

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE CIENCIAS CLINICAS**

**GRADOS DE CLAUDICACIÓN, UMBRALES NOCICEPTIVOS, VALORES DE
HAPTOGLOBINA Y VARIABLES FISIOLÓGICAS EN VACAS COJAS DE
LECHERÍA.**

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

CLAUDIA ANDREA TEJEDA BARRIENTOS

VALDIVIA – CHILE

2006

PROFESOR PATROCINANTE

Dr. Néstor Tadich B.

Nombre

Firma

PROFESORES CALIFICADORES

Dr. Roberto Ihl B.

Nombre

Firma

Dr. Marcelo Gómez J.

Nombre

Firma

FECHA DE APROBACIÓN:

Valdivia, 23 de Junio de 2006.

**A mis queridos padres
y hermano.**

ÍNDICE

Capítulo	Página
1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	17
5. RESULTADOS.....	21
6. DISCUSIÓN.....	24
7. BIBLIOGRAFÍA.....	29
8. ANEXOS.....	38
9. AGRADECIMIENTOS.....	48

1. RESUMEN

Con el fin de determinar el grado de hiperalgesia, las concentraciones sanguíneas de haptoglobina y variables fisiológicas en vacas lecheras cojas, se realizó un estudio caso-control entre Mayo y Diciembre del 2005 en 7 lecherías de la provincia de Valdivia.

Las lecherías se visitaron en varias oportunidades de acuerdo al número de vacas cojas existentes. En cada visita se observó la locomoción de las vacas en ordeña, determinándose el grado de locomoción, el que se clasificó en una escala de 0 a 4, siendo 0 una vaca sana y 4 una cojera muy grave. Se observaron 127 vacas lecheras, de las cuales 83 fueron diagnosticadas con algún grado de claudicación. Las vacas seleccionadas fueron introducidas a un brete para su examen, durante el cual se determinó: temperatura, frecuencia respiratoria, frecuencia cardiaca, y se obtuvo una muestra de sangre con heparina. Posteriormente se evaluó el umbral nociceptivo a un estímulo mecánico y se identificó la lesión. Los datos obtenidos fueron registrados en una ficha y posteriormente ingresados a una planilla EXCEL y analizados por medio del programa estadístico SPSS 10.0. Se determinó si había diferencias significativas entre las vacas sanas y las cojas de acuerdo a su grado de claudicación, para cada variable medida. Para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre grupos, se utilizaron pruebas paramétricas, ANOVA de una vía o no paramétricas, Kruskal-Wallis.

Se observó que las vacas con cojeras grado 3 y 4 presentaron umbrales nociceptivos significativamente ($P < 0,001$) más bajos que las vacas con grado 0 y 1 de locomoción. Los valores plasmáticos de haptoglobina aumentaron a medida que aumentó el grado de claudicación, encontrándose diferencias significativas ($P < 0,001$) entre las vacas con grado 4 y grado 0, 1 y 2; y entre vacas grado 3 y grado 0 y 1. Al evaluar la temperatura, sólo se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los grupos con grado 2 y 4 de claudicación. En relación a la frecuencia cardiaca sólo el grupo con grado 4 de claudicación, mostró diferencias significativas ($P < 0,001$) con respecto a los otros grupos, mientras que no existieron diferencias significativas ($P > 0,05$) en la frecuencia respiratoria entre los distintos grupos.

Este estudio permite concluir que las vacas con claudicaciones más severas, presentan umbrales de respuesta más bajo a un estímulo nociceptivo mecánico. La haptoglobina demostró ser un buen indicador de la inflamación producida por los distintos grados de cojera, y que los distintos grados de cojera no tuvieron un efecto significativo sobre las variables fisiológicas estudiadas.

Palabras claves: vacas lecheras, hiperalgesia, haptoglobina, frecuencias fisiológicas.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1040176

2. SUMMARY

LOCOMOTION SCORES, NOCICEPTIVE THRESHOLDS, HAPTOGLOBIN CONCENTRATIONS AND PHYSIOLOGICAL PARAMETERS IN LAME DAIRY COWS

With the aim to determine the degree of hyperalgesia, blood concentrations of haptoglobin and physiological variables in lame dairy cows, a case-control study was carried out in 7 dairy farms from the province of Valdivia Chile, from May to December 2005.

The farms were visited in several occasions according to the number of lame cows present. In each visit the locomotion of all the milking cows at the time of the visit was observed walking, and the degree of lameness was scored from 0 (sound) to 4 (very lame). A total of 127 dairy cows were observed, 83 of them were diagnosed with some degree of lameness. The selected cows were introduced for examination in a contention crush. At each examination the cow's heart rate, respiratory rate and temperature were assessed and a blood sample was obtained. Finally their mechanical nociceptive threshold was measured and the hind limbs were examined to identify the lesions. Data were recorded manually and then were introduced in an EXCEL data sheet and analysed using the statistical program SPSS 10.0. To determine if there were statically significant differences between groups, a parametric test, one way ANOVA or non parametric, Kruskal-Wallis test, were used.

It was found that lame cows with locomotion score 3 and 4 have a significantly lower ($P<0.001$) nociceptive threshold as compared to the sound animals and with score 1. Plasma haptoglobin concentration increased with the severity of lameness, showing significantly differences ($P<0.001$) between locomotion score 4 and score 0, 1 y 2; and between locomotion score 3 and score 0 and 1. The temperature values were found significantly different ($P<0.05$), between cows with locomotion score 2 and 4. In relation to the heart rate only cows with score 4 shown statically significant differences ($P<0.001$) when compared to the rest of the animals, whereas no significant relationship was found between lameness scores of all groups and respiratory rate ($P>0.05$).

This study allows to conclude that, the lame cows more severely affected have lower nociceptive thresholds to a nociceptive stimulus, haptoglobin show to be a good indicator of inflammation produced for the different scores of lameness, and that the different lameness scores did not have a clear effect on the physiological parameters studied.

Key words: Dairy cows, hyperalgesia, haptoglobin, physiological parameters.

Funded by project FONDECYT 1040176

3. INTRODUCCION

3.1. CLAUDICACIONES Y BIENESTAR ANIMAL

De acuerdo a la información entregada por el Censo Agropecuario de 1997, la población bovina en Chile es de 4.098.438 de cabezas, de las cuales 615 mil 924 corresponden a vacas lecheras; el 62% (378.853) de ellas se encuentran en la X Región, las que producen aproximadamente el 64% de la leche a nivel nacional (INE, 1997).

Las cojeras son un problema multifactorial, y dentro de los factores que contribuyen a su aparición están el manejo, las prácticas de alimentación, el medio ambiente, estado de lactancia y edad del animal, procesos infecciosos, la predisposición genética y el comportamiento tanto animal como humano (Vermunt 1992, Meyer y col 1998, Berry 1999). Estas afecciones son generalmente el resultado de la invasión de organismos infecciosos, lesiones del tejido córneo o una alteración de las estructuras internas (O'Callaghan 2002).

Se ha estimado, que en el 90% de los casos, las cojeras son causadas por inflamación o injuria de las partes distales del miembro (O'Callaghan 2002). El rango de las lesiones consideradas causas de cojeras es amplio y diverso, encontrándose no menos de 15 tipos diferentes de lesiones involucradas, de las cuales, las más comúnmente observadas son: la ulceración de la suela, enfermedad de la línea blanca, dermatitis digital y necrobacilosis interdigital entre otras (Murray y col 1996, Ley y col 1996, Whay y col 1998, Van der Tol y col 2002, Po'tzsch y col 2003). En relación a la ubicación de las lesiones se ha reportado que en la mayoría de los casos las enfermedades claudicógenas se ubican en los dedos y afectan a las patas traseras (Deppe 1982, Tranter y Morris 1991). Según Tadich y col (2005), las cuatro patologías más frecuentemente encontradas en las provincias de Valdivia, Osorno y Llanquihue, fueron: las deformaciones crónicas de la pezuña, seguida por lesiones de la línea blanca, lesiones de muralla y doble suela. Con respecto a la gravedad de las lesiones encontradas en este estudio, la mayor parte de las vacas presentaban claudicación grado 1. En relación a los miembros afectados, se encontró que en la mayoría de los casos (43,7%) estaba afectado el miembro posterior derecho. Según Whay y col (1997), una alta proporción de los casos de cojeras son observados dentro de los primeros 3 meses de lactancia, y son más frecuentes en vacas viejas que en vaquillas y vacas jóvenes. En vaquillas un episodio de cojera clínica o subclínica es de importancia, debido a que esto probablemente tendrá grandes efectos tanto en el bienestar como en la producción, a través de toda la vida productiva del animal.

En Europa se ha reportado que las cojeras representan el tercer problema más importante en lo que a salud animal se refiere, sólo superado por trastornos de fertilidad y mastitis (Po'tzsch y col 2003). El costo de tratamiento en una vaca afectada se ha estimado anualmente en aproximadamente US 240 o en £ 150, en relación a esto, las pérdidas en

rentabilidad ocurren debido al dolor y malestar del animal, tratamientos veterinarios, eliminación prematura de los animales, disminución en la eficiencia reproductiva y reducción en la producción láctea entre otras causas (Webster 2001a). Se ha reportado que el promedio total estimado en la reducción de la producción láctea por lactancia fue de 360 kg (Green y col 2002). Según Warnick y col (2001), las vacas cojas producen entre 0.5 - 1.5 kg menos de leche por día que vacas que no han sido diagnosticadas con cojera. Por lo demás, esta baja productividad ocurre antes del comienzo de los signos clínicos, y continúa después del diagnóstico y tratamiento de la patología (Green y col 2002, Po"tzsch y col 2003). Con relación al efecto de las claudicaciones en la reproducción, se ha reportado, que se genera una disminución en la presentación y precisión de la detección de los celos en las vacas lecheras (Sprecher y col 1997).

El hecho que el dolor es una de las causas de cojera en el ganado lechero, es un problema en el diagnóstico de esta condición, debido a la naturaleza estoica del bovino, que ha sido descrita como una estrategia de supervivencia que viene de su evolución con el fin de camuflar cualquier señal de dolor e incomodidad, para evitar la atención de los depredadores (O'Callaghan, 2002). Sin embargo, actualmente existen muchos métodos para la detección y medición de la severidad de las claudicaciones en las vacas lecheras, dentro de los cuales podemos mencionar: la inspección de la salud de las pezuñas y la observación directa del grado de locomoción de la vaca, los que han sido usados para identificar las cojeras en los animales individualmente, detectar la presencia y severidad de las injurias y observar el comportamiento de las vacas cojas (Manson y Leaver 1988, Sprecher y col 1997, Whay 2002). No obstante, las dos mediciones más comúnmente usadas para determinar claudicaciones dentro de un rebaño son la incidencia y prevalencia.

La incidencia y prevalencia de las cojeras, varía enormemente en los rebaños entre y dentro de los países (Clarkson y col 1996). En el Reino Unido se han publicado resultados de estudios que han revelado un promedio anual de incidencia de cojeras en vacas lecheras de 54,6% (rango de 11 - 170%), y una prevalencia de 21% (rango de 2 - 54%). Factores que contribuyen a estas discrepancias entre incidencias y prevalencias, pueden incluir diferencias en el manejo de las granjas y una mejora en los métodos para detectar las cojeras (Whitaker y col 2000). No obstante, estas cifras reflejan la magnitud del problema de cojeras que actualmente está siendo enfrentado por la industria lechera, y sugieren que el problema puede empeorar. (Whay y col 1997, Whay y col 1998, Whay y col 2003, Main y col 2003). Tadich y col (2005), señalan que alrededor de un 9% de las vacas lecheras presentan algún problema de claudicación en algún momento del año, por lo que se podría estimar que aproximadamente 34 mil vacas cursan con al menos un episodio de cojera al año en la Décima Región.

Las cojeras en el ganado bovino lechero son consideradas un serio problema a nivel mundial, ya que hay evidencia de que alteran la sensibilidad al dolor de las vacas, lo que claramente afecta la salud y el comportamiento de estos animales, siendo por esta razón un factor importante en la reducción del bienestar animal (Whay y col 1998, Winckler y Willen 2001, O'Callaghan 2002, Van der Tol y col 2002, Webster 2002, Po"tzsch y col 2003). El dolor parece influenciar tanto el comportamiento individual como social de los animales afectados, debido a que las vacas cojas disminuyen sus niveles de actividad diaria

(O'Callaghan y col 2002), pasando más tiempo echadas y menos tiempo comiendo (Galindo y Broom 2002). Además, las vacas cojas son más reacias a establecer interacciones sociales con otras vacas, y es más probable que estén sujetas a comportamientos agresivos por parte de vacas sanas (Galindo y Broom 2002). Es por estas razones, que en el Farm Animal Welfare Council (1997), se establece que el dolor experimentado por el ganado cojo tiene un impacto sustancial en el bienestar animal, indicando que la cojera es una condición en extremo dolorosa y que se debe reducir su incidencia en forma urgente (O'Callaghan 2002).

Existen muchas definiciones de bienestar animal, las que varían dependiendo de factores culturales, científicos, religiosos e incluso políticos (Swanson 1995, Terranova y Laviola 2004). Es por ello que el término puede significar diferentes cosas para distintas personas (Hewson 2003 a). Según la Organización Mundial de la Salud Animal (OIE) se define como el término que describe la manera en que los individuos se enfrentan con el medio ambiente y que incluye su salud, sus percepciones, su estado anímico y otros efectos positivos o negativos que influyen sobre los mecanismos físicos y psíquicos del animal (Rojas y col 2005).

Broom (2005), describe el bienestar animal como *“la capacidad que tienen los animales de adaptarse a su ambiente físico y social”*, y es el éxito o el fracaso en adaptarse, lo que puede llevar a enfermedad, injuria y muerte. Además, se asocia a estados mentales placenteros o poco placenteros tales como el miedo y la frustración. De acuerdo a lo anterior la capacidad de las vacas de vivir en armonía con su ambiente y con el resto de los animales en el rebaño, es fuertemente influenciada por el estado de salud de sus pezuñas y de la funcionalidad de su aparato locomotor (Somers y col 2003). Por otro lado Webster (2001b), señala que *“el bienestar de un animal es determinado por su capacidad de mantenerse sano y libre de sufrimiento”*. La frase mantenerse sano, implica el bienestar físico; libre de enfermedad, injuria e incapacidad, problemas que pueden ser atribuidos a las condiciones en las cuales se crió al animal, mientras que la expresión evitar el sufrimiento, se refiere al bienestar mental, que se asocia a emociones de placer y sufrimiento como son las sensaciones de hambre, dolor y ansiedad.

