  19. Pérez V, Doce RR, García-Parient C, Hervás G, Carmen Ferreras M, Mantecón AR, Frutos P. (2011). Oak leaf (*Quercus pyrenaica*) poisoning in cattle. *Res Vet Sci* 91:269-277.
  20. Plumlee KH, Johnson B, Galey FD. (1998). Comparison of disease in calves dosed orally with oak or commercial tannic acid. *J Vet Diag Invest*.10:263-267.
  21. Rivero R, Zabala A, Giannechini R, Gil J, Moraes J. (2001). *Anagallis arvensis* poisoning in cattle and sheep in Uruguay. *Vet Hum Toxicol* 43:27-30.
  22. Sánchez Negrette M, Montenegro MA, Perez Ganeselli MR, Burna AN. (2000). Enfermedad de la isla, estudio anatomohistopatológico de un caso. *Rev Vet (Corrientes)* 10/11:30-33.

23. Spier SJ, Smith BP, Seawright AA, Norman BB, Ostrowski SR, Oliver MN. (1987). Oak toxicosis in cattle in northern California: clinical and pathologic findings. *JAVMA* 191:958–964.
24. Vikøren T, Handeland K, Stuve G, Bratberg B. (1999). Toxic nephrosis in Moose in Norway. *J Wildl Dis* 35:130–133.
25. Wiseman A, Thompson H. (1984). Acorn poisoning. *Vet Rec.* 115:605.



## Hemipelvectomia total em felino com osteosarcoma pélvico. Relato de caso

### Hemipelvectomy in cats with pelvic osteosarcoma. Case report

Izquierdo DFC<sup>1</sup>, Ferrigno CRA<sup>2</sup>, Rizzo MFCI<sup>2</sup>, Dal Bó I<sup>2</sup>,  
Valente AF<sup>2</sup>, Dos Santos JF<sup>2</sup>, Poletto MF<sup>2</sup>,  
Della Nina MI<sup>2</sup>, Cavalcanti RAO<sup>2</sup>, Ferraz VCM<sup>2</sup>

Recibido: 20/6/2013  
Aprobado: 31/7/2013

#### RESUMO

Apresenta-se caso clínico de felino, macho e nove anos de idade, com claudicação do membro pélvico esquerdo após cirurgia de colocefalectomia, realizada por osteosarcoma em cabeça femoral. Relata-se procedimento de hemipelvectomia total, anestésico, cuidados pós-operatórios e evolução do caso até o óbito do animal.

Do presente relato pode se afirmar que a sobrevivência do paciente foi reduzida em função do primeiro procedimento cirúrgico.

#### :Palavras chave:

hemipelvectomia total, neoplasia óssea, osteosarcoma felino

#### ABSTRACT

A nine year-old feline male, presented lameness of the left pelvic limb after a femoral head and neck ostectomy due to osteosarcoma of the femoral head. This case report describes the hemipelvectomy procedure, anesthetic protocols, post-operative care and evaluation of the patient through life.

Based on the present report we concluded that an incorrect primary surgical management of an osteosarcoma results in a bad prognosis and reduces the life expectancy after diagnosis.

#### Keywords:

hemipelvectomy, bone tumor, feline osteosarcoma

<sup>1</sup>Departamento de Pequenos Animales, Facultad de Veterinaria, UdelaR

<sup>2</sup>: Laboratório de Ortopedia e Traumatologia Comparada do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

## INTRODUÇÃO

Neoplasias ósseas primárias podem ocorrer tanto no esqueleto apendicular quanto axial. Incluem osteossarcoma, condrossarcoma, fibrossarcoma, hemangiossarcoma, tumor de células gigantes, lipossarcoma, osteossarcoma periosteal e parosteal, fibrossarcoma periosteal, osteomas, osteoma multilobular, condroma multilobular, osteocondroma e condroma (Schulz, 2008). Tumores ósseos em gatos são raros com incidência de 4.9%, sendo malignos entre 67 a 90%. Osteossarcoma é tumor ósseo primário mais comum em felinos, histologicamente é composto por células mesenquimais anaplásicas que produzem osteoide (Dernell y col., 2007); afeta gatos idosos com média de 10 anos de idade (Schulz, 2008). Quando localizados no esqueleto apendicular a amputação pode resultar método curativo, com sobrevivência de 24 ou até 44 meses. Quando localizado no esqueleto axial o prognóstico é pobre, principalmente pela dificuldade de ressecção (Bitetto y col., 1987). A probabilidade de apresentação de metástase em gatos é menor que em cães (Dernell y col., 2007), e a quimioterapia após remoção do tumor não apresenta vantagens quanto à sobrevivência (Turrel y Poll, 1982).

Remoção de segmento pélvico (hemipelvectomy) é indicado para tratamento de tumores ósseos ou de tecidos moles (Straw y col., 1992; Kra-

mer y col., 2008), trauma pélvico severo (Kramer y col., 2008), obstipação (Liptak, 1998), e má união (Alexander y Carb, 1979).

Devido à escassa literatura referente aos cuidados pré e pós operatórios em hemipelvectomy de gatos, decidiu-se relatar caso clínico-cirúrgico de paciente felino submetido ao procedimento de hemipelvectomy unilateral total após diagnóstico de osteossarcoma apendicular, assim como as complicações no pós operatório.

