



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

“DETERMINACIÓN *IN VIVO*  
DE PARÁMETROS  
FERMENTATIVOS DE  
CONTENIDO CECAL EN  
CONEJOS CANULADOS POR  
DIFERENTES TÉCNICAS Y LA  
EVALUACIÓN DE ÉSTAS”

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRÍA EN CIENCIAS

PRESENTA:

**MARIBEL ANAYA LIRA**

TUTOR: DR. C. CARLOS GUTIÉRREZ OLVERA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA UNAM

COMITÉ TUTORAL: M. EN C. ADRIANA DUCOING WATTY  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA UNAM

DRA. LEONOR SANGINÉS  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRAN

MÉXICO, D.F. ENERO 2013



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **DEDICATORIA**

**A Luis quien siempre me ha impulsado y apoyado en todos los aspectos de mi vida**

**A mis papás Laura y Roberto; y a mi hermana Mariana por impulsarme siempre a crecer**

**A Adriana Ducoing por su paciencia y amistad**

## **AGRADECIMIENTOS**

A Maru por la ayuda, apoyo, consejos y amistad otorgados durante la realización de este proyecto.

A Tania, Paulina, Karina, Marcela, Salvador, Armin por el apoyo incondicional brindado para la realización del proyecto.

A Noemí y Ale por brindarme su amistad en todo momento

A la M en E Adriana M. Ducoing Watty por su apoyo brindado en la realización del proyecto

A mis tutores la Dra. Leonor Sanginés, y en especial al Dr. Carlos Gutiérrez

Al Dr. Carlos González, Meztli, Lulú, Tere, Sara y Rosy por la comprensión, apoyo y sobre todo la amistad brindada.

A la Dra. Anne Sisto por creer y confiar en mí

A Mtra. Rosa Ma. Castillo por su apoyo en la realización de la fase de laboratorio

La realización de este trabajo fue posible gracias a la beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y al financiamiento a través del proyecto PAPIIT IN216309.

## ÍNDICE

	<i><b>Página</b></i>
1. Introducción	1
1.1. Anatomía y fisiología digestiva del conejo	1
1.2. Función cecal	3
1.3. Principales productos obtenidos de la fermentación	5
1.4. Utilización de los ácidos grasos volátiles (AGV)	7
1.5. Utilización de la cánula en la investigación	9
2. Justificación	10
3. Hipótesis	11
4. Objetivos	12
4.1. Objetivo general	12
4.2. Objetivos específicos	12
5. Material	13
5.1. Fase quirúrgica	13
5.2. Obtención de Muestra de contenido cecal	16
5.3. Análisis de las muestras	16
5.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	18
5.4.1. Fase quirúrgica	18
5.4.2. Fase laboratorio	19
6. Métodos	20
6.1. Procedimiento quirúrgico	20
6.1.1. Preparación del Paciente	20
6.1.2. Método quirúrgico	20
7. Resultados	24
7.1. Etapa Quirúrgica	24
7.1.1. Fase 1	24
7.1.1.1. Adaptación a la cánula	24
7.1.1.2. Funcionalidad de la cánula	27
7.1.2. Fase 2	30
7.1.2.1. Adaptación de la cánula	30
7.1.2.2. Funcionalidad de la cánula	31
7.2. Etapa de laboratorio	34

8. Discusión	36
8.1. Fase quirúrgica	36
8.2. Fase laboratorio	38
9. Conclusiones	40
10. Referencias	41

## INDICE DE CUADROS

	<i>Página</i>
Cuadro 1. Tamaño de muestra de los grupos de estudio FASE 1	15
Cuadro 2. Tamaño de muestra de los grupos de estudio. FASE 2	16
Cuadro 3. FASE 1. Ganancia de peso promedio por día de conejos canulados en diferentes porciones del tracto gastrointestinal y con fijación de la cánula lateral	26
Cuadro 4. FASE 1. Número promedio de días de permanencia de las cánulas con fijación lateral	27
Cuadro 5. FASE 1. Número promedio de días de permanencia de tapones de cánulas con fijación lateral	28
Cuadro 6. FASE 1. Proporción de pérdida de tapones de cánulas con fijación lateral	29
Cuadro 7. FASE 1. Presencia o Ausencia de estenosis de las cánulas con fijación lateral.	30
Cuadro 8. FASE 2. Ganancia promedio por día de conejos canulados en 13ª asa cecal con cánula de silicón en diferentes lugares de fijación.	31
Cuadro 9. FASE 2. Número promedio de días de permanencia de tapones y de las cánulas de silicón colocadas en 13ª asa cecal en diferentes lugares de fijación.	32
Cuadro 10. FASE 2. Proporción de pérdida de tapones de las cánulas de silicón colocadas en 13ª asa cecal en diferentes lugares de fijación.	32
Cuadro 11. FASE 2. Presencia o Ausencia de prolapso y de estenosis de la 13ª asa cecal con la utilización de cánulas de silicón en diferentes lugares de fijación.	33
Cuadro 12. FASE 2. Obtención de contenido cecal a través de las cánulas de silicón en diferentes lugares de fijación	34
Cuadro 13. pH y concentración de ácidos grasos volátiles en contenido cecal obtenido in vivo y post mortem de conejos canulados.	35