No hay un método establecido para evaluar el bienestar animal, pero varios investigadores han sugerido que su aplicación requiere del conocimiento de la salud, producción animal, y del comportamiento típico de la especie (Hewson 2003 b).

Existen tres conceptos útiles que interactúan para dar una visión del bienestar animal, y pueden ser tomados para evaluar sus necesidades (Fig. 1). El primero considera el bienestar físico e incluye aspectos como, salud, enfermedad, heridas, mala nutrición y deshidratación, frecuentemente esto se relaciona con dolor, miedo y diestrés, lo que nos lleva al segundo concepto que es el bienestar emocional, el que es influenciado por la condición física del animal, así como, por su ambiente. El tercer componente es el comportamiento animal, el que es una contribución importante al estado psicológico de los animales (Whay y Pritchard 2004).

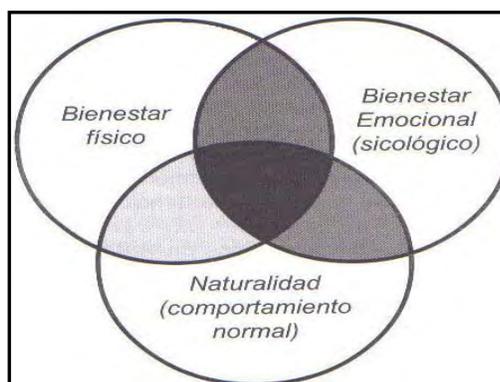


Figura 1. Interrelación de los tres conceptos de bienestar animal

Cada vez existe mayor preocupación por el bienestar animal a nivel mundial, principalmente en los países europeos, lo que ha llevado a la implementación de leyes, que buscan mejorar la calidad de vida de los animales (Briones 2004). Con los Tratados de Libre Comercio, se abre una conciencia mayor del público sobre el bienestar animal, es decir, el consumidor aparte de preocuparse por el costo, diversidad, calidad y seguridad, quiere que se le asegure que los productos que adquiere provienen de animales en los cuales ha habido un respeto por su bienestar (Wells y col 1998).

La creciente importancia que tienen hoy en día los asuntos de bienestar animal han aumentado el interés científico de definir qué es lo esencial para lograrlo (Rushen 1996). El impacto que pueden tener el estrés, el dolor y la angustia en el bienestar de los animales está bien documentado, y su reconocimiento es crítico para lograr el bienestar; sin embargo, esta tarea es difícil debido a la falta de acuerdos para definir estos términos, así como también a la ausencia de una medición objetiva y absoluta (Carstens y Moberg 2000).

3.2. DOLOR

Aunque han habido progresos en el conocimiento de la etiología y desarrollo de las podopatologías en el ganado bovino, la magnitud del dolor que un animal siente en estas situaciones es particularmente difícil de determinar por simple observación de las acciones o reacciones del animal (Torregrosa y Bugedo 1994, Frandson y Spurgeon 1995, Whay y col 1997), por lo que se sabe muy poco de cuánto sufren los animales durante un episodio de cojera (Rushen 1996, Whay y col 1997).

El dolor representa una estrategia adaptativa que permite proteger al organismo de las agresiones del medio externo (Gomezese y González 2001, Ortega y col 2002). Esta función se manifiesta al desencadenar reacciones, e inducir comportamientos de evitación, ya que la asociación del dolor al contacto con un determinado agente causal puede servir para alertar a otros individuos del peligro, con el objeto de reducir o evitar el daño, la probabilidad de recurrencia y promover su recuperación (Molony y Kent 1997, Ortega y col 2002).

El dolor es una percepción, por lo tanto, aunque podamos medir muchos de los componentes asociados a su generación y transmisión desde el sitio de la injuria hasta el cerebro, no podemos conocer las sensaciones de un animal ya que no nos las puede comunicar, solo podemos inferir una percepción animal al dolor sobre la base de descripciones y experiencias humanas (Rushen 1996, Carstens y Moberg 2000, Livingston 2002, Ortega y col 2002). Es por ello, que Zimmerman (1986), citado por (Ortega y col 2002), adoptó la definición de dolor de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP), para que pudiera ser aplicada a los animales. Así, el dolor en los animales sería: *“una experiencia sensorial aversiva causada por una lesión real o potencial que produce reacciones motoras y vegetativas progresivas, que desencadenan un comportamiento aprendido de evitación y puede modificar comportamientos específicos de la especie, incluyendo los sociales”*.

3.2.1. Tipos de dolor

El dolor animal se puede clasificar dependiendo de su curso temporal (agudo o crónico), de su localización (somático o visceral), y si este es fisiológico (nociceptivo) o clínico (inflamatorio o neuropático) (Muir y col 2001, Rivera 2001).

3.2.1.1. Dolor agudo. Es el más común, y el menos amenazador, posee una naturaleza fisiológica, y es la consecuencia inmediata de la activación de los sistemas nociceptivos por una noxa. Se debe a un daño somático o visceral producto de traumas, intervenciones quirúrgicas y algunas enfermedades (Gomezese y González 2001), y generalmente su curso sigue el proceso de reparación de la lesión, desapareciendo al sanar el tejido (Rivera 2001). El dolor agudo asociado a una enfermedad es una señal de alarma, que al limitar la actividad, previene un daño mayor y permite una pronta cicatrización. Por lo anterior, su manejo temprano puede evitar la subsecuente evolución a dolor crónico (Gomezese y González 2001). Además, puede o no estar asociado a reacciones de dolor, como son: la vocalización, el mecanismo de escape o ataque, sacudirse, etc., y a estímulos simpáticos como: aumento de la presión sanguínea y frecuencia cardíaca, piloerección, y dilatación pupilar (Molony y Kent 1997, Carstens y Moberg 2000).

3.2.1.2. Dolor Crónico. Este se puede definir como un dolor que no posee una función protectora, y más que un síntoma se considera una enfermedad, persiste al menos un mes después de producirse la lesión y se mantiene después de haber sanado (Gomezese y González 2001, Rivera 2001). Se puede deber a una persistencia en la estimulación de los nociceptores en áreas donde ha ocurrido un daño tisular (Gomezese y González 2001). Sus signos son más difíciles de reconocer inicialmente, ya que se desarrollan de forma lenta y varían en magnitud (Molony y Kent 1997, Carstens y Moberg 2000).

3.2.1.3. Dolor somático. Este tipo de dolor afecta a la piel, músculos, articulaciones, ligamentos y huesos. Según su ubicación, puede ser superficial (se localiza bien y desaparece poco después del estímulo, y generalmente es seguido de un dolor sordo, más difícil de localizar y que disminuye más lentamente) o profundo (de carácter sordo, difícilmente localizable y tiende a irradiar a áreas vecinas) (Gomezese y González 2001, Rivera 2001).

3.2.1.4. Dolor visceral. Tiene su origen en los órganos internos de las cavidades torácica y abdominal, no existe una clara relación entre la intensidad de la lesión y la magnitud del dolor, y es difuso y mal localizado, siendo un ejemplo clásico un dolor tipo cólico (Gomezese y González 2001). Además, se puede percibir como un dolor cutáneo localizado en una región alejada del lugar donde se ubica la lesión, lo que se conoce como dolor referido, el que se debe a la existencia de sinapsis en la médula espinal, entre fibras de dolor visceral y fibras procedentes de la piel. Entre los estímulos causales de dolor visceral están los espasmos de la musculatura lisa visceral, su distensión, la isquemia, los procesos inflamatorios, los estímulos químicos y la tracción, compresión o torsión de los mesenterios (Frandsen y Spurgeon 1995, Muir y col 2001, Rivera 2001).

3.2.1.5. Dolor nociceptivo. También llamado dolor fisiológico. Es aquel que se experimenta en la vida diaria, y es producido por la estimulación breve de los nociceptores en la piel u otros tejidos, en ausencia de daño tisular extenso, es bien localizado y de carácter transitorio. Es considerado como una sensación protectora que permite conocer la intensidad, duración y calidad del estímulo. Este tipo de dolor es necesario para la supervivencia y el bienestar del individuo (Gomezese y González 2001, Muir y col 2001, Rivera 2001).

3.2.1.6. Dolor inflamatorio. Es aquel dolor clínico, que se debe a lesión de los tejidos periféricos (quemaduras, etc.), presenta un bajo umbral al dolor (alodinia), una respuesta exagerada a estímulos nocivos (hiperalgesia), es mal localizado, e inicia la sensibilización periférica y central (Muir y col 2001).

3.2.1.7. Dolor neuropático. Clínico o patológico. Es aquel, cuya etiología predominante siempre es el resultado de una enfermedad o lesión crónica en las vías nerviosas periféricas o centrales del sistema nervioso. Puede desarrollarse y persistir en ausencia de un estímulo nocivo evidente, y sus signos pueden ser focales o más generalizados. Se presenta como una sensación quemante, con hiperalgesia y alodinia; términos característicos de una hipersensibilidad del sistema nociceptivo (Gomezese y González 2001, Muir y col 2001, Rivera 2001).

3.2.2. Mecanismo de transmisión del dolor

Si el dolor es una experiencia sensorial, es obvio que debe existir una vía de transmisión; es decir, un conjunto de estructuras nerviosas que conviertan el estímulo periférico potencialmente nocivo en la sensación dolorosa (González y col 1998). Desde el punto de vista neurofisiológico, la percepción del dolor precisa de la participación del sistema nervioso central (SNC) y del sistema nervioso periférico (SNP). El dolor desencadena una serie de reacciones en ambos sistemas que permite la percepción del mismo, con la finalidad de disminuir la causa y limitar las consecuencias (Romera y col 2000). Las estructuras anatómicas involucradas en este proceso son: receptores del dolor, fibras nerviosas (vías de transmisión de los receptores a la médula), médula espinal, fibras de conducción ascendente (vías de transmisión de la médula a la corteza), y centros superiores del dolor: núcleos

talámicos, hipotálamo, sistema límbico y corteza cerebral (Romera y col 2000, Torres y col 2002).

3.2.2.1. Fisiología del dolor. Este sistema anatómico comienza clásicamente por lo que se conoce como las vías del dolor (Torres y col 2002), las que se originan en las terminaciones nerviosas distales libres de la primera neurona aferente, llamadas nociceptores, cuya función es la conversión del estímulo doloroso (mecánico, químico o térmico) en energía eléctrica (Torregrosa 1994). Los nociceptores, conforman un grupo especial de receptores sensoriales que se han descrito en la mayoría de las estructuras del cuerpo que pueden originar una sensación dolorosa, las que incluyen la piel, músculos, articulaciones y vísceras. Hay cuatro tipo de nociceptores periféricos: los mecanorreceptores de umbral bajo y alto, los termorreceptores y los nociceptores polimodales (Torregrosa 1994, Frandson y Spurgeon 1995, Waterman 2001, Carstens y Moberg 2000). Algunos nociceptores no responden inicialmente a estímulos dañinos, pero comienzan a responder durante el desarrollo de inflamación y se les denomina nociceptores silentes (Carstens y Moberg 2000, Smaili y col 2004). La característica esencial de los nociceptores es su capacidad para diferenciar entre estímulos inocuos y estímulos nocivos, esto lo realizan ignorando los estímulos de baja intensidad y codificando el estímulo lesivo dentro de un rango de intensidades y transmitiéndolo al SNC (Romera y col 2000). En condiciones normales, poseen un alto umbral para estímulos específicos cutáneos, (temperatura $> 45^{\circ}\text{C}$ ó $< 5^{\circ}\text{C}$, presión extrema, sustancias químicas algogénicas), su respuesta es localizada y se limita en el tiempo (Torres y col 2002).

La primera neurona sensitiva (aferente) de la vía del dolor, se ubica en el ganglio espinal; sus prolongaciones periféricas integran los nervios periféricos y los nociceptores, mientras que sus prolongaciones centrales constituyen las raíces dorsales que penetran en el asta dorsal de la médula espinal (Romera y col 2000, Torres y col 2002). El axón de estas neuronas puede ser clasificado dentro de tres grupos de acuerdo a su función, mielinización, y a la velocidad a la cual conducen los impulsos eléctricos (Muir y Woolf 2001): el grupo de fibras nerviosas mielinizadas A- β , que normalmente conducen información no nociva a una velocidad rápida (30 a 70 m/seg); el grupo de fibras no mielinizadas C, de 0,3-1,3 μm de diámetro, con velocidad de conducción lenta (0,5-2 m/seg), el cual se correlaciona con el dolor quemante de aparición lenta, originado principalmente por el estímulo de los nociceptores polimodales, y el grupo de fibras ligeramente mielinizado A- δ , de 2-6 μm de diámetro, con mayor velocidad de conducción que las fibras C (4-30 m/seg), que son las responsables del dolor inicial agudo, que es una sensación más definida, intensa y breve originada principalmente por el estímulo de los nociceptores de temperatura y presión (King 1987, Torregrosa 1994, Frandson y Spurgeon 1995, Romera y col 2000, Rivera 2001, Torres y col 2002). Las distintas velocidades de conducción de las fibras mencionadas, explican la doble respuesta ante una injuria descritas como dolor rápido y dolor lento (Waterman 2001).

Los impulsos dolorosos se distribuyen topográficamente en la médula espinal, siguiendo el esquema laminar de Rexed, por el cual la sustancia gris se divide en diez láminas o capas de las cuales las seis primeras (láminas I a VI) corresponden al asta dorsal. Según este patrón las fibras A- δ terminan principalmente en la lámina I (zona marginal), mientras que las

fibras C lo hacen en la lámina II (sustancia gelatinosa) (Torregrosa 1994, González y col 1998, Muir y Woolf 2001).