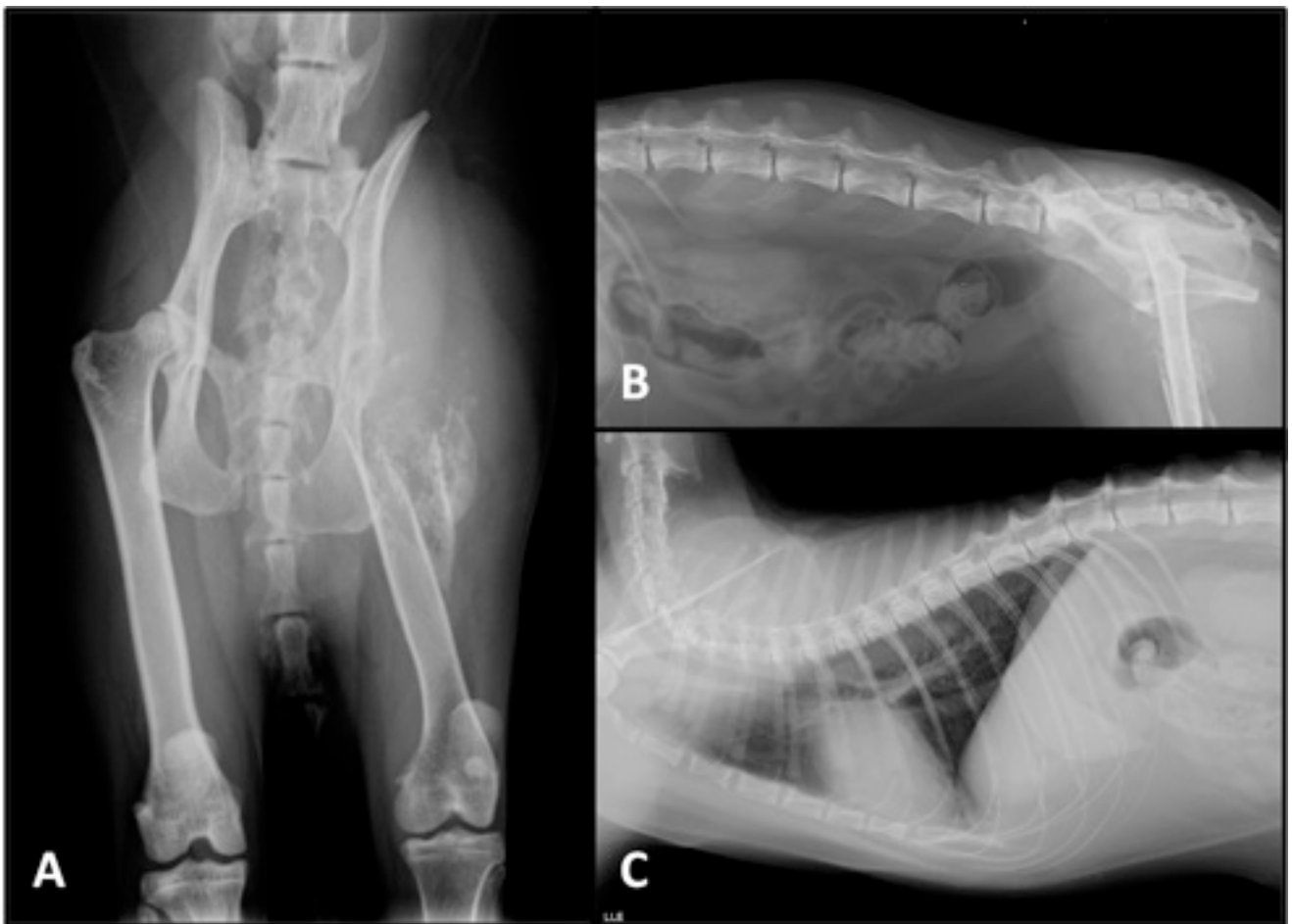
### Caso clínico

No começo do mês de dezembro de 2012 foi apresentado na consulta do Laboratório de Ortopedia e Traumatologia Comparada, do Hospital Veterinário da Universidade de São Paulo, felino, macho, nove anos de idade e 5,5 kg de peso, com impotência funcional do membro pélvico esquerdo. Há 12 meses o paciente havia começado com claudicação, e na época, foi levado a consulta em clínica particular e diagnosticado displasia coxo-femoral; como tratamento foi realizado colofalectomia esquerda. A cabeça e colo femoral foram enviados para exame histopatológico com resultado de osteossarcoma com moderado grau de diferenciação. A proprietária recebeu orientação de observar a evolução do quadro clínico, e administrar condroprotetor (Artrin<sup>®</sup>, Laboratório Brouwer, Buenos Aires – BA, Argentina) (1/2 comprimido por dia até novas recomendações).

Como resultado deste procedimento cirúrgico o paciente apresentou piora na claudicação do membro pélvico esquerdo e aumento de volume de tecidos moles. No momento da consulta o paciente deambulava com claudicação grave, na palpação da articulação coxo-femoral manifestava-se dor, se evidenciando um grande aumento de volume, de consistência firme com aumento de temperatura local, além de mobilidade anormal em região do fêmur proximal. Foi realizado estudo radiográfico, e exames laboratoriais (He-

mograma completo, Plaquetas, Função renal e Função hepática).

Como resultado radiográfico evidenciou-se fratura de fêmur esquerdo, acentuada destruição óssea com lise em colo e terço proximal do fêmur com discretas proliferações difusas e aumento de tecidos moles; junto a má definição do acetábulo, com reabsorção e proliferação periostal em corpo do íleo. Não foram evidenciadas metástases pulmonares (Figura 1). Os exames laboratoriais não apresentaram nenhuma alteração.



**Figura 1.** - Estudo radiográfico evidenciando A e B – fratura de fêmur esquerdo com lise do colo femoral, na projeção crânio-caudal e látero-lateral; C – imagem radiográfica do tórax sem evidências de metástases pulmonares.

Baseado no resultado radiográfico e o laudo histopatológico externo confirmando osteosarcoma decidiu-se realizar hemipelvectomy unilateral total esquerda.