Cuadro 14. Comparación de pH y concentración de ácidos grasos volátiles en contenido cecal obtenido post mortem de conejos control vs conejos canulados

35

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<i>Página</i>
Figura1. Tracto gastrointestinal del conejo	1
Figura 2. Ejemplificación de movimientos peristálticos y antiperistálticos del ciego.	2
Figura 3. Contribución bacteriana en la utilización de carbohidratos en el intestino	4
Figura 4. Mecanismo de transporte de AGV a través del epitelio	7
Figura 5 Cánula flexible de polietileno con tapón de polietileno	14
Figura 6 Cánula flexible de silicón grado médico con tapón de PVC con rosca	15
Figura 7 Abordaje quirúrgico	21
Figura 8 Incisión lateral	22
Figura 9 Incisión del órgano	24
Figura 10. Conejo con cánula	25

## RESUMEN

Con el objetivo de evaluar si la canulación a nivel cecal en conejos nueva zelanda blancos no altera los parámetros fermentativos como el pH y la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) del contenido cecal, así como la ganancia diaria de peso, se utilizaron 89 conejos, de los cuales se canularon un total de 55 conejos (33 adultos y 22 jóvenes), los cuales se asignaron aleatoriamente a los grupos de tratamiento definidos por la utilización del tipo de cánula (polietileno y silicón grado médico), por dos técnicas de fijación de cánula (ventral y lateral) y por el órgano canulado (13ª asa cecal y apéndice cecal). Los animales se pesaron diariamente para determinar la ganancia diaria de peso (GDP). A través de las cánulas se recolectaron muestras de contenido cecal por un periodo de 10 días, a las cuales se les determinó el pH y la concentración de AGV, comparándose posteriormente con contenido cecal obtenido de los mismos animales y sin canular (testigo) posterior al sacrificio. La cánula, de la cual se logró obtener contenido cecal, fue la de silicón con tapón de rosca y fijación lateral derecha. Con respecto a la GDP, en la fase 1, los animales canulados en apéndice cecal (32.4 g) mostraron mayor ganancia de peso ( $p < 0.05$ ) respecto al grupo control (20.5 g), lo cual se atribuye al crecimiento compensatorio; y en la fase 2 los animales canulados en 13ª asa cecal con fijación lateral presentaron menor ( $p < 0.05$ ) GDP (8.8 g) respecto al grupo testigo (28.63 g). En cuanto al pH y la concentración de AGV solo se encontró mayor ( $p < 0.05$ ) la concentración de ácido valérico en los valores promedio *in vivo* (0.47 mMol/g) respecto a los obtenidos *post mortem* (0.21 mMol/g) de los animales canulados, la cual puede deberse a la presencia de mayor actividad de microorganismos que realizan el proceso de fermentación de etanol-propionato. Se concluye que el mejor lugar de fijación de la cánula es de manera lateral con la utilización de la cánula de silicón en la 13ª asa cecal, así mismo que en los animales canulados, la GDP se mantuvo dentro de los rangos normales y no altera la producción de AGV y pH del contenido cecal de los animales.

**PALABRAS CLAVES:** Canulación, apéndice cecal, décimo tercer asa cecal, ácidos grasos volátiles

## ABSTRACT

With the aim of assessing whether the cecal cannulation in New Zealand white rabbits does not alter the fermentation parameters such as pH and the production of volatile fatty acids (VFA) in the cecal contents and daily weight gain, 89 rabbits were used, which were cannulated a total of 55 rabbits (33 adults and 22 young), which were randomly assigned to treatment groups defined by using the type of cannula (polyethylene and medical grade silicone), by two fixation techniques cannula (ventral and lateral) and the cannulated body (13th cecal and cecal appendix). Animals were weighed daily to determine average daily weight gain (DWG). Through the cannulas cecal contents samples were collected over a period of 10 days, which were analyzed for pH and VFA concentration, subsequently comparing cecal content obtained therefrom cannulated animals and without cannulas (control) after sacrifice. The cannula, which allowed obtaining cecal contents, was silicone with the screw top and right side mounting. With respect to the DWG, in phase 1, animals cannulated in cecal appendix (32.4 g) showed greater weight gain ( $p < 0.05$ ) than the control group (20.5 g), which is attributed to compensatory growth and in phase 2 cannulated animals in 13th cecal loop with lateral fixation had lower ( $p < 0.05$ ) DWG (8.8 g) compared to the control group (28.63 g). As the pH and VFA concentration was found only higher ( $p < 0.05$ ) valeric acid concentration *in vivo* average values (0.47 mMol / g) compared to those obtained *post mortem* (0.21 mMol / g) of animals cannulated, which may be due to the presence of higher activity of microorganisms performing the ethanol-propionate fermentation process. We conclude that the best place for fixing the cannula is laterally with the use of the cannula of silicone in the 13th cecal loop well, as in animals cannulated, the DWG remained within normal ranges and does not alter the VFA production and pH of cecal contents of animals.