La información nociceptiva recogida por las fibras A- δ y C, es transmitida a neuronas e interneuronas de segundo orden situadas en el asta dorsal de la médula espinal, mediante la liberación de neurotransmisores excitatorios sintetizados en los ganglios de las raíces dorsales (Torregrosa 1994). Estas neuronas de segundo orden (clasificadas en neuronas multirreceptoras o de amplio rango dinámico y en neuronas nocirreceptoras), transmiten la información hacia centros supra espinales (predominantemente bulbares y talámicos), y a la corteza cerebral, mediante vías ascendentes contra laterales (Torregrosa 1994, Muir y Woolf 2001). Entre ellas las mejores definidas son: el haz espino-talámico lateral, el que se asocia principalmente con la capacidad para localizar y evaluar el dolor; y el haz espino-reticular y espino-meso encefálico, cuya función se asocia principalmente con la activación de reflejos autónomos, emocionales y endocrinos en relación a la presencia de los impulsos nociceptivos (Ramírez y col 2001, Torres y col 2002). La información nociceptiva proveniente del tracto espino-talámico lateral, es transmitida al tálamo mediante la sinapsis de la segunda neurona con neuronas de tercer orden (Torres y col 2002), posteriormente las neuronas talámicas envían sus axones para alcanzar diferentes áreas de la corteza cerebral, donde se lleva a cabo la percepción del dolor: en el lóbulo parietal permiten la localización e interpretación del dolor, el sistema límbico está involucrado en las respuestas afectiva y autónoma al dolor, el lóbulo temporal en la memoria al dolor y el lóbulo frontal evalúa la importancia del dolor y la respuesta emocional al mismo (Ramírez y col 2001, Smaili y col 2004).

En condiciones normales, se genera el dolor fisiológico, el que corresponde a un mecanismo protector que aleja al organismo de cualquier estímulo dañino o potencialmente dañino, no encontrándose daño evidente de los tejidos o de las estructuras neuronales (García y col 2001, Torres y col 2002), y que usualmente desaparece cuando lo hace la condición que lo originó (Coderre y Katz 1997). En condiciones patológicas donde existe una lesión tisular, se produce el proceso conocido como sensibilización, el cual comprende cambios que pueden ser de dos tipos: la sensibilización periférica y la sensibilización central (Coderre y Katz 1997, Gonzalez y col 1998, García y col 2001, Torres y col 2002, Rong Ji y col 2003).

3.2.2.2. Fisiopatología del dolor. La sensibilización periférica consiste en la modificación funcional y estructural del nociceptor y/o de la neurona aferente primaria (González y col 1998, Torres y col 2002), que se traduce en un aumento en la sensibilidad de los nociceptores como resultado de la exposición a una gran cantidad de sustancias inflamatorias liberadas producto del daño tisular. Este proceso implica a sustancias como: mediadores (bradiquininas, citoquinas, eicosanoides), neurotransmisores (serotonina, noradrenalina), iones potasio (K⁺) e hidrógeno (H⁺), ácido láctico, histamina, diversos péptidos (sustancia P), y ciertas sustancias como las prostaglandinas y los leucotrienos, etc. (Torregrosa 1994, González y col 1998, Algé y Cruz 2001, García y col 2001, Muir y Woolf 2001). El resultado de estos cambios inflamatorios se caracteriza por: vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular, e iniciación de actividad espontánea de aferentes C denominados silentes, los cuales normalmente no responden, pero si lo hacen en presencia de inflamación (Torres y col 2002). De este modo la sensibilización periférica, es responsable de la hiperalgesia primaria, la que

corresponde a un estado funcional alterado del sistema nervioso en el cual la sensibilización de los nociceptores dentro del área injuriada, genera un incremento en la respuesta a un estímulo dado (Fransson y Spurgeon 1995, Carstens y Moberg 2000, Lee 2002, Torres y col 2002).

La sensibilización central se refiere al aumento de la excitabilidad de las neuronas espinales, como consecuencia del incremento de los impulsos nociceptivos aferentes a través de las fibras C (Torres y col 2002). Hay varias sustancias en la médula espinal implicadas en la mediación de estos cambios, una de las más importantes clínicamente es el glutamato, que al ser liberado en cantidades excesivas desde las terminales presinápticas de los nociceptores, genera potenciales de acción de larga duración, que hacen perder el bloqueo fisiológico que produce el Mg sobre un subtipo de receptor postsináptico al glutamato llamado receptor NMDA (N-metil-D-aspartato), que al activarse permite que el Ca⁺⁺ entre y avance hacia las neuronas postsinápticas induciendo una despolarización prolongada, lo que lleva a aumentar la excitabilidad de las neuronas (González y col 1998, Muir y Woolf 2001). Este proceso es responsable de algunos de los cambios en la zona de hiperalgesia primaria y de todos los que se producen en la zona de hiperalgesia secundaria, en donde hay una diseminación de la hipersensibilidad hacia tejidos no dañados (Ley y col 1995, Carstens y Moberg 2000, Lee 2002).

3.2.3. Inflamación y dolor

La inflamación es una respuesta benéfica del organismo ante una injuria tisular, pero en ocasiones es un proceso que también ataca el tejido sin beneficio alguno. Numerosas sustancias tales como agentes irritantes, tóxicos, bacterias, anticuerpos, hormonas, parásitos, y traumas físicos se describen como mediadores proinflamatorios (García y col 2001). Es necesario tener presente, que los procesos inflamatorios y los daños tisulares suelen producir una serie de eventos que en conjunto van a determinar un incremento de la sensación dolorosa en respuesta a estímulos dolorosos, e incluso van a generar sensaciones dolorosas en respuesta a estímulos inocuos (alodinia) (Rivera 2001).

3.2.4. Medición del dolor en los animales

Analizando la definición de dolor es posible comprender la dificultad para medirlo, ya que se trata de objetivizar un fenómeno fundamentalmente subjetivo, sujeto a una gran variabilidad individual (Torregrosa y Bugedo 1994).

Dentro de los parámetros que se pueden utilizar para evaluar el dolor o nocicepción en los animales podemos mencionar cambios en la condición corporal, en la apariencia física y signos clínicos (Carstens y Moberg 2000), pero los más importantes son los indicadores fisiológicos y de conducta del animal al dolor (Lee 2002). Indicadores de conducta son: vocalización, alteraciones en la postura como quedarse inmóviles, o echarse para evitar el dolor, alteraciones en la actividad locomotora como patear, mirarse, lamerse o morderse el área afectada. Un animal con dolor puede también demostrar pérdida de curiosidad hacia el

medio que lo rodea y agresividad (Molony y Kent 1997, Carstens y Moberg 2000). Indicadores fisiológicos son: cambios en la frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, temperatura, presión sanguínea y diámetro pupilar (Molony y Kent 1997, Lee 2002).

Entre los constituyentes sanguíneos utilizados para medir estados de estrés producto de estímulos dolorosos, podemos mencionar adrenalina, noradrenalina, factor liberador de corticotropina, cortisol, prolactina, glucosa, ácidos grasos libres, β -Hidroxibutirato, creatinfosfoquinasa y leucocitos (Tadich 2004).

En el ganado bovino las mediciones de nocicepción han estado incluidas en estudios para investigar los efectos del estrés agudo o del dolor crónico (Herskin y col 2003). Para evaluar estímulos nociceptivos en vacas cojas de lechería se han realizado pruebas o mediciones que incluyen: estimulación con radiación térmica, estimulación con contacto térmico y estimulación mecánica (Ley y col 1995, Whay y col 1997; 1998, Herskin y col 2003).

En los estudios realizados por (Ley y col 1995;1996, Whay y col 1997;1998), el umbral mecánico fue valorado en uno de los miembros posteriores, usando un aparato que gradualmente empujaba un vástago romo de aproximadamente 2 mm de diámetro, contra el aspecto dorsal del metatarso, el vástago fue presionado a una tasa que incrementaba constantemente, registrada en Newton (N), hasta que el animal percibió el estímulo doloroso, por lo que el test mecánico de umbral nociceptivo, se definió como el punto en el cual fue producida una respuesta por parte del animal, como un levantamiento de la pata claramente definido y esto fue considerado como respuesta umbral; en este punto se detuvo el estímulo doloroso. Inicialmente todos los animales (sanos y cojos), fueron estimulados en el miembro posterior izquierdo, sin embargo en casos de cojeras, la prueba fue siempre llevada a cabo en la pata coja para evitar forzar al animal soportar su peso en la pata enferma. En los estudios realizados por Whay y col (1997; 1998), el aparato tenía un corte automático al llegar a 20 N lo cual aseguraba que no hubiera daño de tejidos a causa de la prueba.

La prueba de umbral nociceptivo es una medida de la respuesta de la vaca ante un estímulo doloroso (Logue y col 1998). El hallazgo más importante de estos estudios fue que cambios en el umbral nociceptivo son el resultado de dolor crónico (Ley y col 1995, Whay y col 1997), ya que la patología asociada a cojera hacía que el umbral al cual respondían los animales a un estímulo mecánico, fuera más bajo en animales cojos que en animales sanos. Esto puede ocurrir como resultado de cambios locales (en el sitio de inflamación) o centrales en el sistema nervioso. Las consecuencias en el bienestar de la vaca tanto si los cambios inducidos son locales al área de injuria o son centralmente mediados son significativos. Se piensa que, al menos en parte, esto es debido al fenómeno de sensibilización central por medio del cual ocurren cambios dentro de las neuronas de la médula espinal que intensifican su respuesta (Ley y col 1995, Logue y col 1998, Whay y col 1997; 1998).

Ley y col (1995), señalaron que en ovejas cojas el umbral a los estímulos mecánicos varió significativamente según el grado de cojera, un grado alto de cojera, se asoció con una reducción en la respuesta umbral promedio a un estímulo mecánico. Además, la hiperalgesia

persistía en las ovejas severamente cojas por hasta 3 meses; en este tiempo las lesiones podales clínicas parecían resueltas, estos resultados concuerdan con los estudios realizados por Whay y col (1997; 1998).

3.3. PROTEINAS DE FASE AGUDA

Una forma de medir indirectamente estados inflamatorios, es mediante la determinación de las concentraciones séricas de albúminas, globulinas y cobre (Kaneko 1997). Sin embargo, un método más específico y sensible es el basado en la medición directa de proteínas de fase aguda, las que son glicoproteínas hepáticas, cuya concentración sérica y plasmática cambia dramáticamente durante la respuesta de fase aguda ante episodios de infección, inflamación, desordenes inmunológicos, trauma o estrés (Eckersall y col 1996, Horadagoda y col 1999, Cerón y col 2005). La respuesta de fase aguda ha sido documentada en numerosas especies y a pesar de ser definida como un fenómeno agudo, puede ser mantenida tanto tiempo como esté activo el proceso inflamatorio, y por lo tanto, puede persistir además en enfermedades crónicas (Eckersall y col 1996, Gabay y Kushner 1999). Como norma general, el estímulo de la síntesis de estas proteínas ocurre en un periodo de 6 a 8 horas post injuria, siendo su concentración máxima alcanzada en 2 a 5 días (Kogika y col 2003). Esta respuesta es estimulada por la liberación de citoquinas proinflamatorias tales como, interleuquin-1, interleuquin-6 y factor de necrosis tumoral- α , secretadas principalmente por sustancias bacterianas como: lipopolisacáridos o endotoxinas, macrófagos y monocitos que actúan como mensajeros entre el sitio local de lesión y los hepatocitos, sintetizando las proteínas de fase aguda (Gabay y Kushner 1999, Alsemgeest y col 1996). Interleuquin - 6, se describe como el inductor más potente de la producción de proteínas de fase aguda (Young y col 1995, Alsemgeest y col 1996). Una proteína de fase aguda, se define como aquella cuya concentración plasmática aumenta (proteínas de fase aguda positivas: proteína C reactiva, haptoglobina, amiloide sérico A, glicoproteína ácida α -1, ceruloplasmina y fibrinogeno) o disminuye (proteínas de fase aguda negativas: albúmina o transferrina) por lo menos en un 25% durante un desorden inflamatorio (Gabay y Kushner 1999, Cerón y col 2005). La concentración plasmática de algunas de estas proteínas puede aumentar por sobre 1000 veces, y el perfil y magnitud de su incremento es altamente especie dependiente (Kent 1992, Piñeiro y col 2003). Por ejemplo, la proteína C reactiva es la principal proteína de fase aguda en perros y su concentración puede llegar a aumentar por sobre 100 veces luego de una injuria, pero en el ganado bovino no presenta ningún cambio (Alsemgeest y col 1995; Eckersall y col 1996, Horadagoda y col 1999, Piñeiro y col 2003). Las proteínas de fase aguda, tienen valores basales bajos o indetectables con un estrecho rango de referencia que permanece sin cambiar con la edad o sexo del animal (Kent 1992). Además, cumplen muchas funciones dentro del organismo, dentro de las cuales está el promover la producción de inmunoglobulinas y la reparación tisular, prevenir injuria futuras, reciclar moléculas útiles y eliminar moléculas dañinas y detritus producidos luego del daño tisular (los que incluyen proteasas, hemoglobina y fragmentos de ADN) (Kent 1992, Salonen y col 1996, Chan y col 2004). Investigaciones hechas durante la última década, han mostrado que la cuantificación de la concentración plasmática o sérica de estas proteínas puede proveer de valiosa

información diagnóstica en la detección, pronóstico y monitoreo de enfermedades, así como también, del estado de salud y bienestar de los animales domésticos (Eckersall 2000, Hiss y col 2003, Martínez y col 2003).

3.3.1. Haptoglobina

En el bovino, han sido investigadas en detalle proteínas como el amiloide sérico A, ceruloplasmina y la glicoproteína ácida α -1, sin embargo en esta especie, la principal y más estudiada proteína de fase aguda es la haptoglobina (Hp) (Conner y Eckersall 1988, Ramírez y col 2002). La Hp bovina integra el grupo de las α_2 globulinas sintetizadas en el hígado, mediante la liberación de citoquinas proinflamatorias (IL-6), en respuesta al daño tisular que resulta de infección o inflamación (Young y col 1996, Smith y col 1998), posee dos subunidades con pesos moleculares de 20-23 kDa (cadena α) y 35-37 kDa (cadena β) (Godson y col 1996, Ramírez y col 2002). La fracción purificada α proviene únicamente del suero de animales enfermos, por lo que se ha usado como indicador de enfermedad (Ramírez y col 2002). Se han reportado numerosas funciones para esta proteína, sin embargo, la primordial es la de fijar la hemoglobina libre en la circulación liberada por hemólisis, para así prevenir la utilización de hierro por la bacterias (Horadagoda y col 1999, Ramírez y col 2002, Petersen y col 2004, Ametaj y col 2005). En bovinos clínicamente sanos, la concentración de Hp es casi indetectable, encontrándose a niveles de 0,1 mg/ml o menos (Wittum y col 1996, Deignan y col 2000). En el Laboratorio de Patología Clínica del Instituto de Ciencias Clínicas veterinarias de la Universidad Austral de Chile (PhaseTM Range 2005), los valores de referencia descritos para esta proteína en el bovino son de 0 – 0,05 mg/ml. Sin embargo, presenta un incremento relativamente alto durante la respuesta de fase aguda (Kent 1992, Young y col 1996), pudiendo aumentar rápidamente por sobre 100 veces dentro de 24 horas producto de una inflamación localizada, por lo que es muy útil en diferenciar enfermedades inflamatorias agudas de crónicas, siendo esta capacidad determinada estimando su sensibilidad y alta especificidad (Horadagoda y col 1999, Chan y col 2004). Dentro de las condiciones que pueden originar un aumento en la concentración de Hp en bovinos podemos mencionar: mastitis, metritis, piometra, reticulitis traumática, desplazamiento abomasal, pericarditis traumática, nefritis bacteriana y lipidosis hepática (Young y col 1996, Saini y col 1998, Smith y col 1998). Condiciones no infecciosas tales como hipocalcemia y cetosis, no fueron asociadas con aumento en la concentración sérica de Hp (Skinner y col 1991, Young y col 1996).