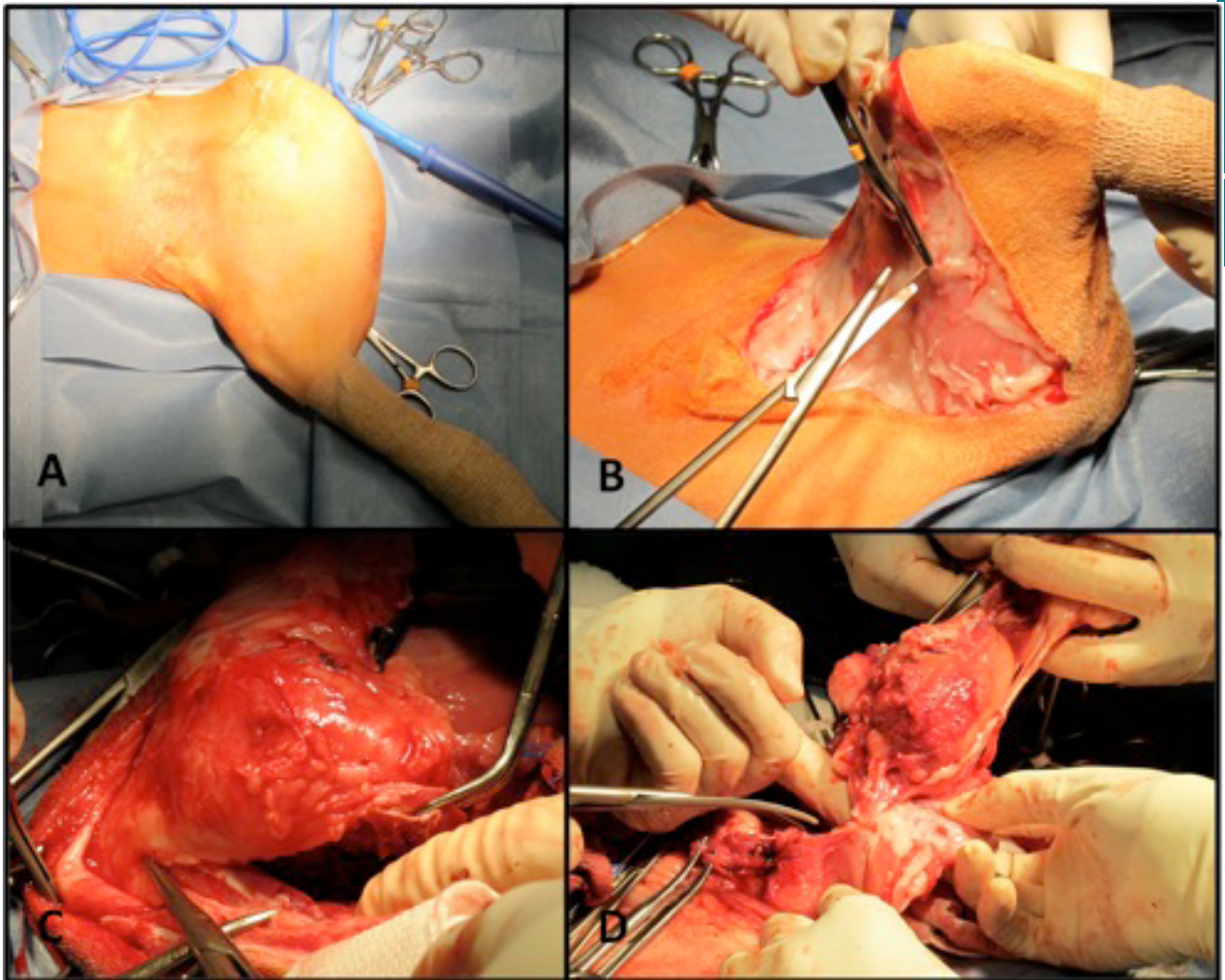
### Procedimento anestésico

Após avaliação e exame físico do animal, optou-se por utilizar como medicação pré-anestésica a associação de metadona (Mytedon, Cristália, São Paulo, SP) (0,3mg/kg), midazolam (Dormire, Cristália, São Paulo, SP) (0,3mg/kg) e cetamina (Quetamina, Vetnil, Louveira, SP) (1,0mg/kg) pela via intramuscular. Passados 20 minutos da aplicação, foi administrado propofol (Propovan, Cristália, São Paulo, SP) intravenoso para indução anestésica, quando o animal apresentou relaxamento adequado foi intubado com sonda orotraqueal e mantido sob anestesia com isoflurano (Isofluorine, Cristália, São Paulo, SP) em 100% de oxigênio em circuito com reinalação. A frequência e ritmo cardíacos, pressão arterial invasiva (PAi) e saturação de oxigênio foram monitorados de maneira contínua durante todo o período transoperatório por meio de monitor multiparamétrico (Dixtal). Além disso, a pressão parcial de CO<sub>2</sub> no ar expirado (ETCO<sub>2</sub>), bem como as frações inspiradas e expiradas de isoflurano foram acompanhadas através do aparelho de capnografia (Capnógrafo). Já o hematócrito

(Ht) foi realizado em intervalos de 30 minutos.

Após estabilização do plano anestésico, foi realizada anestesia peridural, entre as vértebras L7-S1, pois a região sacrococcígea estava comprometida pelo tumor. Foi administrada a associação de bupivacaína (Cloridrato de bupivacaína, Hypofarma, Ribeirão das Neves, MG) (1mg/kg) e morfina (Dimorf, Cristália, São Paulo, SP) (0,1 mg/kg), totalizando o volume de 0,3 mL/kg. Além disso, durante o procedimento o cirurgião fez o bloqueio regional dos nervos com bupivacaína (1 mg/kg) previamente à secção (Figura 2).

No transoperatório, foi necessária a administração de atropina (Pasmorex, Isofarma, Eusébio, CE) (0,04mg/kg) devido a bradicardia intensa (30bpm) responsiva ao tratamento. Durante o transoperatório, verificou-se queda da PAi (50 mmHg) que foi inicialmente tratada com efedrina (Efedrin, Cristália, São Paulo, SP) em bolus (0,1mg/kg); não sendo efetiva (PAi 30 mmHg), iniciou-se infusão de dopamina (Dopacris, Cristália, São Paulo, SP) (10mcg/kg/min) associada a solução hipertônica 7,5% (4ml/kg) em 10 minutos. Em seguida, iniciou-se infusão de colóide (Voluven, amido hidroxietílico 130/0,4, Fresenius Kabi, Barueri, SP) (20mg/kg). Neste momento, o Ht era 12%, estabelecendo-se imediatamente a transfusão de sangue total. Ao final do



**Figura 2.** -- Procedimento cirúrgico, A – aumento de volume na região proximal do fêmur esquerdo, B – incisão elíptica desde a asa do ílio até a tuberosidade isquiática se estendendo na região medial, C – ressecção tumoral tomando cuidado de não perfurar a cápsula tumoral, D – dissecação profunda evitando a lesão de reto e uretra.

procedimento, administrou-se dipirona (Analges V, Agener União, Embu-Guaçu, SP) (12,5mg/kg) e carprofeno (Rimadyl, Pfizer, São Paulo, SP) (2,2mg/kg) pela via intravenosa.