Key words: Cannulation, cecal appendix, cecal thirteenth, volatile fatty acids

## 1. Introducción

### 1.1. Anatomía y Fisiología digestiva del conejo

El tracto gastrointestinal (Fig. 1) de los conejos es propio de un animal herbívoro no rumiante. Presenta dos grandes compartimentos que ocupan el 81 % del mismo (el estómago y el ciego), el estómago tiene capacidad de hasta 200 cc y se caracteriza por tener una musculatura débil; anatómicamente se distinguen dos sectores: la zona cardial o *fundus* de paredes finas y que actúa como reservorio y el antro pilórico con mucosa glandular y paredes más gruesas (Brotóns y Blasco, 2004)

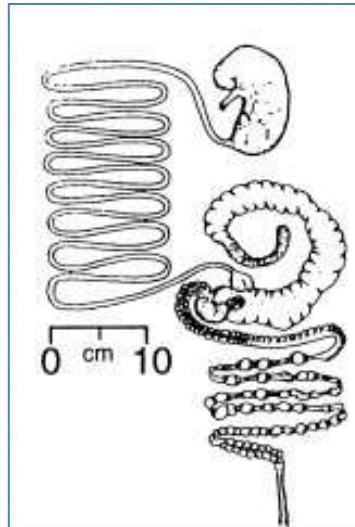


Fig.1. Tracto gastrointestinal del conejo, (Stevens y Hume, 1998)

El intestino delgado es similar al de otros herbívoros no rumiantes y mide alrededor de 3 mts. Al final de este órgano se encuentra la válvula ileocecal que juega un papel importante en el paso del contenido intestinal al ciego y colon. Hasta esta porción del sistema digestivo, el proceso de digestión de los alimentos es similar al de otros no rumiantes. Con respecto al intestino grueso se sabe que es parte fundamental en el proceso de digestión del conejo, ya que en este segmento se lleva a cabo la fermentación de la fibra contenida en la dieta. Este segmento se divide en ciego y colon (Gecele, 1986; Brotóns y Blasco, 2004).

El ciego, es el órgano más voluminoso y de mayor capacidad (250 a 600 cc) y mide alrededor de 40 cm; proporcionalmente este órgano en los conejos es de 5 a 6 veces mayor que la del caballo. Tiene forma sacular, de paredes delgadas y en su interior

presenta de 22 a 24 pliegues dispuestos en espiral que permiten un aumento de la superficie de absorción de nutrimentos. Termina en un gran apéndice, el cual secreta un líquido seroso rico en bicarbonatos y favorece la fagocitosis bacteriana. A través de cirugías experimentales se ha determinado que en el apéndice se produce vitamina B<sub>12</sub>, la cual se ve disminuida cuando se realizan apendicectomías (Brotóns y Blasco; 2004; Fortun-Lamonthe y Boullier, 2007).

Por su parte el colon se divide en una porción proximal de alrededor de 40 cm y con ondulaciones marcadas; posee una mucosa con un epitelio cilíndrico y con abundantes glándulas ramificadas. Esta primera porción del colon se delimita por el *fusus coli*, estructura que se caracteriza por ser una zona de transición del epitelio cilíndrico al cúbico y mide alrededor de 80 cm, tiene paredes lisas y una mucosa de células cúbicas rica en glándulas, cuya producción es la mucina (Brotóns y Blasco, 2004; Carabaño, *et al.*, 2005) En el colon proximal, gracias a movimientos peristálticos y antiperistálticos (Fig. 2) se produce el fraccionamiento de su contenido dando origen a la producción alternada de heces duras y heces blandas o cecotrofos. Éstos últimos pasan al colon distal para recubrirse de mucina y ser ingeridos directamente del ano y deglutidos sin pasar por el proceso de masticación. Este proceso de cecotrofia le permite al conejo incorporar proteína microbiana y vitaminas principalmente producidas en el ciego. Este órgano tiene condiciones adecuadas para crecimiento de una flora microbiana densa (del orden de 10<sup>10</sup> bacterias/g (McBee, 1970; Gecele, 1986; Carabaño, *et al.*, 2005) debido al tamaño, pH estable, anaerobiosis y a la entrada regular de nutrimentos.

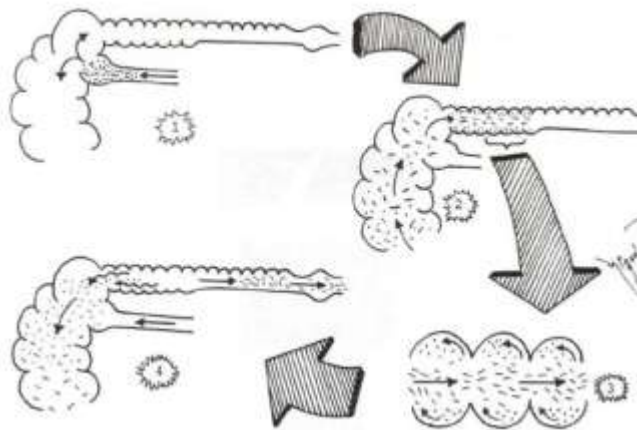


Fig. 2. Ejemplificación de movimientos peristálticos y antiperistálticos del ciego. Martínez, 2004.