Dentro de los factores que pueden influenciar los valores obtenidos en la concentración de Haptoglobina, Chan y col (2004), no encontraron diferencias significativas en los valores de Hp entre las diferentes estaciones del año, lo que indica que los muestreos para la determinación de Hp, pueden ser realizados en cualquier época del año. Además encontraron que el sexo y la edad del ganado bovino, tampoco tenían ningún efecto en su concentración. Por otro lado, Saini y col (1998), reportaron que la preñez y el estado de lactancia, no tenían influencia en la concentración de esta proteína.

En relación a la cuantificación de haptoglobina, existen métodos tales como: pruebas bioquímicas basadas en su capacidad de ligar la hemoglobina libre, métodos inmunoquímicos tales como: técnicas de inmunoprecipitación en gel y ELISA. Sin embargo, haptoglobina corrientemente se determina mediante el método colorimétrico, el cual se basa en la diferencia en la actividad de la enzima peroxidasa entre hemoglobina libre y el complejo formado por la unión hemoglobina-haptoglobina, para ello se requiere un suero libre de contaminación por hemoglobina (Ramírez y col 2002, Cerón y col 2005). En los análisis usados, se debe tener especial cuidado en la obtención de las muestras, ya que la estimación de las concentraciones de haptoglobina pueden dar resultados falsos negativos en presencia de enfermedades hemolíticas, debido a que la liberación de hemoglobina en la sangre resulta en la formación de complejos haptoglobina – hemoglobina, los cuales son rápidamente removidos por el hígado (Salonen y col 1996, Piñeiro y col 2003).

Debido a que resulta difícil abordar en su totalidad toda la gama de factores y consecuencias que involucra el dolor, al ser la sensación más temida e inherente a cualquier proceso patológico, todos los veterinarios, dentro de nuestra ética profesional debemos evitar el sufrimiento de los animales, por lo que estamos obligados a tener clara la importancia del dolor como indicador de bienestar animal, y a esforzarnos en aprender a interpretar las reacciones frente al dolor, con el fin de enseñarle al ganadero la importancia que él tiene en este tema tanto de mejorar la calidad de vida de sus animales y de esta forma su producción. Basado en lo anterior, se establecieron las siguientes hipótesis de trabajo.

Hipótesis

H_{a1}: Las cojeras en vacas de lechería producen un estado de hiperalgesia, que disminuye el umbral de percepción al dolor producido por un estímulo mecánico, que se relaciona al grado de claudicación.

H_{a2}: Las claudicaciones, y el grado de cojera en las vacas de lechería, producen un aumento en los valores de las variables fisiológicas y en las concentraciones sanguíneas de haptoglobina.

Para comprobar estas hipótesis se plantearon los siguientes objetivos:

OBJETIVOS

Objetivos generales

1. Determinar el grado de algesia mediante la utilización de un dispositivo electrónico en vacas con diferentes grados de claudicación.
2. Determinar los cambios producidos por claudicaciones de diferentes grados en las variables fisiológicas y en las concentraciones sanguíneas de haptoglobina.

Objetivos específicos

1. Determinar, mediante la utilización de un dispositivo electrónico, el umbral al que las vacas cojas reaccionan a un estímulo mecánico.
2. Determinar y comparar los umbrales de dolor, variables fisiológicas y concentraciones de haptoglobina obtenidas en vacas clínicamente sanas y vacas con distinto grado de cojera.

4. MATERIAL Y METODOS

4.1. MATERIAL

4.1.1. Material Biológico: Se utilizaron 127 vacas lecheras (raza frisón) con distintas producciones y distintos estados de lactancia, pertenecientes a siete lecherías de la provincia de Valdivia. Las que se dividieron en cinco categorías de acuerdo al grado de locomoción que presentaban: grado 0 (n=44), grado 1 (n=18), grado 2 (n=28), grado 3 (n=23) y grado 4 (n=14).

4.1.2. Material para la obtención de muestras de sangre: Tubos al vacío Vacutainer® con heparina (10 ml), soportes y agujas.

4.1.3. Material para medir variables fisiológicas: Termómetro clínico digital (Digi-vet) y fonendoscopio (duplex ®).

4.1.4. Material para medir umbrales nociceptivos: Dispositivo electrónico diseñado para este estudio, computador portátil (Packard Bell).

Descripción del dispositivo electrónico: (Anexo 1).

El mecanismo para generar la presión mecánica necesaria para generar dolor en una de las extremidades posteriores de la vaca fue diseñado en la Facultad de Ingeniería de la Universidad Austral de Chile. Este consta de un servo-motor electrónico con un sensor de aceleración, un resorte y un vástago de 2,5 mm de diámetro. El sistema es controlado por un programa de control que esta incorporado en un computador portátil, este traduce e interpreta las órdenes dadas y desarrolla la operación deseada. El sistema permite obtener en el vástago una fuerza máxima de aproximadamente 20 Newton, la que está limitada por el programa de control para evitar dañar los tejidos del animal. Al activarse el dispositivo comienza a girar lentamente el servo-motor, que a través del resorte, aumenta linealmente la presión sobre la extremidad del animal, midiéndose simultáneamente la fuerza ejercida y el valor de la aceleración. Cuando el animal mueve la extremidad en respuesta al dolor generado por la presión o cuando la presión ejercida alcanza los 20 Newtons, el sensor de aceleración detecta el movimiento brusco y detiene automáticamente el proceso, haciendo que el servo motor vuelva a su posición inicial. El programa de control indica este hecho y da la opción de guardar estos datos en una hoja de cálculo.

4.1.5. Material para examen de las pezuñas: Brete para examen de pezuñas, lazos, cepillo, agua, jabón, toallas de papel desechable y cuchillos despalmadores.

4.2. MÉTODO

4.2.1. Selección de las lecherías: Las lecherías presentaban una prevalencia de cojeras promedio de entre un 10-30%, y fueron seleccionadas por conveniencia, para ello se solicitó la cooperación de los propietarios de siete predios de la provincia de Valdivia, con los cuales se programaron las visitas mediante contacto telefónico, explicándoles el objetivo del trabajo. Durante la primera visita a cada lechería, se observaron todos los animales en ordeña, para de esta forma cuantificar el número de animales con algún grado de claudicación presentes en las mismas, por lo tanto el número de visitas a cada predio dependió de la cantidad de animales cojos que había en ellas, y estas se realizaron durante el periodo de Mayo a Diciembre del 2005.

4.2.2. Protocolo de selección y evaluación de los animales: Durante cada visita se determinó el grado de locomoción de los animales mediante observación directa para ver la presencia de algún grado de cojera y a qué miembro afectaba, se examinaron aquellas vacas que habían sido detectadas como cojas por el personal encargado del predio, y en el caso de las cojeras de menor grado se examinaron por inspección todas las vacas a medida que salían de la sala de ordeña. El grado de locomoción fue clasificado de acuerdo a la siguiente escala descrita por Tadich y col (2005):

Grado 0: la vaca se encuentra sana.

Grado 1: la vaca se encuentra parada normalmente, pero arquea el lomo al caminar. Por lo tanto presenta una cojera apenas perceptible al desplazarse y trata de disminuir la fuerza de apoyo con el miembro afectado.

Grado 2: la vaca al estar parada o caminando arquea el lomo, lo que se interpreta como una claudicación evidente. La disminución de la fuerza de apoyo, se hace más evidente, demostrando una claudicación manifiesta al desplazamiento.

Grado 3: existe dificultad para caminar, y la vaca intenta no apoyar el miembro afectado. Es una claudicación grave. El animal prácticamente no apoya el miembro afectado y se le dificulta el movimiento.

Grado 4: claudicación severa. La vaca rehúsa levantarse o caminar por iniciativa propia y prefiere el decúbito.

Luego de evaluar el grado de locomoción y el miembro afectado, las vacas a examinar fueron introducidas a un brete de contención donde se mantuvieron en reposo por diez minutos. Transcurrido este tiempo, se procedió a la toma de la frecuencia cardiaca mediante auscultación cardiaca en latidos por minuto, la frecuencia respiratoria por auscultación torácica en ciclos por minuto, y la medición de temperatura rectal a través de un termómetro clínico digital. El siguiente paso, fue la obtención de muestras de sangre mediante venopunción coccígea, las cuales fueron transportadas el mismo día al Laboratorio de

Patología Clínica del Instituto de Ciencias Clínicas veterinarias de la Universidad Austral de Chile, donde fueron centrifugadas y el plasma fue almacenado a -20°C para su posterior análisis.

Para la evaluación de estímulos nociceptivos mecánicos, el dispositivo electrónico fue colocado sobre la superficie anterior del metatarso del miembro afectado en las vacas cojas para evitar forzar al animal a soportar su peso sobre el mismo, mientras que en las vacas sanas, fue colocado en el mismo lugar, pero en el miembro posterior que fuera más fácil de examinar. Una vez que el animal se acostumbró a la presencia del dispositivo en el miembro, y luego de cinco minutos de espera, se procedió a su activación, en la cual mediante una presión constante, impulsó un vástago con punta roma, sobre la zona anteriormente mencionada. El mecanismo se detuvo cuando el animal manifestó incomodidad mediante un movimiento claro del miembro. Este procedimiento se repitió cuatro veces en cada vaca, con intervalos de 5 minutos de descanso entre cada medición.

El último paso del protocolo de trabajo consistió en identificar la lesión presente en las pezuñas mediante el examen clínico de los miembros posteriores.

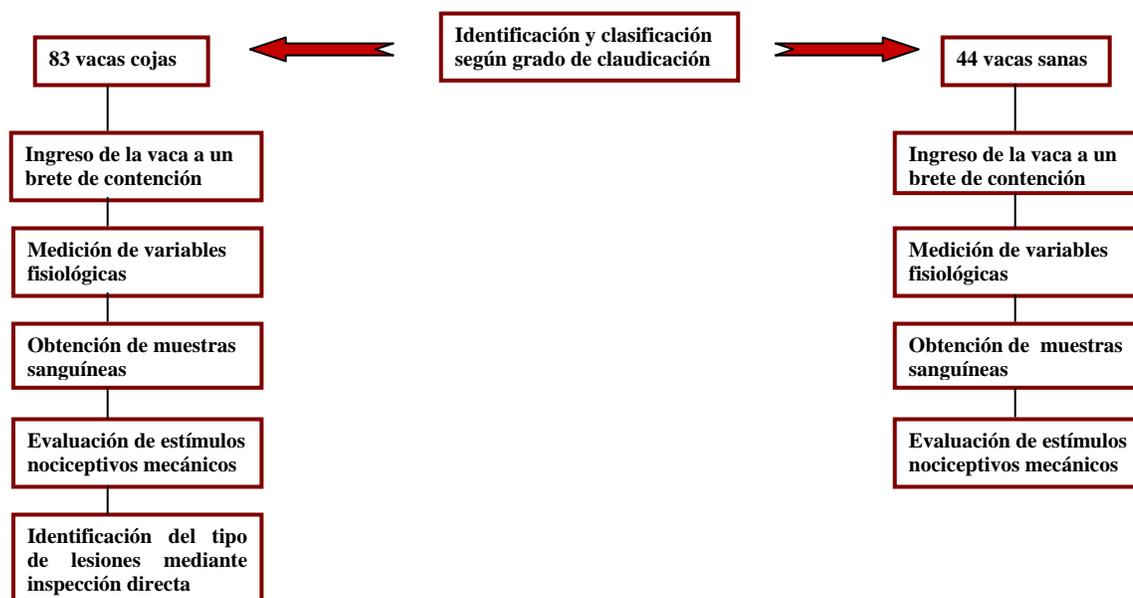


Figura 2. Protocolo de selección y evaluación de los animales

4.2.3. Registro de datos: Los datos obtenidos en cada visita, y que incluían: N° vaca, lugar de ubicación de la lesión, pie afectado, grado de cojera y lesiones observadas, fueron registrados en una ficha diseñada para este propósito (Anexo 2).

4.2.4. Análisis sanguíneos: Sólo se analizaron 103 muestras de sangre del total de 127 animales. Para la recolección de sangre y posteriormente de plasma, se utilizaron tubos con heparina. La concentración plasmática de haptoglobina (mg/ml) se determinó usando el kit

comercial PHASE HAPTOGLOBIN del laboratorio Tridelta Dev Ltda., Irlanda, este método se basa en preservar la actividad de la enzima peroxidasa sobre la hemoglobina, la cual es directamente proporcional a la haptoglobina presente en la muestra. Para esto se utilizó un espectrofotómetro COBAS MIRA PLUS (Roche®) (Fig. 3). El análisis se realizó en el laboratorio de Patología Clínica del Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias de la UACH.

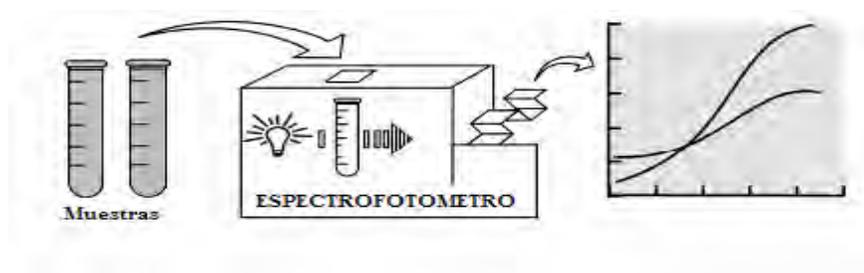


Figura 3. Esquema del análisis

4.2.5. Análisis estadísticos: Los datos obtenidos, fueron ordenados y separados en 5 grupos de acuerdo al grado de locomoción que presentaban los animales, y posteriormente ingresaron como variables numéricas a una planilla Microsoft Excel, en donde se calcularon promedios y desviaciones estándar para cada grupo estudiado. Para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre grupos, se utilizaron pruebas paramétricas ANOVA de una vía o no paramétricas Kruskal-Wallis, de acuerdo a si los datos siguieron una distribución normal y si las varianzas eran homogéneas. Los resultados se presentan en base a tablas y gráficos. Para determinar qué grupos eran distintos a otros se utilizó el método de Scheffé. Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa estadístico SPSS 10.0.