### Procedimento cirúrgico

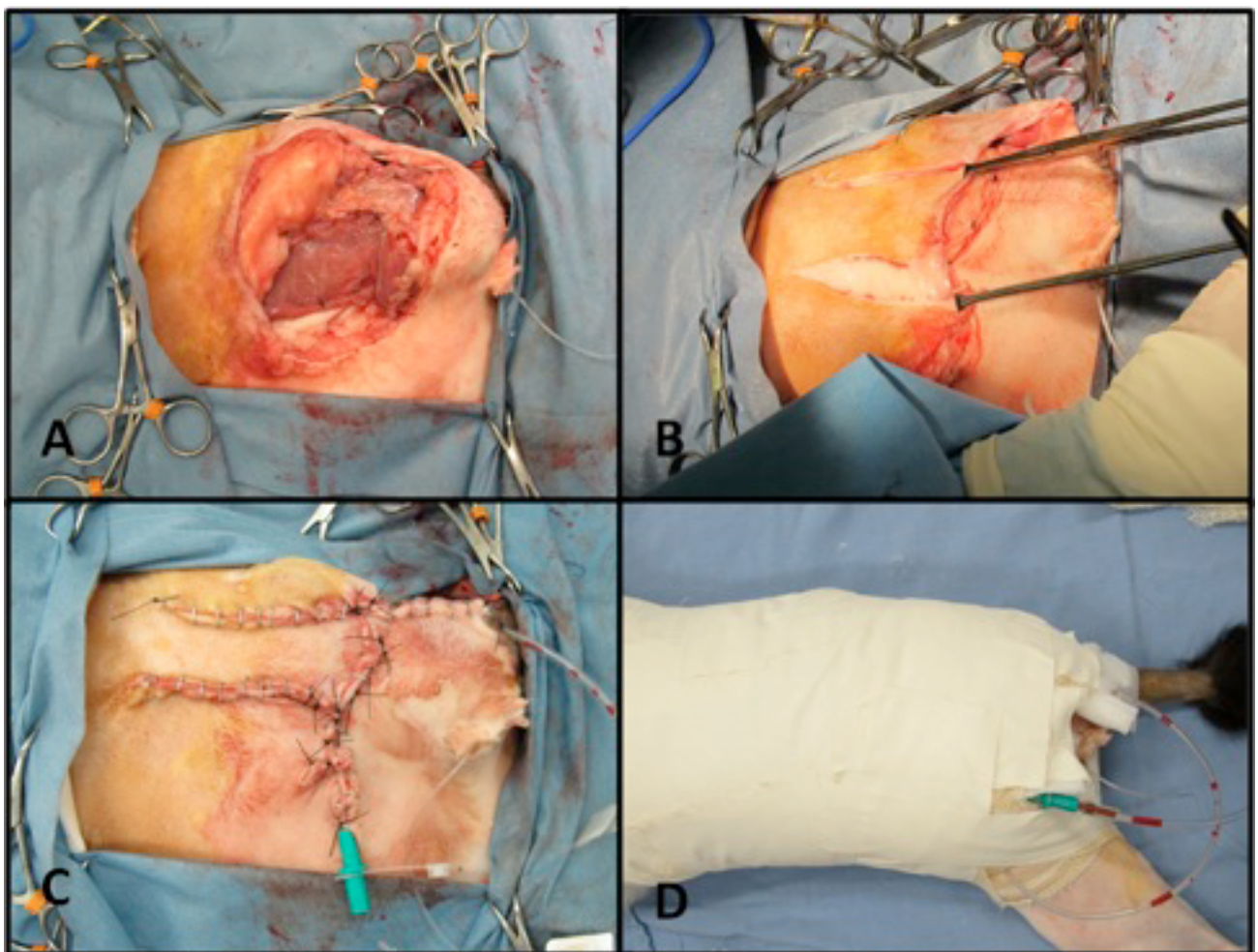
Após tricotomia da região caudal realizou-se antissepsia de forma rotineira do membro pélvico, região pélvica e abdominal. Colocou-se sutura

em bolsa de fumo, com o objetivo de evitar qualquer tipo de contaminação intra-operatória, e na sequência o paciente foi colocado em decúbito lateral direito. Realizou-se incisão dorsal que estendeu-se desde a asa do ílio até a tuberosidade isquiática, se continuando na região medial do membro pélvico. Foi realizada de forma delicada a divulsão da musculatura medial incluindo os músculos sartório caudal e cranial, pectíneo,

adutor, gracilis, continuou-se com divulsão lateral incluindo tensor da fascia lata, glúteos superficial e medio, grupo quadríceps, assim como semimembranoso e semitendíneo. No momento da dissecação dorso-lateral tomou-se especial cuidado de não perfurar a cápsula tumoral. Uma vez realizada a dissecação dos tecidos moles procedeu-se à desarticulação sacro-ílica, tendo especial cuidado de não expor órgãos abdominais. No momento da dissecação profunda evitou-se a lesão da uretra e reto, para tal fim foi colocada sonda

urinaria numero seis na uretra para facilitar a sua identificação.

O fechamento da musculatura realizou-se de forma delicada com pontos simples de náilon 2-0, tomando a precaução de não deixar espaço morto para evitar formação de seroma ou necrose muscular, o subcutâneo foi suturado com caproyl 2-0 e a pele com grampos cirúrgicos e pontos de náilon número 2-0. Realizou-se colocação de dreno e bandagem



**Figura 3.** Fechamento do defeito, A – aproximação muscular, B – plástica cutânea em H para fechamento do defeito sem tensão na sutura, C – colocação de grampos cirúrgicos, D – bandagem incluindo dreno para evitar formação de seromas.