## 1.2. Función cecal

Existe la tendencia a comparar el ciego del conejo con el rumen, fundamentalmente por las similitudes que existen en cuanto a su gran volumen (con respecto al resto de los compartimentos del sistema digestivo), su forma sacular y por la intensa actividad bacteriana que se desarrolla en ambos órganos; sin embargo, desde el punto de vista nutritivo, cinético y metabólico hay diferencias marcadas debido a su distinta localización en el sistema digestivo, lo que determina que el sustrato alimentario que llega a ellos sea muy diferente (Fortun-Lamonthe y Boullier, 2007).

En el caso del conejo, el ciego cuenta con un sistema en el que selecciona el tamaño de la partícula de la fibra, y un proceso que permite obtener hasta un 40% de la energía de mantenimiento que el animal requiere a través de la producción de ácidos grasos volátiles (AGV). También posee un mecanismo conocido como reflujo íleo-cólico-cecal, el cual ocurre cuando el alimento ingresa al intestino delgado y las contracciones musculares facilitan la separación de la fracción fibrosa por tamaño de la partícula y de acuerdo con la densidad; es allí donde una serie de movimientos peristálticos envían las partículas grandes de fibra hacia el colon, y a través de las olas antiperistálticas se envían hacia adelante el fluido y las partículas pequeñas de fibra al ciego, para su posterior fermentación y como resultado de ésta, la producción de ácidos grasos volátiles, los cuales se absorben en el epitelio cecal. Los componentes más fibrosos son expulsados del cuerpo aproximadamente cuatro horas después del consumo (heces duras o secas) (Bergman, 1990; Carabaño, *et al.*, 1997; Brotóns y Blasco, 2004).

Posterior a la fermentación, se forman pequeños bolos llamados cecotrofos que son expulsados y reconsumidos directamente desde el ano (cecotrofia) aproximadamente ocho horas posteriores al consumo inicial. Aparentemente, una respuesta neural o el fuerte olor de ácidos grasos volátiles del cecotrofo estimulan su consumo directamente desde el ano (Fig.3). La importancia de la realización de la cecotrofia radica en que bajo este proceso el conejo puede cubrir requerimientos diarios de Nitrógeno (N) (15 al 30%) y de energía (10 al 30%) (Irlbeck, 2001).