5. RESULTADOS

5.1. Respuesta a estímulos nociceptivos mecánicos

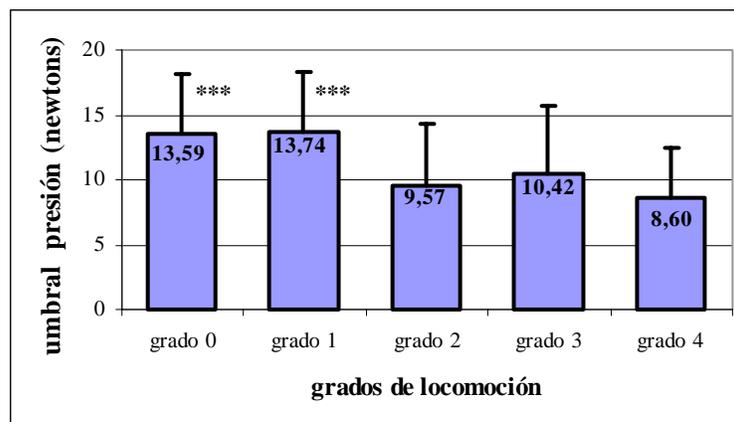


Figura 4. Valores promedio (\pm D.E.) de los umbrales de presión (Newton) en vacas lecheras ($n=127$) con distintos grados de locomoción. Grado 0=44, grado 1=18, grado 2=28, grado 3=23, grado 4=14. (***) $P<0,001$).

Se puede observar que las vacas con grado de locomoción 0 y 1, presentaron umbrales de reacción a estímulos nociceptivos significativamente más altos ($P<0,001$) que las vacas con grado de locomoción 2, 3 y 4 (Fig.4).

5.2. Concentraciones plasmáticas de haptoglobina

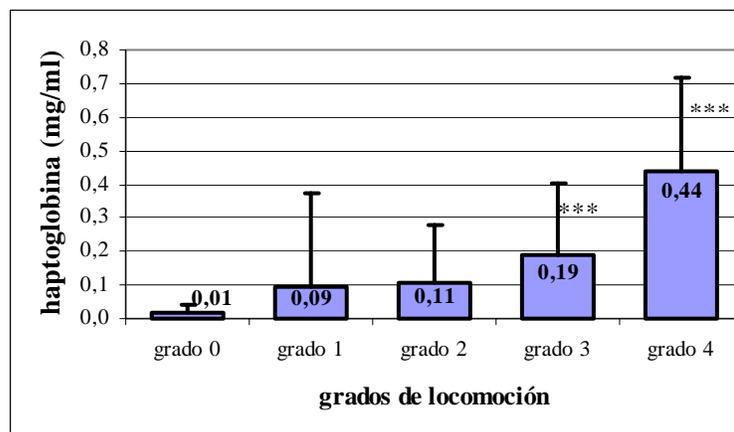


Figura 5. Valores promedio (\pm D.E.) de las concentraciones plasmáticas de haptoglobina (mg/ml) en vacas lecheras ($n=103$) con distintos grados de locomoción. Grado 0=35, grado 1=15, grado 2=21, grado 3=21, grado 4=11. (***) $P<0,001$).

Los valores plasmáticos de haptoglobina aumentaron a medida que progresó el grado de claudicación. A excepción del grupo con grado 0 de locomoción, todos los otros grupos presentaron valores de haptoglobina por sobre los valores de referencia para la especie. Las vacas con grado de locomoción 4 tuvieron valores de haptoglobina significativamente mayores ($P < 0,001$) que las con grado de locomoción 0, 1 y 2. Las vacas con grado de locomoción 3 tuvieron valores significativamente mayores ($P < 0,001$) que las grado 0 y aquellas con grado 1 de locomoción (Fig.5).

5.3. Valoración de temperatura

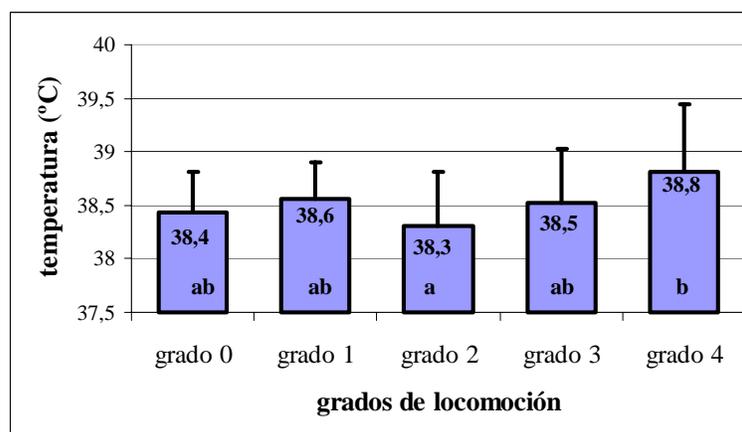


Figura 6. Valores promedio (\pm D.E.) de la temperatura rectal ($^{\circ}$ C) en vacas lecheras ($n = 127$) con distintos grados de locomoción. Grado 0=44, grado 1=18, grado 2=28, grado 3=23, grado 4=14. Letras a y b = ($P < 0,05$).

Se puede observar que la temperatura promedio en todos los grupos se mantuvo dentro de los valores de referencia para la especie; sin embargo, sólo se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los grupos con grado 2 y 4 de locomoción (Fig. 6).

5.4 Valoración de frecuencia cardiaca

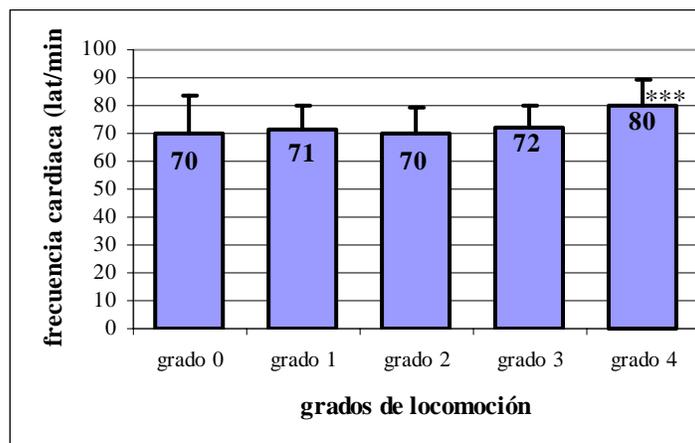


Figura 7. Valores promedio (\pm D.E.) de la frecuencia cardiaca (lat/min) en vacas lecheras (n=127) con distinto grado de locomoción. Grado 0=44, grado 1=18, grado 2=28, grado 3=23, grado 4=14. (***) $P<0,001$).

Los valores de frecuencia cardiaca en todos los grupos se encontraron sobre el límite superior del rango de referencia para la especie, sin embargo, sólo el grupo con grado de locomoción 4, mostró diferencias significativas ($P<0,001$) con respecto a los otros grupos (Fig. 7).

5.5. Valoración de frecuencia respiratoria

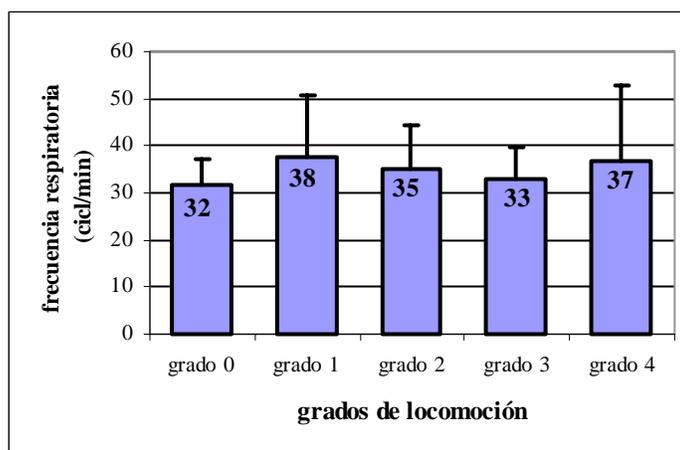


Figura 8. Valores promedio (\pm D.E) de la frecuencia respiratoria (ciclos/m) en vacas lecheras con distintos grados de locomoción. Grado 0=44, grado 1=18, grado 2=28, grado 3=23, grado 4=14. ($P>0,05$).

La frecuencia respiratoria promedio se encontró por sobre los valores de referencia para la especie, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($P>0,05$) entre los distintos grupos (Fig. 8).

6. DISCUSION

Hasta donde es conocimiento de la autora, el presente estudio es el primer trabajo realizado en Chile que describe y entrega antecedentes sobre la reacción de vacas cojas de lechería a un estímulo nociceptivo mecánico. Estudios preliminares sobre el tema fueron llevados a cabo en el Reino Unido por Ley y col (1995), en ovejas cojas, y por Ley y col (1996), Whay y col (1997; 1998), en vacas cojas de lechería. Además, esta investigación aporta información sobre el efecto de las claudicaciones tanto en las variables fisiológicas, como en las concentraciones plasmáticas de haptoglobina de los animales estudiados. Los resultados de esta última variable, también son los primeros resultados obtenidos en vacas cojas en nuestro país.

De acuerdo a lo encontrado en este estudio, se puede señalar que el umbral promedio de reacción al dolor que registraron las vacas sanas fue de 13,6 (N), lo que concuerda con los datos obtenidos en el estudio de Whay y col (1998), en el que trabajando con 42 vacas sanas obtuvieron un umbral promedio de 13,3 N. Sin embargo, difiere con lo encontrado por Ley y col, 1996 en vacas, en el que el umbral mecánico promedio de las 62 vacas sanas utilizadas fue de 6,82 N. La disminución en los umbrales de reacción observado en las vacas con grados de claudicación mas severos, concuerda con lo señalado por Ley y col, (1996), donde el umbral promedio al cual reaccionaron las 13 vacas cojas incluidas en su investigación, fue significativamente más bajo; 5,84 N. También es similar a lo descrito por Whay y col (1998), los que señalaron un umbral promedio de 7,9 N para los 42 animales cojos en estudio. Estas diferencias en los datos obtenidos entre los estudios podrían deberse, a que la interpretación de la reacción de respuesta de los animales es potencialmente de carácter subjetiva (Whay y col 1998), o a que los dispositivos usados en estos estudios tuvieron un diseño diferente, lo que podría haber influenciado los resultados obtenidos. La subjetividad de la respuesta animal quedó demostrada por estudios efectuados por Ley y col (1995), en ovejas cojas, donde obtuvieron un umbral promedio significativamente más elevado que los umbrales observados previamente en animales acostumbrados al manejo y a procedimientos de laboratorio. Whay y col (1996), encontraron que tanto el comportamiento del animal como su estimulación, pueden ser fuentes de variación en la respuesta a la prueba.

Los resultados de este trabajo confirman que las vacas con mayores grados de claudicación presentan una mayor sensibilidad ante un estímulo nociceptivo mecánico, respondiendo a dicho estímulo mucho antes de lo que lo hacen las vacas sanas. Esto se debería a que el miembro afectado, producto del dolor causado por la claudicación, se encuentra en un estado de hiperalgesia, en el cual existe un aumento de la respuesta ante un estímulo doloroso (Ley y col 1995; 1996, Whay y col 1997; 1998). Esta manifestación de hiperalgesia pudo ser el resultado de una sensibilización periférica o de una sensibilización central; en la primera, se produce una modificación funcional y estructural del nociceptor y/o de la neurona aferente primaria, debido a su exposición a una gran cantidad de mediadores inflamatorios liberados producto del daño tisular, lo que se traduce en un aumento en la

sensibilidad de los nociceptores (González y col 1998, Torres y col 2002) ; mientras que en la segunda, debido a un incremento de los impulsos nociceptivos aferentes a través de las fibras C, sumado a la mediación de sustancias como el glutamato, se genera un aumento en la excitabilidad de las neuronas espinales (González y col 1998, Muir y Woolf 2001, Torres y col 2002).

Ley y col (1995), encontraron que el umbral de presión más bajo sólo fue observado en ovejas con cojeras severas asociadas con la patología foot rot. Mientras que Whay y col (1998), señalaron que la falta de cambios en los umbrales nociceptivos de las vacas con respecto al tipo de lesión causal indicó que todas las lesiones inducen hiperalgesia por igual. Además, no encontraron relación entre el grado de cojera y el tipo de lesión observada sobre el umbral nociceptivo en los grados de cojera mas avanzados, esto significa que la severidad de la lesión es más importante que la etiología en el origen de un estado de hiperalgesia.

En el presente estudio no se determinó la duración de la hiperalgesia en las vacas cojas. Sin embargo, se sabe que en ovejas cojas persiste por sobre 3 meses luego de la aparente resolución clínica de la cojera (Ley y col 1995). Además, Whay y col (1998), señalaron que algunos de los animales se encontraban todavía hiperalgesicos 28 días después del tratamiento de la lesión que causó la cojera, lo que fue asociado a la activación de mecanismos fisiológicos del dolor a niveles periféricos y/o centrales.

El hecho de que las vacas con grados 1 de cojera tuvieran valores similares a las vacas sanas podría deberse a la ausencia de un grado de inflamación mayor, el cual es un prerequisite para el desarrollo de hiperalgesia (O'Callaghan 2002). Lo anterior fue además sugerido por Ley y col (1995), en donde las ovejas con cojera clínica de menor grado no demostraron hiperalgesia.

Con respecto a haptoglobina, no se encontraron estudios en la literatura consultada acerca del efecto específico de las cojeras en la concentración de esta proteína, por lo que los resultados obtenidos no pueden ser comparados con investigaciones similares. Sin embargo, las concentraciones de haptoglobina obtenidas en este estudio, se encuentran dentro de los rangos reportados anteriormente en el ganado bovino producto de infecciones virales o bacterianas, lesiones traumáticas, administración de agentes irritantes que causan inflamación, entre otras causas (Alsemgeest y col 1995, Horadagoda y col 1999, Conner y col 1986, Conner y Eckersall 1988, Skinner y col 1991, McNair y col 1997), por lo que es razonable predecir que haptoglobina es inducida por la cojera y que nuestros datos pueden ser extrapolados a estos estudios, ya que en la mayoría de ellos la tendencia de los resultados obtenidos concuerda con los resultados registrados en la presente investigación.