### Cuidados pós-operatórios

Após o procedimento, o animal foi encaminhado à sala de recuperação anestésica, onde se observou que a analgesia foi efetiva, não sendo necessário resgate com outros fármacos.

Por tratar-se de procedimento de grande porte, o animal foi internado para acompanhamento pós-transfusional e administração dos fármacos analgésicos, dipirona (12,5 mg/kg TID) e carprofeno (2,2 mg/kg SID) prescritos por 6 dias e tramadol (Cloridrato de Tramadol, Hypofarma, Ribeirão das Neves, MG) (3mg/kg TID) por 15 dias. As trocas de curativos foram realizadas a cada 24 h. Para tal fim o paciente permaneceu internado no Serviço Intensivo de Monitorização do Hospital Veterinário da USP.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 48 horas de pós-operatório, o animal apresentou-se pálido e prostrado, constatou-se que o Ht estava em 11%. Contudo como o animal não apresentava sangramento ativo, suspeitou-se de queda nos níveis de fósforo, o que foi confirmado após dosagem (2,07 mg/dL). Foi realizada reposição de fósforo em 24 horas, conforme recomendações da literatura. Realizou-se mais

uma transfusão de sangue total e deu-se início à nutrição enteral por sonda esofágica. Após quatro dias, os valores de fósforo foram restabelecidos (3,42mg/dL) e o Ht manteve-se em 29%. Segundo Giger (2005) a hipofosfatemia pode levar à anemia hemolítica, miopatia, disfunção cardíaca e disfunção neurológica. Experimentalmente, a anemia hemolítica aparece em casos com fósforo sérico abaixo de 1mg/dL, no entanto, na prática encontram-se relatos de animais apresentando sintomas com fósforo sérico abaixo de 2,5 mg/dL, valor este que coincide com o paciente operado. O mesmo autor orienta reposição oral ou parenteral deste elemento, o que foi realizado de forma parenteral, com posterior melhora do quadro clínico do paciente. A reposição parenteral deve ser feita com bastante cuidado pois pode levar à hipocalcemia, além de insuficiência renal e calcificação distrófica de tecidos moles, que deve ser corrigida com a parada imediata da infusão e início do tratamento com gluconato de cálcio, complicações estas que não foram apresentadas após reposição parenteral.

Nos primeiros dias do pós operatório imediato o paciente não se alimentou espontaneamente pelo que foi necessária colocação de sonda esofágica, mantida durante 21 dias.

A hemipelvectomy é considerada técnica cirúr-

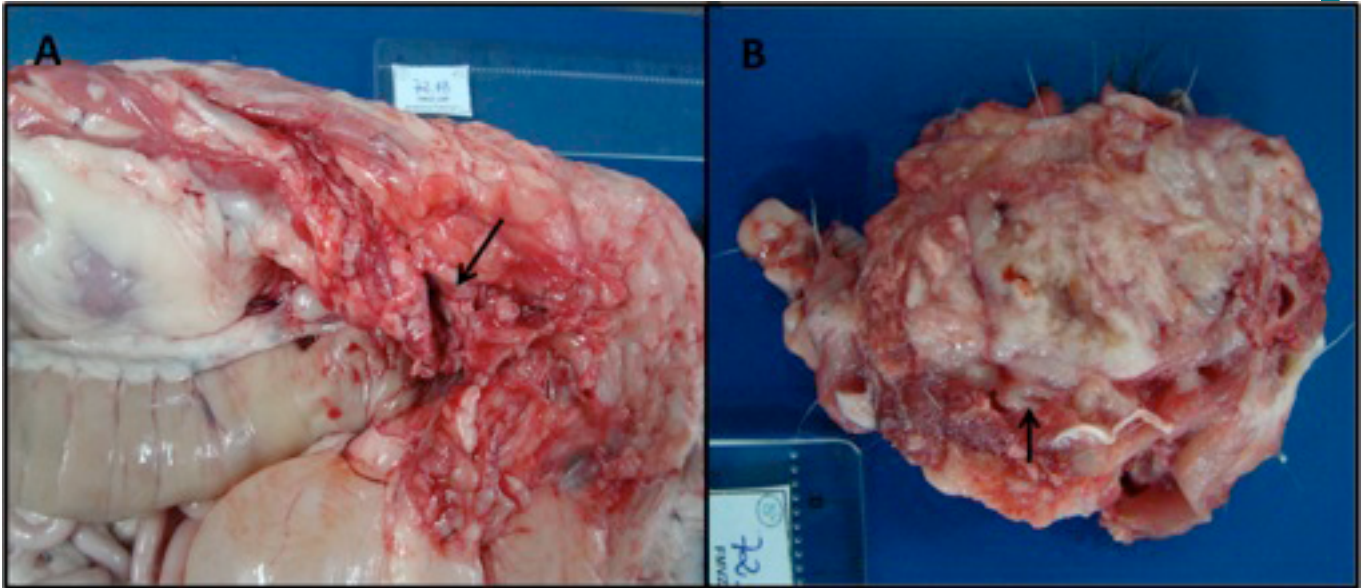
gica agressiva e necessária em vários casos segundo relatado por Straw y col. (1992); Kramer y col. (2008), Liptak (1998) e Alexander e Carb (1979). No caso em questão devido ao diagnóstico histopatológico e a reação periosteal acometendo acetábulo e corpo do íleo, foi a única opção terapêutica para o paciente.

Segundo o mencionado por Kramer y col. (2008) conhecimento anatômico da região é fundamental para o bom sucesso do procedimento cirúrgico, deste modo, foi recomendado o cirurgião mais experiente do Hospital Veterinário da USP, com experiência em outros procedimentos similares.