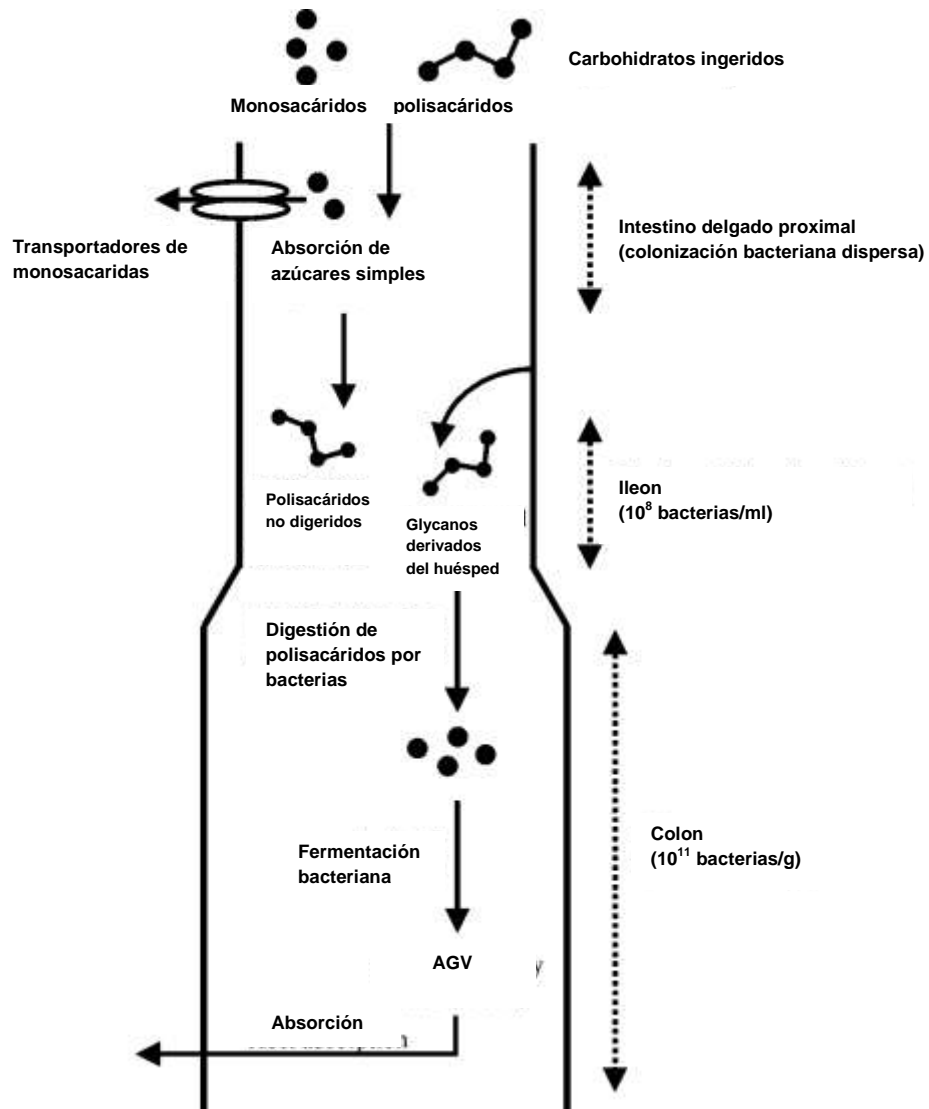


Fig. 3. Contribución bacteriana en la utilización de carbohidratos en el intestino, adaptado de (Hooper, *et al.*, 2002)



### **1.3. Principales productos obtenidos de la fermentación**

Con el fin de recuperar parte del valor nutricional de los polisacáridos degradados, los mamíferos herbívoros adaptaron mecanismos para la absorción y utilización de los monosacáridos liberados de los carbohidratos a través de la fermentación microbiana (von Engelhardt, *et al.*; 1998, Macfarlane y Macfarlane, 2003). En el lumen intestinal distal, la energía se extrae a través del piruvato obtenido de la fermentación microbiana, dando por resultado los AGV; después de la extracción de ATP microbiano, la producción de estos AGV representan del 60 al 75% de la energía proporcionada a través de todos los carbohidratos ingeridos (Vernay, 1987; von Engelhardt, *et al.*, 1998.)

Es importante considerar que en animales cuya fermentación es post gástrica, el alimento que ingresa al ciego, posee polisacáridos estructurales como constituyentes principales, los cuales no han sido afectados por la acción enzimática en la porción gastroentérica. Sobre este sustrato actúa la microflora cecal que presenta características variables según los distintos investigadores que la han estudiado. Esta población microbiana sufre cambios con la edad del animal, la presentación del alimento y el tipo de raciones (Bourget, *et al.*, 1987; von Engelhardt, *et al.*, 1998; Carabaño, *et al.*, 2005)

Para los microorganismos que constituyen la microflora intestinal, la fibra de los alimentos compuesta por los polisacáridos estructurales de los tejidos vegetales, como celulosa, hemicelulosa, pectina, xilosa y otros, son su principal fuente de energía (Macfarlane y Macfarlane, 2003; Fortun-Lamonthe y Boullier, 2007) La digestibilidad que posea esta fibra dependerá de la distinta proporción en que estén estos polisacáridos en la dieta, del grado de lignificación que presenten y del tamaño de partícula o granulometría. En el conejo la digestibilidad fluctúa entre un 15 a 30 %, lo que indica que esta actividad celulolítica es menor que la de los rumiantes o la de otros herbívoros no rumiantes como el caballo. (Udén y Van Soest, 1982; Rechkemmer, *et al.*, 1988; Bergman, 1990; Fortun-Lamonthe y Boullier, 2007)

La flora cecal de los conejos presenta dos características principales: una implantación rápida (hasta los 3 días de edad) y una composición relativamente simple (principalmente bacilos del género *Bacteroides*, los cuales son gram negativos, no esporulados)

(Bourget, *et al.*, 1987; Carabaño, *et al.*; 2005, Fortun-Lamonthe & Boullier, 2007). Se ha encontrado que las principales actividades bacterianas son la celulolítica, pectinolítica, ureolítica, proteolítica y aminolítica.

Los ácidos grasos volátiles (AGV) y amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) son los productos principales después de la fermentación de polisacáridos estructurales y aminoácidos, actividad metabólica por parte de las bacterias (Rechkemmer, *et al.*, 1988; von Engelhardt, *et al.*, 1998) El perfil de AGV cecal es específico para el conejo predominando el ácido acético (60 a 80 mmol/100 moles) seguido por butírico (8 a 20 mmol/100 moles) y el propiónico (3 a 10 mmol/100 moles); también se encuentran, aunque en menor proporción, los ácidos isovalérico, valérico y láctico, así como los gases Hidrógeno ( $\text{H}^+$ ),  $\text{CO}_2$  y metano, éste último carece de importancia biológica en los no rumiantes (Hoover y Heitmann, 1972; Henning & Hird, 1972; Allison, 1978; Rechkemmer, *et al.*, 1988; von Engelhardt, *et al.*, 1998; Bovera, *et al.*, 2008). Adjiri y colaboradores (1992) han demostrado, a través de estudios *in vitro*, que esta relación de AGV es específica para la flora cecal característica y no a la composición del sustrato fermentado; sin embargo la fermentación bacteriana varía de acuerdo con un ritmo diurno, el cual incluye una baja de concentración de AGV (<25%) durante el periodo de eliminación de heces duras en comparación con el de cecotrofia, donde se reporta un alto nivel de AGV (Bergman, 1990)