De acuerdo a lo anterior, podemos mencionar que las vacas sanas tuvieron concentraciones plasmáticas de haptoglobina promedio de 0,01 mg/ml, las que se encontraban dentro de los valores de referencia para la especie descritos en la literatura, los que fluctúan para algunos autores en un rango de 0 – 0,05 mg/ml (PhaseTM Range 2005), mientras que otros sostienen que valores de hasta 0,1 mg/ml son fisiológicamente normales en el bovino (Young y col 1996, Smith y col 1998, Ramírez y col 2002). Estas diferencias en los valores

normales obtenidos, se pueden deber en parte a los diferentes métodos usados para la determinación de haptoglobina (McNair y col 1997).

Debido a que las cojeras son un evento inflamatorio, pareciera lógico observar un aumento significativo en las concentraciones de haptoglobina a medida que aumentó el grado de claudicación, siendo el valor promedio más alto observado de 0,44 mg/ml, el cual correspondió a las vacas con grado 4 de claudicación (Figura 5). Estos resultados se asemejan a lo observado por Skinner y col (1991), con respecto a que el aumento en las concentraciones de haptoglobina se relaciona a la severidad del cuadro patológico, encontrando que concentraciones de haptoglobina de más de 0,2 mg/ml indicaban infección moderada, valores por sobre 0,4 mg/ml diagnosticaban infecciones severas, mientras que condiciones patológicas extensas eran asociadas típicamente a concentraciones de haptoglobina de 1 a 2 mg/ml. Otros investigadores han reportado niveles máximos de haptoglobina de hasta 0,8 mg/ml, en vacas con metritis puerperal toxica (Smith y col 1998); de 0,69mg/ml, en vacas con mastitis clínica (Conner y col 1986) y de 8-10 mg/ml, en terneros con infección experimental con el virus respiratorio sincisial bovino (Heegaard y col 2000). Nuestros resultados coinciden con otros autores que señalan que las concentraciones de haptoglobina se relacionan a la extensión del daño tisular generado por la inducción de respuestas inflamatorias mediante la inyección de agentes irritantes tales como aceite de turpentina o lipopolisacaridos de *Escherichia coli* en bovinos, cerdos y gatos (Eckersall y col 1996, Conner y col 1988, Kajikawa y col 1999, Piñeiro y col 2003).

Mediante este estudio ha sido posible demostrar una respuesta de fase aguda en vacas lecheras con distintos grados de claudicación. La producción de proteínas de fase aguda es regulada por mediadores inflamatorios llamados citoquinas tales como: interleuquin-1, interleuquin-6 y factor de necrosis tumoral α , lo que sugiere que el aumento en los niveles de haptoglobina que ocurre luego de la inflamación y daño tisular producto de cuadros de cojera, pueden ocurrir en respuesta a estos mediadores inflamatorios.

En relación a la medición de temperatura, podemos mencionar que se ha demostrado que este parámetro es un buen indicador clínico del curso y de la severidad de cuadros infecciosos bacterianos en vacas lecheras tales como: mastitis (Grönlund y col 2003; Milne y col 2003) y metritis post parto aguda (Hirvonen y col 1999); así como también de cuadros virales como infección experimental en cerdos con el virus PRRS (Asai y col 1999), ya que en ellos se observó que los animales presentaban marcadas alzas de temperatura en relación a los animales sanos.

En el presente estudio, se esperaba que los valores de temperatura aumentaran progresivamente en respuesta al proceso inflamatorio generado por los distintos grados de claudicación, ya que según Jordan (2005), la temperatura es un parámetro indicador de dolor. Sin embargo los valores de temperatura obtenidos, se mantuvieron en todos los grupos dentro de los valores de referencia para la especie, lo que concuerda con Cambridge y col (2000), quienes midieron temperatura rectal en gatos antes y después de realizar un procedimiento quirúrgico, y concluyeron que la medición de temperatura no resultó ser un buen indicador del dolor que experimentaban los animales.

Entre los estudios que difieren con los resultados reportados aquí podemos señalar a Pandiyan y col (2005), quienes practicaron una adrenelectomía unilateral en cabras observando un aumento en la temperatura rectal posterior a la cirugía, lo que se pudo deber al proceso inflamatorio involucrado con el trauma quirúrgico. Por otro lado, aumentos en el promedio de la temperatura rectal fueron encontrados en cerdos que cursaban con cojera, y a los que se les practicó corte de cola al compararlos con cerdos control (Petersen y col 2005).

La falta de cambios en los valores de temperatura obtenidos en este estudio, podría deberse a que las cojeras a pesar de ser condiciones muy dolorosas, habitualmente no comprometen el estado general de las vacas lecheras, siendo más bien procesos localizados a la zona de daño tisular. Además, según Kock y col (1987), la temperatura rectal se considera un criterio cuantitativo útil para evaluar el grado de estrés agudo, y las cojeras generalmente son afecciones de carácter crónico.

Los valores de frecuencia cardiaca en todos los grupos se encontraron sobre los rangos de referencia para la especie, lo que se pudo deber al estrés producto del manejo realizado, ya que según Grandin (1997), el ritmo de las pulsaciones cardiacas del bovino aumenta durante su inmovilización en una manga, así como también debido a instalaciones mal diseñadas. Rushen y col (1999), reportaron que el solo hecho de aislar a las vacas socialmente para realizar un manejo veterinario, aumenta su frecuencia cardiaca. Además, estos autores observaron, que vacas ordeñadas en presencia de un humano que previamente las había tratado cruelmente, aumentó su frecuencia cardiaca.

Según Morton y col (2005), la medición de frecuencia cardiaca puede indicarnos la magnitud del estrés y dolor que un animal puede sentir. Han sido reportados aumentos en la frecuencia cardiaca producto de procedimientos dolorosos tales como castración (Molony y Kent 1997; Tom y col 2002), adrenelectomía unilateral en cabras (Pandiyan y col 2005), vacas sometidas a corriente eléctrica (Reinemann y col 1999), inyección subcutánea de formalina (Houfflin-Debarge y col 2005), y marcaje con acero caliente y frío en vacas lecheras (Lay y col 1992). En el presente estudio, las vacas con grado 4 de claudicación mostraron valores de frecuencia cardiaca significativamente diferentes a los demás grupos, lo que se pudo deber además del estrés por manejo, al estrés generado por el dolor que sentían estos animales.

En relación a la frecuencia respiratoria se ha señalado que dolores intensos, provocan a menudo respiraciones superficiales y rápidas (Jordan 2005). Sin embargo, en este estudio se encontró que los valores aumentaron en forma similar por sobre los rangos de referencia en todos los grupos, lo que al igual que en la frecuencia cardiaca, se pudo deber al estrés por manejo.

Los resultados obtenidos en este estudio, no demostraron alteraciones concluyentes en la medición de las variables fisiológicas, lo que en general concuerda con diferentes autores que señalan que a pesar de que estos parámetros son frecuentemente usados para medir procesos dolorosos, tienen muchas variables que pueden interferir en su medición e interpretación tales como ruidos extraños o el estrés que involucra el manejo de los animales al momento del examen clínico, la toma de muestras o procedimientos de inmovilización,

aislamiento y contención (Torregrosa y Buguedo 1994, Molony y Kent 1997, Anil y col 2002, O'Callaghan 2002, Ramírez y col 2002). Por lo tanto se sugiere que en estudios futuros, para tener resultados mas certeros acerca de estas variables para la evaluación del dolor producto de claudicaciones, podrían usarse otros métodos de monitoreo de la frecuencia cardiaca y respiratoria tales como radio telemetría, monitoreo remoto o equipos especializados para este propósito; para evitar tener problemas en la interpretación de los datos y poder discriminar si los valores obtenidos son el resultado de estrés por manejo o si son efectivamente resultado del dolor. (Besch y col 1992, Lay y col 1992, Rushen y col 1999, Van Reenen y col 2002). Además, se sugiere que su medición se realice inmediatamente después de hacer caminar al animal cojo y exactamente en el momento en que se está aplicando el estímulo doloroso.

Conclusiones:

- El umbral de dolor determinado mediante la utilización de un dispositivo mecánico, fue más bajo en las vacas más severamente afectadas por claudicación, indicando un mayor estado de hiperalgesia en estos animales.
- Las concentraciones plasmáticas de haptoglobina, demostraron ser un buen indicador del grado de inflamación producido por los distintos grados de cojera.
- Los distintos grados de cojera no tuvieron un efecto significativo sobre las variables fisiológicas estudiadas en vacas en reposo. Solamente la frecuencia cardiaca mostró un aumento significativo en aquellos animales afectados por cojeras muy severas.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Algé V, J Cruz. 2001. El dolor en los pequeños animales: bases neuroanatómicas, reconocimiento y tratamiento. *Consulta Difus Vet* 9, 63-70.
- Alsemgeest S, F Jonker, M Taverne, H Kalsbeek, Th Wensing, E Gruys. 1995. Serum amyloid-a (SAA) and haptoglobin (HP) plasma concentrations in newborn calves. *Theriogenology* 43, 381-387.
- Alsemgeest S, G van 't Klooster, A van Miert, C Hulskamp-Koch, E Gruys. 1996. Primary bovine hepatocytes in the study of cytokine induced acute-phase protein secretion *in vitro*. *Vet Immunol Immunopathol* 53, 179-184.
- Ametaj B, B Bradford, G Bobe, R Nafikov, Y Lu, J Young, D Beitz. 2005. Strong relationships between mediators of the acute phase response and fatty liver in dairy cows. *Can J Anim Sci* 85, 165-175.
- Anil S, L Anil, J Deen. 2002. Challenges of pain assessment in domestic animals. *JAVMA* 220, 313-319.
- Asai T, M Mori, M Okada, K Uruno, S Yazava, I Shibata. 1999. Elevated serum haptoglobin in pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet Immunol Immunopathol* 70, 143-148.
- Berry S. 1999. Hoof health. *Western dairy management conference*, Las Vegas, Nevada, Estados Unidos, pp. 13- 17.
- Besch E, S Varosi, R Brigmon. 1992. Technical Note: A noninvasive procedure for measuring goat heart rates. *J Anim Sci* 70, 3371-3375.
- Briones I. 2004. La visión del FIA en relación al bienestar animal. *Resúmenes Seminario Producción Animal de calidad contemplando Bienestar Animal*, Valdivia, Pp. 78-84.
- Broom D. 2005. The effects of land transport on animal welfare. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 24, 683-691.
- Cambridge A, K Tobias, R Newberry, D Sarkar. 2000. Subjective and objective measurements of postoperative pain in cats. *JAVMA* 217, 685-690.
- Carstens E, G Moberg. 2000. Recognizing pain and distress in laboratory animals. *Ilar Jour* 41, 62-71.

- Cerón J, P Eckersall, S Martinez. 2005. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Pathol* 34, 85-99.
- Chan J, C Chu, H Fung, S Chuang, Y Lin, R Chu, S Lee. 2004. Serum haptoglobin concentration in cattle. *J Vet Med Sci* 66, 43-46.
- Clarkson M, D Downham, W Faull, J Hughes, F Manson, J Merritt, R Murray, W Russell, J Sutherst, W Ward. 1996. Incidence and prevalence of lameness in dairy cattle. *Vet Rec* 138, 563-567.
- Coderre T, J Katz. 1997. Peripheral and central hyperexcitability: differential signs and symptoms in persistent pain. *Behav Brain Sci* 20, 404-419.
- Conner J, P Eckersall, M Doherty, T Douglas. 1986. Acute phase response and mastitis in the cow. *Res Vet Sci* 41, 126-128.
- Conner J, P Eckersall. 1988. Bovine acute phase response following turpentine injection. *Res Vet Sci* 44, 82-88.
- Deignan T, A Alwan, J Kelly, J McNair, T Warren, C O'farrelly. 2000. Serum haptoglobin: an objective indicator of experimentally-induced *Salmonella* infection in calves. *Res Vet Sci* 69, 153-158.
- Deppe R. 1982. Enfermedades de las pezuñas del bovino. *VI jornadas clínicas en podopatología*, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile, Pp 30-88.
- Eckersall P, P Saini, C McComb. 1996. The acute phase response of acid soluble glycoprotein, alpha-1-acid glycoprotein, ceruloplasmin, haptoglobin and C-reactive protein, in the pig. *Vet Immunol Immunopathol* 51, 377-385.
- Eckersall P. 2000. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. *Revue Méd Vét* 151, 577-584.
- Farm Animal Welfare Council. 1997. Report on the welfare of dairy cattle. Surrey, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, England.
- Fransson R, T Spurgeon. 1995. Órganos de los sentidos. En: Fransson R, Spurgeon T (eds). *Anatomía y fisiología de los animales domésticos*. Pp. 172-179. McGraw-Hill interamericana 5th edición, México.
- Gabay C, I Kushner. 1999. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 340, 448-454.
- Galindo F, D Broom. 2002. The effects of lameness on social and individual behaviour of dairy cows. *J Appl Anim Welf Sci* 5, 193-201.

- García L, M Martínez, H González. 2001. Inflamación y dolor: cambios en el sistema nervioso periférico y central. *Medunab* 4, 1-14.
- Godson D, M Campos, S Attah-Poku, M Redmond, D Cordeiro, M Sehti, R Harland, L Babiuk. 1996. Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. *Vet Immunol Immunopathol* 51, 277–292.
- Gomezese O, H González. 2001. Dolor una mirada introductoria. *Medunab* 4, 1-6.
- González O, E González, R Toro, B Márquez. 1998. fisiopatología del dolor. *Rev Ven Anest.* 3, 26-33.
- Grandin T. 1997. Assessment of stress during handling and transport. *J Anim Sci* 75,249–257.
- Green L, V Hedges, H Schukken, R Blowey, A Packington. 2002. The impact of clinical lameness on the milk yield of dairy cows. *J Dairy Sci* 85, 2250-2256.
- Grönlund U, C Hulten, P Eckersall, C Hogarth, K Persson. 2003. Haptoglobin and serum amyloid A in milk and serum during acute and chronic experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis. *J Dairy Res* 70, 379–386.
- Heegaard P, D Godson, M Toussaint, K Tjørnehøj, L Larsen, B Viuff, L Rønsholt. 2000. The acute phase response of haptoglobin and serum amyloid A (SAA) in cattle undergoing experimental infection with bovine respiratory syncytial virus. *Vet Immunol Immunopathol* 77, 151–159.
- Herskin M, R Müller, L Schrader, J Ladewig. 2003. A laser-based method to measure thermal nociception in dairy cows: short-term repeatability and effects of power output and skin condition. *J Anim Sci* 81, 945-954.
- Hewson C. 2003. Can we assess welfare?. *Can Vet J* 44, 749-752.
- Hewson C. 2003. What is animal welfare? Common definitions and their practical consequences. *Can Vet J* 44, 496-499.
- Hirvonen J, G Huszenicza, M Kulcsár, S Pyörälä. 1999. Acute-phase response in dairy cows with acute postpartum metritis. *Theriogenology* 51, 1071-1083.
- Hiss S, S Knura-Deszczka, G Regula, M Hennies, S Gymnich, B Petersen, H Sauerwein. 2003. Development of an enzyme immuno assay for the determination of porcine haptoglobin in various body fluids: testing the significance of meat juice measurements for quality monitoring programs. *Vet Immunol Immunopathol* 96, 73–82.