Potenciais complicações desta técnica cirúrgica relatadas por Kramer; Walsh e Seguin (2008) incluem hemorragia, hematomas, deiscência de pontos, hérnia, seroma, infecção, úlceras por pressão, trauma uretral e retal assim como recorrência do tumor. O paciente no dia 21 do pós-operatório apresentou deiscência de ferida região isquiática de dimensões 7 x 4 cm, que foi tratada de forma conservativa com lavados diários com solução fisiológica e sabão antisséptico, com posterior bandagem seco-úmido. Esta lesão foi relatada por Kramer; Walsh; Seguin, (2008) como consequência de necrose por pressão sobre as bordas salientes do coto isquiático, lesão esta evitada com uma boa cobertura de tecidos moles no encerramento

da cirurgia. A lesão isquiática cicatrizou com 30 dias após início do tratamento. O paciente continuou se alimentando normalmente e mantendo atividades físicas normais. Sessenta e cinco dias de pós-operatório o animal começou com dificuldade para defecar apresentando-se novamente à consulta, na palpação retal evidencia-se massa retal dorsal de aproximadamente 3 cm de diâmetro. Na avaliação radiográfica do tórax evidenciou-se pequeno nódulo de radiopacidade aguda medindo cerca de 0,5 cm de diâmetro em campo pulmonar caudal esquerdo, sem alterações em topografia dos linfonodos intratorácicos e espaço pleural. Foram realizados enemas, mas, uma semana depois o proprietário decidiu realizar eutanásia pelo mau estado geral do animal. Na necropsia observou-se massa neoplásica aderida aos processos transversos desde segunda vertebra caudal até a sexta vértebra lombar, a qual apresentava superfície irregular, multilobulada, consistência firme ao corte e coloração que variava de esbranquiçado ao acastanhado com áreas avermelhadas e enegrecidas (necrose). Notou-se que a massa neoplásica comprimia parte de cólon distal (Figura 4). O estudo microscópico confirmou a presença de osteossarcoma osteoblástico.





**Figura 4.** A, observe-se massa neoplásica comprimindo parte de cólon distal (seta), B, massa com áreas de necrose

A falta de associação de tratamento quimioterápico baseou-se em resultados de pesquisas anteriores que demonstram que em gatos não são conhecidos efeitos benéficos de terapias adjuvantes e que a média de sobrevida mesmo sem adjuvantes é de 22 a 44 meses, segundo o mencionado por Dernell y col. (2007) e Turrell & Poll (1982).

Contudo a sobrevida do paciente após o primeiro diagnóstico de osteosarcoma foi de 15 meses, período inferior abaixo do mencionado por Dernell y col. (2007) e Turrell & Poll (1982), isto poderia se relacionar ao fato de ter sido realizado procedimento cirúrgico de colocefalectomia na região tumoral, implicando em posterior crescimento rápido do tumor.

## REFERÊNCIAS

1. Schulz K. (2008). Outras doenças dos ossos e articulações. In: FOSSUM, T. W. (Ed.). Cirurgia de pequenos animais. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p. 1333-1356.
2. Dernell W S, Ehrhart NP, Straw RC, Vail DM. (2007). Tumors of the skeletal system. In: Withrow S J, Vail DM. (Ed.). Small animal clinical oncology. 4 ed. Canadá: Saunders, 2007. p. 540-582.
3. Straw RC, Withrow SJ, Powers BE. (1992). Partial or Total Hemipelvectomy in the Management of Sarcomas in Nine Dogs and Two Cats. *Vet Surg* 21:183-188.

4. Kramer A, Walsh PJ. (2008). Seguin, B. Hemipelvectomy in dogs and cats: technique overview, variations, and description. *Vet Surg* 37:413-419.
5. Liptak J M. (1998). Hemipelvectomy for the treatment of obstipation secondary to narrowing of the pelvic canal in a cat. *Aust Vet Pract* 28:2-6.
6. Alexander JW, Carb AV. (1979). Subtotal hemipelvectomy in the dog. *J Vet Orthop* 1:9-14.
7. Bitetto WV, Patnaik AK, Schrader SC, Mooney SC. (1987). Osteosarcoma in cats: 22 cases (1974-1984). *JAVMA* 190:91-93.
8. Turrel JM, Poll RR. (1982). Primary bone tumors in the cat: a retrospective study of 15 cats and literature review. *Vet Radiol* 23:152-166.
9. Giger U. (2005). Regenerative anemia caused by blood loss or hemolysis. In: Ettinger SJ; Feldman EC. (Eds.). *Veterinary Internal Medicine*. 6 ed. St. Louis: Elsevier Saunders, p. 1886-1907.

## Instrucciones para los autores

Veterinaria (Montevideo) tiene un sistema de arbitraje externo (peer review) ciego simple. Todos los trabajos recibidos son enviados a dos árbitros de reconocida experiencia en el tema.

Los trabajos recibidos que incluyan experimentación animal, deberán detallar claramente su ajuste a las normas internacionales de ética, así como una declaración que el mismo ha sido elaborado respetando las recomendaciones internacionales sobre investigación clínica (declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, revisión 1996) o, si fuera el caso, sobre investigación con animales de laboratorio.

### Normas Generales

Los trabajos se enviarán exclusivamente por correo electrónico a: [editor@revistasmvu.com.uy](mailto:editor@revistasmvu.com.uy)

Se aceptan artículos en portugués o inglés, los cuales deben incluir un resumen en inglés y español. El texto debe ser en formato "DOC" o "RTF" y no deberá exceder de 25 páginas tamaño A4 (incluidas referencias), con margen de 2,5 cm a cada lado, de preferencia en letra Times New Roman y con caracteres de 12 puntos, con interlineado doble y numeración continua de líneas.

Los cuadros (se recomienda usar la palabra cuadro y no tabla) y figuras (se recomienda usar la palabra figura y no gráfica) deben ir al final del manuscrito (cada una en hoja aparte). Las leyendas de los cuadros van arriba de los mismos y deben ser autoexplicativas. Las leyendas de las figuras también deben ser autoexplicativas y van aparte de las mismas, en una hoja a continuación de la bibliografía y antes de los cuadros y figuras. Los cuadros deben ser

simples, con líneas horizontales de color negro. En las figuras (cuando corresponda) utilizar tramas en blanco y negro y no en colores.