La concentración de AGV en el intestino grueso aumenta linealmente con el incremento de Fibra neutro detergente (FND) contenida en el alimento. En general, las dietas que contienen forrajes tienden a rendir una producción mayor del ácido acético, el que puede variar entre 60 y 75 %. (Bergman, 1990; Carabaño, *et al.*, 1997; Carabaño, *et al.*, 2005,)

En general la relación simbiótica comprende microorganismos como protozoos, bacterias y hongos, los cuales desempeñan un papel clave en la síntesis de aminoácidos esenciales y vitaminas; también son capaces de realizar una amplia gama de reacciones bioquímicas, transformaciones que resultan de la digestión de carbohidratos, proteínas y compuestos nitrogenados como la urea, bilirrubina y enzimas digestivas, los productos de finales de la fermentación pueden ser asimilados como nutrimentos o bien excretados (Allison, 1978; Macfarlane y Macfarlane, 2003).

#### 1.4. Utilización de los ácidos grasos volátiles (AGV)

Se ha reportado que el 95 % de los AGV se absorben en ciego y colon. Uno de los principales mecanismos de absorción es la difusión pasiva, la cual es lineal, es decir, el flujo y la velocidad de absorción es directamente proporcional a las concentraciones de AGV producidas. Este sistema de difusión ocurre cuando el ácido graso volátil es protonado por acción del hidrógeno ( $H^+$ ) intracelular resultado del intercambio iónico entre sodio ( $Na^+$ ) y  $H^+$ . Una vez que entra el ácido graso a la célula es transportado hacia torrente sanguíneo a través de la membrana vasolateral por medio de difusión en su forma protonada (Fig. 4). De manera alterna el ácido graso puede ser metabolizado intracelularmente dando como resultado la producción de  $CO_2$ . Se dice que la permeabilidad de los AGV en su forma iónica ocurre a través de las vías paracelulares. (Bugaut, 1987; Hatch y Geaghan, 1989; Bergman, 1990; Scheppach, 1994; Montrose y Chu, 1997; Shellin y De Soignie, 1998; von Engelhardt, *et al.*, 1998; Cunningham, 2009).

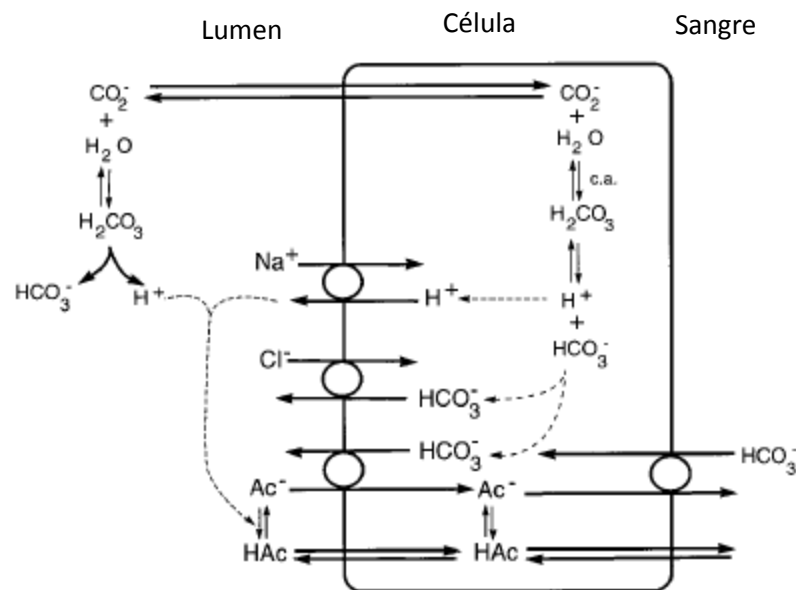


Fig. 4. Mecanismo de transporte de AGV a través del epitelio

El ácido butírico se metaboliza principalmente en el epitelio intestinal, donde se convierte en cuerpos cetónicos oxidados a  $CO_2$ ; a través de este mecanismo, el epitelio del colon obtiene un 60 a 70 % de sus necesidades de energía; se ha demostrado que el ácido butírico suprime la oxidación de la glucosa y promueve la proliferación epitelial y su

diferenciación (Rechkemmer, *et al.*, 1988; Hatch y Geaghan, 1989; Carabaño, *et al.*, 1997; von Engelhardt, *et al.*, 1998).