- Horadoga N, K Knox, H Gibas, S Reid, A Horadagoda, S Edwards, P Eckersall. 1999. Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation. *Vet Rec* 144, 437-441.
- Houfflin-Debarge V, A Delelis, S Jaillard, B Larrue, P Deruelle, A Ducloy, F Puech, L Storme. 2005. Effects of nociceptive stimuli on the pulmonary circulation in the ovine fetus. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288,547-553.
- INE. Instituto Nacional de Estadísticas. 1997. VI Censo Nacional Agropecuario. Chile.
- Jordan B. 2005. Science-based assessment of animal welfare: wild and captive animals. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 24, 515-528.
- Kajikawa T, A Furuta, T Onishi, T Tajima, S Sugii. 1999. Changes in concentrations of serum amyloid A protein, α 1-acid glycoprotein, haptoglobin, and C-reactive protein in feline sera due to induced inflammation and surgery. *Vet Immunol Immunopathol* 68, 91-98.
- Kaneko J. 1997. Serum proteins and dysproteinemias. En: Kaneko JJ (ed). *Clinical Biochemistry of Domestic Animal*. Pp. 142-165. Editorial Academic Press 4th Ed. San Diego, U.S.A.
- Kent J. 1992. Acute phase proteins; their use in veterinary diagnosis (guest editorial). *Br Vet J* 148, 279-282.
- King A. 1987. Physiological and clinical anatomy of the domestic mammals. vol 1 central nervous system. Oxford science publications, Oxford, England.
- Kock M, R Clark, C Franti, D Jessup, J Wehausen. 1987. Effects of capture on biological parameters in free-ranging bighorn sheep (*ovis canadensis*): evaluation of normal, stressed and mortality outcomes and documentation of postcapture survival. *J Wildl Dis* 23, 652-662.
- Kogika M, D Pereira, F Elias, M Notomi, E Delayte, R Kawahara, M Hagiwara. 2003. Determinação sérica de haptoglobina, ceruloplasmina e -glicoproteína ácida em cães com gastroenterite hemorrágica. *Ciência Rural* 33, 513-517.
- Lee B. 2002. Managing pain in human neonates-applications for animals. *JAVMA* 221, 233-237.
- Lay D, T Friend, C Bowers, K Grissom, O Jenkins. 1992. A comparative physiological and behavioral study of freeze and hot-iron branding using dairy cows. *J Anim Sci* 70,1121-1125.
- Ley S, A Waterman, A Livingston. 1995. A field study of the effect of lameness on mechanical nociceptive thresholds in sheep. *Vet Rec* 137, 85-87.

- Ley S, A Waterman, A Livingston. 1996. Measurement of mechanical thresholds, plasma cortisol and catecholamines in control and lame cattle: a preliminary study. *Res Vet Sci* 2,172-173.
- Livingston A. 2002. Ethical issues regarding pain in animals. *JAVMA* 221,229-233.
- Logue D, D McNulty, A Nolan. 1998. Lameness in the dairy cow: pain and welfare. *Vet Jour* 156, 5-6.
- Main D, H Whay, L Green, A Webster. 2003. Effect of the RSPCA freedom food scheme on the welfare of dairy cattle. *Vet Rec* 153,227-231.
- Manson F, J Leaver. 1988. The influence of concentrate amount on locomotion and clinical lameness in dairy cattle. *Anim Prod* 47, 185-190.
- McNair J, D Kennedy, B Bryson, G Reilly, S McDowell, D Mackie. 1997. Evaluation of a competitive immunoassay for the detection of bovine haptoglobin. *Res Vet Sci* 63, 145-149.
- Martínez S, F Tecles, J Cerón. 2003. Critical differences of acute phase proteins in canine serum samples. *Vet Jour* 166, 233-237.
- Meyer K, J Scaife, H Galbraith. 1998. Hoof dimensional dynamics and incidence of lameness in Holstein cows before and after turnout to pasture from concrete cubicles or straw yards. *10th Int Symp on Lameness in Ruminants*, Lucerne, Switzerland, Pp. 49-50.
- Milne M, A Nolan, P Cripps, J Fitzpatrick. 2003. Preliminary results of a study on pain assessment in clinical mastitis in dairy cows. *Proceedings of the British Mastitis Conference*, Garstang, pp. 117-119.
- Molony V, J Kent. 1997. Assessment of acute pain in farm animals using behavioural and physiological measurements. *J Anim Sci* 75, 266-272.
- Morton C, J Reid, E Scott, L Holton, A Nolan. 2005. Application of a scaling model to establish and validate an interval level pain scale for assessment of acute pain in dogs. *AJVR* 66, 2154-2166.
- Muir W, C Woolf. 2001. Mechanisms of pain and their therapeutic implications. *JAVMA* 219, 1346-1356.
- Muir W, J Hubbell, R Skarda, R Bednarski. 2001. Dolor. En: Muir W, Hubbell J, Skarda R, Bednarski R (eds). *Manual de anestesia veterinaria*. Pp 302-308. Editorial Mosby. Usa.

- Murray R, Y Downham, M Clarkson, W Faull, J Hughes, F Manson, J Merritt, W Russell, J Sutherst, W Ward. 1996. Epidemiology of lameness in dairy cattle: Description and analysis of foot lesions. *Vet Rec* 138, 586-591.
- O'Callaghan K. 2002. Lameness and associated pain in cattle – challenging traditional perceptions. *In Practice* 24, 212-219.
- Ortega A, A Roca, J Micó. 2002. Modelos animales de dolor. Una visión crítica. *Rev Soc Esp Dolor* 9, 447-453.
- Pandiyan G, P Ghosh, B Das, P Das, S Sanyal. 2005. Studies on sodium and potassium metabolism and subsequent influence on electrocardiogram in unilaterally adrenalectomized black Bengal goat (*Capra hircus*). *J Vet Sci* 6, 273–278.
- Petersen H, J Nielsen, P Heegaard. 2004. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet Res* 35, 163–187.
- Petersen B, S Gymnich, J Nielsen, C Pineiro. 2005. The use of acute phase proteins in pig production. *5th International Colloquium on Animal Acute Phase Proteins*, Dublín, Pp.1-4.
- PhaseTMRRange. 2005. Co. Wicklow. Ireland. Tridelta Development Limited. Pp 1.
- Piñeiro M, M Alava, F Lampreave. 2003. Acute phase proteins in different species: a review. *fourth european colloquium on acute phase proteins*. Segovia, Spain, Pp. 77-82.
- Poetzsch C, V Collis, R Blowey, A Packington, L Green. 2003. The impact of parity and duration of biotin supplementation on white line disease lameness in dairy cattle. *J Dairy Sci* 86, 2577–2582.
- Ramírez N, S Molina, G Sierra, J Pareja. 2002. Prevalencia de niveles séricos de haptoglobina en bovinos adultos de 4 hatos de Antioquia. *Rev Col Cienc Pec* 15, 160-167.
- Reinemann D, M Rasmussen, L Sheffield, M Wiltbank, S LeMire. 1999. Dairy Cow Response to Electrical Environment Part I. Comparison of Behavioral to Physiological Responses, and, Part II. Comparison of Treatments Applied during Milking. *Report to the Minnesota Public Utilities Commission*, U.S.A. Pp. 1-24.
- Rivera L. 2001. Fisiología del dolor. *Canis Et Felis* 52, 11-37.
- Rojas H, L Stuardo, D Benavides. 2005. Políticas y prácticas de bienestar animal en los países de América: estudio preliminar. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 24, 549-565.
- Romera E, M Perena, M Perena, M Rodrigo. 2000. Neurofisiología del dolor. *Rev Soc Esp Dolor* 7, 11-17.

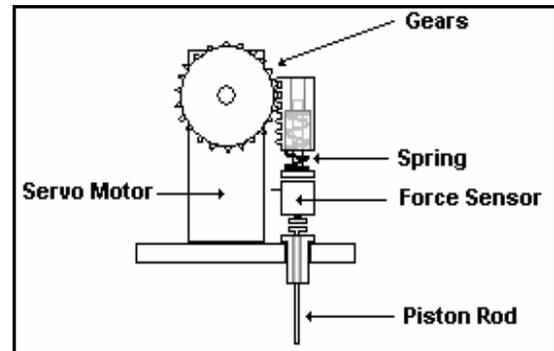
- Rong Ji R, T Kohno, K Moore, C Woolf. 2003. Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanisms?. *Trends Neurosci* 26, 696-705.
- Rushen J. 1996. Using aversion learning techniques to assess the mental state, suffering, and welfare of farm animals. *J Anim Sci* 74, 1990-1995.
- Rushen J, A De Passille, L Munksgaard. 1999. Fear of people by cows and effects on milk yield, behavior, and heart rate at milking. *J Dairy Sci* 82, 720-727.
- Saini P, M Riaz, D Webert, P Eckersall, C Young, L Stanker, E Chakrabarti, J Judkins. 1998. Development of a simple enzyme immunoassay for blood haptoglobin concentration in cattle and its application in improving food safety. *Am J Vet Res* 59, 1101-1107.
- Salonen M, J Hirvonen, S Pyörälä, S Sankari, M Sandholm. 1996. Quantitative determination of bovine serum haptoglobin in experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. *Res Vet Sci* 60, 88-91.
- Skinner J, R Brown, L Roberts. 1991. Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions. *Vet Rec* 128, 147-149.
- Somers J, K Frankena, E Noordhuizen-Stassen, J Metz. 2003. Prevalence of claw disorders in Dutch dairy cows exposed to several floor systems. *J Dairy Sci* 86, 2082-2093.
- Smaili N, B Smaili, D Baez, P Somaza, F Hurtado, N Smaili. 2004. Temas de revisión: manejo del dolor agudo en el postoperatorio. *MEDICRIT* 1, 118-125.
- Smith B, G Donovan, C Risco, C Young, L Stanker. 1998. Serum haptoglobin concentrations in Holstein dairy cattle with toxic puerperal metritis. *Vet Rec* 142, 83-85.
- Swanson J. 1995. Farm animal well-being and intensive production systems. *J Anim Sci* 73, 2744-2751.
- Sprecher D, D Hostetler, J Kaneene. 1997. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. *Theriogenology* 41, 1179-1187.
- Tadich N. 2004. Claudicaciones en la vaca lechera y su relación con el bienestar animal. *Resúmenes Seminario Producción animal de calidad contemplando Bienestar animal*, Valdivia, Pp. 32-39.
- Tadich N, E Hettich, G van Schaik. 2005. Prevalencia de cojeras en vacas de 50 rebaños lecheros del sur de Chile. *Arch Med Vet* 37, 29-36.
- Terranova M, G Laviola. 2004. Health-promoting factors and animal welfare. *Ann Ist Super Sanità* 40, 187-193.

- Tom E, I Duncan, T Widowski, K Bateman, K Leslie. 2002. Effects of tail docking using a rubber ring with or without anesthetic on behavior and production of lactating cows. *J Dairy Sci* 85, 2257–2265.
- Torres A, F Herrera, L Paéz, C Castillo. 2002. Analgesia preventiva. *Rev Ven Anest* 7, 15-26.
- Tranter W, R Morris. 1991. A case study of lameness in three dairy herds. *Nz Vet J* 39, 88-96.
- Torregrosa S. 1994. Mecanismos y vías del dolor. *Boletín Esc de Medicina*, Universidad de Chile. 23, 202-206.
- Torregrosa S, G Bugeo. 1994. Medición del dolor. *Boletín Esc de Medicina*, Pontificia Universidad Católica de Chile. 23, 155-158.
- Van der Tol P, J Metz, E Noordhuizen-stassen, W Back, C Braam, W Weijs. 2002. The pressure distribution under the bovine claw during square standing on a flat substrate. *J Dairy Sci* 85, 1476–1481.
- Van Reenen C, J Van der Werf, R Bruckmaier, H Hopster, B Engel, J Noordhuizen, H Blokhuis. 2002. Individual differences in behavioral and physiological responsiveness of primiparous dairy cows to machine milking. *J Dairy Sci* 85, 2551-2561.
- Vermunt J. 1992. “Subclinical” laminitis in dairy cattle. *Nz Vet J* 40, 133-138.
- Warnick L, D Janssen, C Guard, Y Gröhn. 2001. The effect of lameness on milk production in dairy cows. *J Dairy Sci* 84, 1988-1997.
- Waterman A. 2001. Analgesia. En: Seymour Ch, Gleed R (eds). *Manual de anestesia y analgesia en pequeños animales*. Pp 79-95. Edición española Industrias Gráficas Ferré Olsina, S.A. Madrid, España.
- Webster A. 2001a. Effects of housing and two forage diets on the development of claw horn lesions in dairy cows at first calving and in first lactation. *Vet J* 162, 56-65.
- Webster A. 2001b. Farm animal welfare: the five freedoms and the free market. *Vet J* 161, 229-237.
- Webster A. 2002. Effects of housing practices on the development of foot lesions in dairy heifers in early lactation. *Vet Rec* 151, 9–12.
- Wells S, L Ott, A Hillberg Seitzinger. 1998. Key health issues for dairy cattle—new and old. *J Dairy Sci* 81, 3029–3035.
- Whay H, A Waterman, A Webster. 1997. Associations between locomotion, claw lesions and nociceptive threshold in dairy heifers during the peri-partum period. *Vet J* 154, 155-161.