Se incluirán fotografías o impresiones pueden ser en color o en blanco y negro (con 300 dpi de resolución como mínimo), en un máximo de cinco que serán adjuntadas al original, con leyenda en hoja aparte. El autor principal o de correspondencia deberá enviar una nota firmada por él y los demás autores por correo electrónico o por fax (2409 9458) indicando dirección postal completa, teléfono, fax y correo electrónico, dejando establecido que se responsabilizan del contenido del trabajo y que el mismo no se ha publicado ni se ha remitido simultáneamente a ninguna otra publicación periódica. También deberá indicar el tipo de trabajo (Científico o Técnico). Se aceptarán trabajos que hubieran sido publicados como resúmenes en congresos, simposios o jornadas.

Los trabajos recibidos serán leídos por el Editor Jefe, quien designará dos árbitros para su evaluación, pudiendo darle los destinos siguientes: aceptarlos, devolverlos a los autores para su adecuación o rechazarlos.

Sin perjuicio de la solicitud del autor, el Editor Jefe clasificará los manuscritos recibidos en:

- **Trabajo Científico:** artículo original, comunicación corta (reporte o caso clínico), revisión.
- **Trabajo Técnico o de Difusión o Nota Técnica:** (práctica veterinaria, diagnóstico, tecnológico, conferencia).
- **Comunicaciones cortas:** no deberán exceder las 12 páginas.
- **Reportes de casos clínicos:** no deberán exceder las 10 páginas.

Los trabajos aceptados para publicación pasan a ser propiedad intelectual de la SMVU quedando los derechos de publicación del trabajo a su cargo. Las reproducciones parciales o totales sólo pueden realizarse con la autorización escrita del editor. Una vez publicados, los autores recibirán 10 separatas.

## 1. TRABAJOS CIENTÍFICOS

Es una publicación que describe resultados originales que contiene suficiente información como para que otro investigador pueda: evaluar las observaciones, repetir los experimentos y comprobar las conclusiones. Un artículo original requiere rigor científico, expresado con lógica, claridad y precisión, con una extensión en función de los resultados y respaldado por citas bibliográficas imprescindibles. Existirá un arbitraje de estos trabajos que serán evaluados por especialistas en el tema, nacionales y/o internacionales y que tengan una trayectoria reconocida, dada por sus antecedentes de publicaciones en revistas arbitradas de primer nivel. Las revisiones que tengan un análisis crítico por parte del autor e incluyen experiencia propia se consideran trabajos científicos.

## 2. TRABAJOS TÉCNICOS

Son aquellos trabajos que no cumplen con las normas de trabajos científicos originales pero que su contenido es de un interés o seriedad tal que merece su publicación. El Editor Jefe evaluará el trabajo y lo clasificará según su contenido en: Prácticas Veterinarias, Caso Clínico, Diagnóstico, Tecnológico, Conferencia, Educación, u otro según corresponda. Estos trabajos serán evaluados por dos árbitros con reconocida experiencia en el tema.

## Normas de redacción para Artículos Originales

Contendrán los siguientes elementos:

**Título:** Será breve y claro, reflejando exactamente lo que el trabajo contiene. Escrito en minúsculas. Se debe incluir el título en inglés a continuación del título en español.

**Nombre de Autores:** Apellido Inicial del nombre, otro/s nombres ejemplo: Vidal L.1, Gómez, J.2\*

**Dirección:** (en pie de página):

Ejemplo: 1Departamento de Bovinos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Suipacha 698, Buenos Aires, Argentina; 2 Departamento de Bovinos, Facultad de Veterinaria, UdelaR. Se detallará solamente la dirección postal completa del autor responsable o de correspondencia, para los demás autores solamente el nombre de la institución. \*Autor para correspondencia (incluir correo electrónico).

## RESUMEN

Dará una idea clara y precisa del contenido del artículo, conteniendo: objetivos, metodología, resultados, conclusión. No debe exceder las 250 palabras, escrito en español y en un sólo párrafo luego del encabezado del título y los autores. Debe estar escrito en tiempo pasado. A continuación se incluyen las Palabras clave (máximo cinco).

**Summary:** Es la traducción al Inglés del Resumen. Incluir keywords.

**Resumo:** Para artículos en portugués. Incluir Palavras-chave.

## INTRODUCCIÓN

Debe ser concisa, pero los autores deben suministrar antecedentes suficientes sobre el tema para que el lector no deba recurrir a otras publicaciones anteriores y para que comprenda la importancia o trascendencia de la investigación que se comunica. Deben referirse al contexto internacional y nacional, eligiendo las informaciones más recientes y más relevantes. Se recomienda evitar una revisión excesivamente detallada de la literatura o un mero resumen de los resultados obtenidos por otros autores. En lugar de esto, se deben dar los fundamentos científicos del estudio y definir claramente las hipótesis de trabajo, a fin de justificar la importancia del artículo. En el último párrafo deben precisarse los objetivos del trabajo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los autores deben dar suficientes detalles para que otro investigador pueda repetir los experimentos. Debe estar escrito en tiempo pasado y en tercera persona del singular o plural según corresponda. Describir claramente el diseño experimental así como los animales utilizados, su número, especie, género, raza, edad. Mencionar los reactivos, drogas o medicamentos por su nombre genérico o químico o por marcas comerciales patentadas. Los métodos y procedimientos deben ser bibliográficamente referenciados detallando las posibles modificaciones de las técnicas. Deben precisarse con claridad, tiempos, temperaturas, etc. En caso de procedimientos con animales, se debe mencionar si los mismos fueron realizados de acuerdo a las normas de la autoridad competente (CHEA, etc.). Los métodos de los análisis estadísticos deben plantearse claramente, incluyendo los efectos considerados, las observaciones y unidad/es experimental/es. Se sugiere incluir los modelos utilizados. Deberán indicarse los niveles de probabilidad utilizados para declarar diferencias significativas y/o tendencias.