Por otra parte, el propionato es transportado al hígado a través de la vena porta, este elemento es un importante precursor de la gluconeogénesis, lipogénesis y para la síntesis de proteínas a través de la vía metilmalonil, vía metabólica por la cual se da la conversión del ácido graso en succinato y su respectiva oxidación en oxaloacetato, que a su vez es precursor de los aminoácidos: aspartato, metionina, glicina, serina y glutamato; los cuales serán utilizados para la gluconeogénesis y la síntesis de proteínas (Hatch y Geaghan, 1989) Se ha observado que la capacidad de absorción del intestino grueso para el propionato no disminuye con el aumento en la distancia de la unión cecocólica, es decir, la absorción es igualmente proporcional a lo largo de toda esta sección del tracto intestinal (Scheppach, 1994; von Engelhardt, *et al.*, 1998); sin embargo, se ha detectado que en conejos existen bajas concentraciones de este ácido graso en el torrente sanguíneo del colon, lo cual indica que los colonocitos utilizan al propionato para su metabolismo, evidencia de ello son los productos de dicho metabolismo (alanina, aspartato y glutamato,) encontrados en estas células (Hatch y Geaghan, 1989)

Es importante señalar que tanto la absorción y metabolismo del propionato y butirato guardan una relación estrecha entre AGV y cationes, donde la energía obtenida a partir de este metabolismo es utilizada para la transferencia de cationes a través del epitelio del intestino. El propionato que llega a torrente sanguíneo es utilizado en un 80 % en el hígado para llevar a cabo la gluconeogénesis (Hatch y Geaghan, 1989; Scheppach, 1994). En el caso de los conejos, a diferencia de los rumiantes, el propionato no se metaboliza en tejidos extra hepáticos.

En el caso del acetato, éste es absorbido principalmente por los tejidos periféricos como el músculo esquelético y cardíaco, así como por los adipocitos, en donde se favorece la lipogénesis. Se ha demostrado que tejidos con alta actividad de acetil-CoA, propanil-CoA, y butiril CoA sintetasas son capaces de metabolizar los AGV (Bugaut, 1987).

### **1.5. Utilización de la cánula en la investigación**

Para conocer cómo se utilizan los diferentes nutrimentos en el sistema digestivo de los herbívoros se requiere de un acceso fácil y permanente a los compartimentos donde ocurren las actividades más relevantes y específicas relacionadas con la digestión. Con el objeto de colocar o extraer muestras y realizar diferentes tipos de mediciones, se han desarrollado técnicas adecuadas de fistulación e implantación de cánulas utilizables en la mayor parte de los animales domésticos; pero, en el caso de los conejos, las descripciones de estos procedimientos son muy escasas e incompletas. (Parker y McMillan, 1976; Carman y Waynforth, 1984; Marty y Vernay, 1984; Cabrera, *et al.*, 2000. Blas, *et al.*, 2003)

La canulación a nivel cecal permite estudios directos sobre la microflora presente en el ciego y sobre la fermentación que llevan a cabo estos microorganismos; además permite la evaluación de la producción de diversos metabolitos como el amonio y los ácidos grasos volátiles (que ahí se producen y se absorben), así como la presencia de vitaminas producidas por dichos microorganismos y los cambios de pH debidos a los diferentes componentes de la dieta (Gidenne y Bellier, 1992; Cabrera, *et al.*, 2000; Hernández Sánchez y Cobos Peralta, 2001; Gidenne, *et al.*, 2002).

A través de la canulación en el tracto gastrointestinal se puede mostrar el efecto de la dieta, edad y condición animal sobre la digestibilidad de aminoácidos y otros nutrimentos y permite el seguimiento de productos enzimáticos e inóculos en el tubo digestivo evaluando su desempeño de una forma directa. Otra ventaja importante que proporciona la canulación, es la posibilidad de tomar varias muestras de un mismo animal a diferentes tiempos y durante un tiempo prolongado (Harmon y Richards, 1997).

En conejos se han realizado estudios de canulación en ileon (evaluación de digestibilidad) (Blas, *et al.*, 2003) y ciego (con el fin de medir la actividad microbiana a través de la cuantificación de ácidos graso volátiles), aunque en la mayoría de los estudios realizados sobre fermentación cecal se ha utilizado material tomado de animales recién sacrificados, extrapolando los resultados a la situación *in vivo*, de ahí la importancia del empleo de cánulas a este nivel, con el propósito de obtener muestras de material cecal directamente del animal con un mínimo de alteraciones en el funcionamiento normal del tubo digestivo.

## **2. Justificación**

El uso de las técnicas quirúrgicas permite el acceso a las secciones del tracto gastrointestinal de los animales sin que afecte su salud. En diferentes especies animales (monogástricos y rumiantes) se han utilizado un gran número de técnicas en esófago, estómago e intestinos (delgado y grueso) mediante la utilización de cánulas elaboradas de plástico o cristal (Furuya, *et al.*, 1979; Cabrera, *et al.*, 2000; Dihigo, *et al.*, 2008).

La canulación a nivel del ciego permite la obtención del contenido cecal para la realización de estudios directos sobre la microflora presente, además de la fermentación que llevan a cabo estos microorganismos y de la evaluación de la producción de diversos metabolitos como el amonio y los ácidos grasos volátiles; así como la presencia de vitaminas producidas por dichos microorganismos, permitiendo también evaluar los cambios de pH producidos por los diferentes componentes de la dieta.

### **3. Hipótesis**

La utilización de cánulas de polietileno y silicón grado médico permitirá la obtención de contenido cecal a través de ellas. Su uso no modificará la ganancia diaria de peso, ni los parámetros de fermentación (pH y concentración ácidos grasos volátiles) del contenido cecal de conejos Nueva Zelanda.