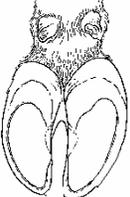
- Whay H, A Waterman, A Webster, J O'Brien. 1998. The influence of lesion type on the duration of hyperalgesia associated with hindlimb lameness in dairy cattle. *Vet J* 156, 23-29.
- Whay H. 2002. Locomotion scoring and lameness detection in dairy cattle. *In Practice* 24, 444-449.
- Whay H, D Main, L Green, A Webster. 2003. Assessment of the welfare of dairy cattle using animal based measurements: direct observations and investigation of farm records. *Vet Rec* 153, 197-202.
- Whay H, J Pritchard. 2004. Evaluando el bienestar de los équidos de trabajo en Afganistán. *Resúmenes seminario Producción animal de calidad contemplando Bienestar animal*, Valdivia, Pp. 63-67.
- Whitaker D, J Kelly, S Smith. 2000. Disposal and disease rates in 340 British dairy herds. *Vet Rec* 146, 363-367.
- Winkler C, S Willen. 2001. The reliability and repeatability of a lameness scoring system for use as an indicator of welfare in dairy cattle. *Acta Agric Scand Section A - Anim Sci* 51, 103-107.
- Wittum T, C Young, L Stanker, D Griffin, L Perino, E Littledike. 1996. Haptoglobin response to clinical respiratory tract disease in feedlot cattle. *Am J Vet Res* 57, 646-649.
- Young C, P Eckersall, P Saini, L Stanker. 1995. Validation of immunoassays for bovine haptoglobin. *Vet Immunol Immunopathol* 49, 1-13.
- Young C, T Wittum, L Stanker, L Perino, D Griffin, E Littledike. 1996. Serum haptoglobin concentrations in a population of feedlot cattle. *Am J Vet Res* 57, 138-141.

8. ANEXOS

Anexo 1. Descripción del dispositivo electrónico.



Anexo 2. Registro de lesiones.

N° vaca/ identidad	Sitio de lesión (place a cross)	Pie afectado (circle one only)	Grado Cojera (circle one)	Lesiones observadas (circle all appropriate, star * cause)	Fecha dd/mm/yy
		AI AD PI PD	Sana (0) Levemente coja (1) Coja (2) No apoya (3)	Úlcera solar Línea blanca Dermatitis Digital Foot rot Otra (mencionar).....	
		AI AD PI PD	Sana (0) Levemente coja (1) Coja (2) No apoya (3)	Úlcera solar Línea blanca Dermatitis Digital Foot rot Otra (mencionar).....	

		AI AD PI PD	Sana (0) Levemente coja (1) Coja (2) No apoya (3)	Úlcera solar Línea blanca Dermatitis Digital Foot rot Otra (mencionar).....	
--	---	-----------------------	---	---	--

Anexo 3. Valores individuales de Presión, Temperatura, Frecuencia cardíaca y Frecuencia respiratoria en vacas lecheras con grado de locomoción 0.

N° autocrotal	Presión	Temperatura	Frec. Cardíaca	Frec. Resp.
34	9,23	38,3	76	36
140	11,37	38	60	24
220	20,07	38,2	68	32
247	10,20	38	52	28
310	14,93	38	72	32
451	4,37	38,8	64	28
475	10,27	38,2	64	32
633	8,77	38,5	72	36
638	17,43	39,1	80	28
972	10,87	39,2	88	28
1010	16,30	38,8	72	32
1034	20,10	38,4	68	28
1065	15,90	38,2	64	32
1130	17,57	37,7	72	32

1136	8,67	38,5	64	32
1141	9,70	38,7	72	28
1154	15,80	38,3	72	32
1172	17,30	38,3	64	28
1173	7,97	38,7	68	28
1175	7,10	38,6	80	32
1198	20,00	38,5	76	24
1296	16,43	37,9	68	32
1358	13,77	38,3	60	40
1417	6,13	38,6	64	28
1566	11,27	38,4	84	32
1783	19,37	38,2	84	40
1801	9,23	38,4	64	28
1900	5,87	38,4	76	28
2088	13,60	38,9	100	44
2092	8,67	38,4	80	40
2111	14,17	38,8	64	32
2127	20,07	37,2	68	20
2140	19,10	38,9	64	32
2202	16,13	38,4	80	44
2354	14,73	38,5	68	28
2506	17,20	38,3	68	28
2665	19,17	38,6	80	40
2675	12,33	38,4	6	28
2794	10,60	38,7	72	28
3027	18,00	38,7	72	36
3079	17,27	38,4	84	32
4720	11,07	38	60	28
5009	20,10	39,2	80	40
5095	9,67	38,4	72	40

Anexo 4. Valores individuales de haptoglobina en vacas lecheras con grado de locomoción 0.

N° autocrotal	Haptoglobina
34	0,01
140	0
220	0
247	0,01
310	0,02
451	0
475	0
633	0
638	0,03
972	0,11
1010	0,03

1034	0,02
1065	0
1130	0,02
1136	0,12
1141	0,02
1154	0
1172	0
1173	0,01
1198	0,01
1296	0
1358	0,02
1417	0
1566	0,02
1801	0
1900	0,02
2092	0,02
2111	0
2127	0
2202	0,01
2140	0,01
3079	0
4720	0
5009	0,01
5095	0

Anexo 5. Valores individuales de Presión, Temperatura, Frecuencia cardiaca y Frecuencia respiratoria en vacas lecheras con grado de locomoción 1.

N° autocrotal	Presión	Temperatura	Frec. Cardiaca	Frec. Resp.
397	6,03	38,6	64	28
514	9,33	38,6	72	48
573	4,23	38,8	80	32
845	20,10	38,6	80	42
893	14,47	38,9	76	32
1053	14,57	38,3	60	32
1207	14,83	38,6	80	32
1272	11,23	39,1	76	36
1312	14,90	38,4	68	32
1414	16,03	37,9	68	32
1509	16,23	38,5	68	32
1535	8,50	38,4	68	48
2015	13,67	39,3	56	36
2131	17,10	38,8	88	84
2157	16,47	38,4	76	40
2335	19,73	38,4	60	28

2527	10,40	38,2	80	32
2826	19,43	38,4	64	32

Anexo 6. Valores individuales de haptoglobina en vacas lecheras con grado de locomoción 1.

N° autocrotal	Haptoglobina
397	1,1
514	0,02
573	0,01
845	0
893	0,14
1053	0,02
1207	0
1272	0,01
1312	0,02
1414	0,01
1509	0,03
1535	0,02
2015	0
2157	0,01
2335	0,01

Anexo 7. Valores individuales de Presión, Temperatura, Frecuencia cardiaca y Frecuencia respiratoria en vacas lecheras con grado de locomoción 2.

N° autocrotal	Presión	Temperatura	Frec. Cardiaca	Frec. Resp.
441	8,23	38,2	64	36
536	3,10	38,3	60	28
747	5,57	39,1	72	40
986	9,90	37,4	72	28
1021	6,47	38,4	80	44
1053	11,60	38,7	80	32
1111	11,97	38,4	80	64
1120	2,80	38,3	68	36
1188	6,30	38	64	32
1191	7,57	38,6	72	36
1244	3,93	38,2	76	28
1483	2,70	38,5	76	24
1522	6,97	37,9	64	40
1826	6,90	38,1	72	28
1849	10,47	38,5	84	36
2071	6,57	37,1	60	24
2085	8,97	38,9	68	24

2033	17,53	37,1	44	28
2088	10,77	38,7	92	40
2117	7,97	37,8	64	28
2306	13,63	38,4	68	48
2409	7,60	38,1	68	44
2676	19,03	38,6	68	28
2696	19,73	38,9	76	48
3098	16,30	38,4	64	28
5023	8,77	39,1	72	44
5064	11,57	38,6	68	32
9011	15,03	38,3	72	32

Anexo 8. Valores individuales de haptoglobina en vacas lecheras con grado de locomoción 2.

N° autocrotal	Haptoglobina
441	0,01
536	0
747	0,01
986	0
1021	0,05
1053	0,38
1111	0,52
1120	0,15
1188	0,01
1191	0,01
1244	0,02
1483	0
1522	0,01
1849	0
2071	0
2033	0
2117	0
2306	0,37
3098	0,3
5023	0,01
5064	0,39

Anexo 9. Valores individuales de Presión, Temperatura, Frecuencia cardiaca y Frecuencia respiratoria en vacas lecheras con grado de locomoción 3.

Nº autocrotal	Presión	Temperatura	Frec. Cardiaca	Frec. Resp.
51	13,30	38,5	64	28
125	19,27	38,5	80	40
626	20,10	38,9	64	28
740	18,07	39	72	30
1078	9,03	38,8	72	36
1244	4,13	38,3	68	36
1366	10,60	38,6	88	32
1471	7,33	39	84	48
1485	2,50	38,1	60	20
1549	4,33	38,5	72	36
1560	16,20	37,9	76	32
1792	10,70	38,7	68	32
1804	10,43	38,3	60	24
1852	1,53	38,9	80	32
1861	9,73	38,3	64	28
2050	5,93	38,9	80	40
2075	9,13	40	76	32
2136	5,13	37,8	72	28
2167	13,90	38,5	76	40
2174	13,87	38,6	80	44
2251	15,80	37,6	68	24
3031	6,90	38,5	60	36
5114	11,63	37,9	76	36

Anexo 10. Valores individuales de haptoglobina en vacas lecheras con grado de locomoción 3.

Nº autocrotal	Haptoglobina
51	0,01
125	0,02
626	0,16
740	0,56
1078	0,37
1366	0,02
1244	0,29
1471	0,26
1485	0
1549	0
1560	0,01
1792	0,01
1804	0,14
1852	0,01

1861	0,1
2050	0,29
2075	0,09
2136	0,01
2167	0,48
2251	0,64
5114	0,51

Anexo 11. Valores individuales de Presión, Temperatura, Frecuencia cardiaca y Frecuencia respiratoria en vacas lecheras con grado de locomoción 4.

Nº autocrotal	Presión	Temperatura	Frec. Cardiaca	Frec. Resp.
265	6,53	39,6	80	28
605	6,57	38,9	104	60
873	8,57	38,3	76	40
1127	8,80	39,7	80	36
1241	3,40	38,3	72	24
1288	4,60	39,3	84	68
1785	6,50	39,1	84	42
1805	13,03	37,3	92	12
2123	4,90	39,4	84	24
2160	14,83	38,6	76	40
2376	6,17	38,7	72	44
2388	15,70	38,5	72	24
2590	9,93	38,7	72	52
7255	10,83	39	72	20

Anexo 12. Valores individuales de haptoglobina en vacas lecheras con grado de locomoción 4.

Nº autocrotal	Haptoglobina
265	0,3
605	0,48
873	0,1
1241	0,45
1288	0,54
1785	1,14
1805	0,48
2123	0,28
2160	0,16
2388	0,35
7255	0,55

Anexo 13. Valores promedio y Desviaciones estándar de Presión, Temperatura, Frecuencia cardiaca, Frecuencia respiratoria y haptoglobina en vacas lecheras con grado de locomoción 0

	Presión	Temperatura	Frec. Cardiaca	Frec. Resp.	Haptoglobina
Promedio	13,59	38,43	70,14	31,82	0,01
D.E	4,58	0,38	13,32	5,38	0,03

Anexo 14. Valores promedio y Desviaciones estándar de Presión, Temperatura, Frecuencia cardiaca, Frecuencia respiratoria y haptoglobina en vacas lecheras con grado de locomoción 1.

	Presión	Temperatura	Frec. Cardiaca	Frec. Resp.	Haptoglobina
Promedio	13,74	38,57	71,33	37,67	0,09
D.E	4,58	0,33	8,70	12,98	0,28

Anexo 15. Valores promedio y Desviaciones estándar de Presión, Temperatura, Frecuencia cardiaca, Frecuencia respiratoria y haptoglobina en vacas lecheras con grado de locomoción 2.

	Presión	Temperatura	Frec. Cardiaca	Frec. Resp.	Haptoglobina
Promedio	9,57	38,31	70,29	35,00	0,11
D.E	4,73	0,51	9,01	9,21	0,17

Anexo 16. Valores promedio y Desviaciones estándar de Presión, Temperatura, Frecuencia cardiaca, Frecuencia respiratoria y haptoglobina en vacas lecheras con grado de locomoción 3.

	Presión	Temperatura	Frec. Cardiaca	Frec. Resp.	Haptoglobina
Promedio	10,42	38,53	72,17	33,13	0,19
D.E	5,30	0,51	7,95	6,68	0,21

Anexo 17. Valores promedio y Desviaciones estándar de Presión, Temperatura, Frecuencia cardiaca, Frecuencia respiratoria y haptoglobina en vacas lecheras con grado de locomoción 4.

	Presión	Temperatura	Frec. Cardiaca	Frec. Resp.	Haptoglobina
Promedio	8,60	38,81	80,00	36,71	0,44
D.E	3,83	0,63	9,28	15,95	0,28

Anexo 18. Frecuencias y porcentajes de presentación de las distintas patologías podales de acuerdo al grado de claudicación.

Lesiones	Erosión talón	Línea blanca	Doble suela	Ulceras	Laminitis	Rotación 3° falange	DD	DI	*Otras	Total
Frecuencias 1	7	7	7	3	4	3	2	0	3	36
Porcentajes	19,44%	19,44%	19,44%	8,33%	11,11%	8,33%	5,55%	0,00%	8,33%	100%
Frecuencias 2	8	15	12	12	9	5	7	3	14	85
Porcentajes	9,41%	17,64%	14,11%	14,11%	10,58%	5,88%	8,23%	3,52%	16,47%	100%
Frecuencias 3	5	7	6	16	5	2	4	4	14	63
Porcentajes	7,93%	11,11%	9,52%	25,39%	7,93%	3,17%	6,34%	6,34%	22,22%	100%
Frecuencias 4	2	2	2	12	1	1	3	3	9	35
Porcentajes	5,71%	5,71%	5,71%	34,28%	2,85%	2,85%	8,57%	8,57%	25,71%	100%

9. AGRADECIMIENTOS

Mis sinceros agradecimientos a quienes me ayudaron en la realización de este estudio:

- A mi profesor patrocinante, Dr Nestor Tadich, por su apoyo y orientación.
- A los trabajadores de las lecherías visitadas por su ayuda y disposición.
- A los docentes que me ayudaron con todas mis dudas.
- A mis queridos amigos: Sussy, Lalo, Yorka, Carolina, Claudia, Tania, Jorge, Pancho etc. Gracias por todos esos momentos y por estar ahí siempre. Y a Efrén Flor por su ayuda y amistad.