## RESULTADOS

La descripción de los resultados obtenidos debe presentarse con claridad y en la forma más concisa posible. Primeramente hacer una descripción general de los mismos y luego pueden describirse en cuadros o figuras los datos de los experimentos. No deben presentarse datos repetidos o demasiado extensos. Deben usarse medidas del sistema métrico decimal u otras medidas convencionales. En todos los resultados debe señalarse el nivel de significación. Debe estar escrito en tiempo pasado y en tercera persona del singular o plural según corresponda.

## DISCUSIÓN

La discusión consiste en la búsqueda de una explicación de los resultados obtenidos, para lo cual se recurre a la comparación con datos de la literatura. Debe evitarse la repetición de los resultados en este ítem. Deben mostrarse las relaciones entre los hechos observados, con las hipótesis del propio experimento y/o con las teorías, resultados o conclusiones de otros autores. Formule las conclusiones en forma clara. Deben aplicarse las referencias bibliográficas al experimento y no abundar en detalles no estudiados. Deben exponerse la significación de los resultados y evitar las repeticiones. Escrito en tiempo pasado en tercera persona del singular o plural según corresponda.

## CONCLUSIONES

Las conclusiones deben ser claras, concisas y precisas y deben reflejar los datos presentados en función de las hipótesis y los objetivos planteados. Se deben resumir y globalizar las conclusiones parciales que se obtuvieren de diferentes resultados del trabajo. Evitar las conclusiones demasiado generales. Debe existir una total coherencia entre los objetivos, los resultados y las conclusiones, pudiendo incluirse en este ítem recomendaciones o implicancias del trabajo.

## AGRADECIMIENTOS

Deberá constar el nombre de las personas y la institución a la que pertenecen haciendo mención al motivo del agradecimiento. Debe ser escrito en forma concisa y hacer referencia a materiales o equipos y al apoyo financiero.

## BIBLIOGRAFÍA

**En el texto:** el autor o autores (si son dos), el apellido de cada uno separados por “y”, seguido de coma y el año de publicación (Ejemplo: González y Rodríguez, 2005). Si son más de tres autores se usará la forma “y col.”, seguida del año de publicación (Ejemplo: (Riet-Correa y col., 1984). En los casos en que se referencie más de una cita, se ordenarán alfabéticamente y se separarán por punto y coma. Las citas que se utilicen como respaldo no deberían ser más de cuatro para cada contenido.

**En la Bibliografía:** debe ponerse especial atención al texto de las referencias bibliográficas, no se aceptarán trabajos mal referenciados. Las referencias deben colocarse en orden alfabético de autores, numerando las obras citadas y consultadas en el texto. Deberán citarse de la siguiente manera: Apellido seguido un espacio y luego la(s) inicial(es) seguida(s) de coma. Ej.: González R. Si hubiera varios autores deben separarse entre sí por una coma (.). A continuación, se colocará el año de la publicación entre paréntesis. Ejemplo: González R, López A. (1989). Más de una referencia del mismo autor se ordenará en orden cronológico decreciente. Después del año se escribirá el título del artículo terminado en punto.

**Las revistas científicas:** serán citadas según las abreviaturas convencionales, ej.: Am J Vet Res (sin punto en las abreviaturas), seguido por el volumen y los números de páginas precedidos por dos puntos. Ejemplo: Dobson JM, Samuel S, Milstein H, Rogers K, Wood JL. (2002). Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. J Small Anim Pract 43:240-246.

**En el caso de la cita de libros:** se indicará Autores (Año) Título, número de edición (salvo la primera), ciudad de edición, Editorial, cantidad de páginas del libro. Ejemplo: Rosemberger G. (1983). Enfermedades de los bovinos. 2a. ed. Berlín, Ed. Paul Parey 577 p.

**En el caso de la cita de capítulo de libros:** se indicará Autores (Año) Título del capítulo, En: Autores (editores) del libro, Título del libro, Edición, Lugar de edición, Editor, Páginas inicial y final del capítulo precedido por pp y entre guión. Ejemplo: Dirksen G. (1983). Enfermedades del aparato digestivo. En: Rosemberger G. Enfermedades de los bovinos. 2a. ed. Berlín, Ed. Paul Parey pp. 235-242. En la cita de congresos: Autores (Año) Título del artículo. Nombre del congreso. Número ordinal del congreso, Ciudad, País, páginas.

**En la cita de una tesis:** Autores (Año) Título de la tesis. Tipo de tesis (ej.: doctor veterinario), Institución, Ciudad, País.

## CUADROS

Los cuadros deben tener un número de identificación correlativo que figurará en el texto y contendrán un texto de título en la parte superior. La leyenda debe situarse encima del cuadro y debe ser autoexplicativa. Los cuadros deben ser simples, sin líneas verticales y líneas horizontales separando título de las columnas de datos y en color negro. Las referencias o símbolos de los cuadros se presentarán al pie del mismo en letra de tamaño 10 puntos. Ejemplo: Cuadro I. Variación de la temperatura en función del tiempo., Ejemplo de pie de cuadro: T = temperatura, t = tiempo (en minutos). Si el cuadro no es original, citar la fuente (Autor y año) en pie de página.

## FIGURAS

Las figuras deben tener un número de identificación correlativo que corresponda con el texto y contener un texto de definición del contenido, con leyendas y definición de los símbolos utilizados. Las leyendas deben ser autoexplicativas y se situarán en hoja aparte de las figuras, a continuación de la bibliografía y antes de cuadros y figuras. En histogramas o gráficas de líneas usar sólo el blanco y negro y diferenciar barras con diferentes tramas y líneas punteadas, sólidas, etc. Si la figura no es original, citar la fuente (Autor y año) en pie de página.

Los cuadros y figuras deben ser enviados en blanco y negro. En lo posible en formato Openoffice o MSOffice o RTF.

---

## FOTOS

Las fotografías deben limitarse al mínimo indispensable y deben contener una escala de referencia. Deben tener un número de identificación correlativo que corresponda con el texto y contener un texto de definición del contenido en la parte inferior, con leyendas y definición de los símbolos utilizados. Si la fotografía no es original, citar la fuente (Autor y año) en pie de página. La SMVU podrá cobrar a los autores por la inclusión de material fotográfico.