## **4. Objetivos**

### **4.1. Objetivo general**

Evaluar el tipo de cánula y el lugar de su fijación (apéndice cecal y décimo tercer asa cecal) en animales jóvenes y adultos; así como la utilización de las cánulas para la obtención de contenido cecal *in vivo* y sus características de fermentación a través del pH y los ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) en conejos canulados.

### **4.2. Objetivos específicos**

1. Evaluar la utilización de cánulas a nivel de apéndice cecal y décimo tercer asa cecal para estudiar las características de fermentación en conejos *in vivo*.
2. Evaluar el tiempo de permanencia de cánulas a nivel de apéndice cecal y décimo tercer asa cecal.
3. Evaluar el tipo de cánula y lugar de fijación de las cánulas a nivel de apéndice cecal y décimo tercer asa cecal.
4. Evaluar la ganancia diaria de peso en conejos canulados alimentados con dieta comercial.
5. Determinar las características de la fermentación cecal (pH, concentración de ácidos grasos volátiles) del contenido obtenido a través de las cánulas para conocer su funcionalidad.



## 5. Material y Métodos

### 5.1. Fase quirúrgica

Todos los procedimientos de manejo de las aves cumplieron con los requisitos señalados por el Comité institucional para el cuidado y uso de los animales experimentales (CICUAE- FMVZ-UNAM con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999).

Se utilizaron 89 conejos, hembras nueva Zelanda, de las cuales 55 fueron adultas (>4 meses de edad con peso promedio de 2.42 kg) y 34 juveniles (2 y 3 meses de edad con peso promedio de 1.6 kg) los cuales estuvieron alojados en jaulas individuales de 45cm x 60cm x 40cm, se les proporcionó agua a libre acceso y 200 g de alimento comercial para conejo (Conejina N® Purina) (Bergaoui, *et al.*, 2008)

El alimento se sometió a los análisis químico proximal (AQP) y fracciones de fibra Van Soest mediante la técnica que marca el AOAC (Kenneth H, 1990), dicho alimento contenía 91.06 % de materia seca, 13.7 % de proteína cruda, 17 % de fibra cruda, 46 % de elementos libres de nitrógeno, 3.05 % de extracto etéreo y 9.12 % de cenizas, 44.05 de fibra detergente neutra (FDN) y 30.03 de fibra detergente ácida (FAD)<sup>1</sup>.

La selección de los conejos se realizó observando su estado de salud y comportamiento antes de someterse al periodo de ayuno, además se evitó que los animales seleccionados presentaran patologías como hernias, problemas podales, parasitosis interna y externa o dermatomicosis, problemas gastrointestinales, entre otros, ésto con la finalidad de disminuir complicaciones durante el proceso quirúrgico y después en su recuperación.

El estudio se llevó acabo en dos fases; en la primera se utilizaron conejas adultas y se formaron cuatro grupos, a los cuáles se les practicó la canulación a diferentes niveles utilizando dos tipos de cánulas diferentes: cánulas de polietileno (Fig. 5), y cánulas de silicón grado médico (Fig. 6). La descripción de los grupos de estudio y su tamaño de muestra se observan en el cuadro 1.

---

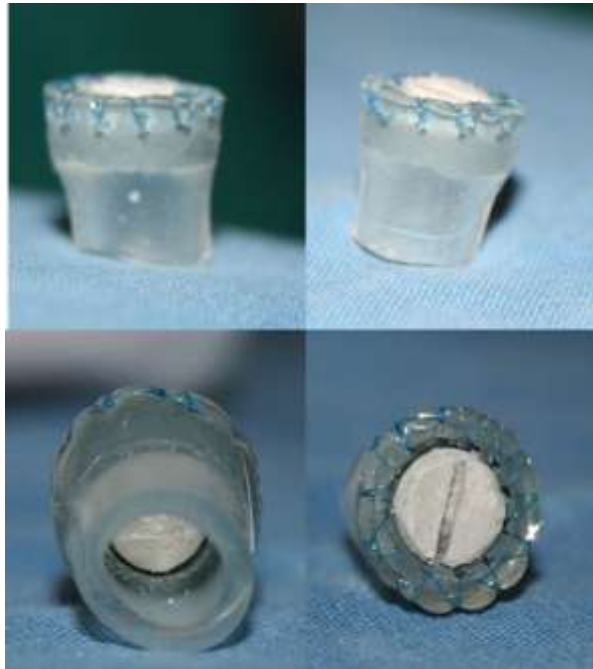
<sup>1</sup> Estos análisis se realizaron en el laboratorio de Bromatología del Depto. De Nutrición Animal y Bioquímica de la FMVZ, UNAM.

De acuerdo con los resultados obtenidos de la evaluación de las cánulas de la primera fase, se eligió la cánula de silicón (Fig. 6) por haber dado mejores resultados, es decir, se logró obtener muestra de contenido cecal, para ser evaluada en animales jóvenes de 1.5 kg de peso vivo promedio (segunda fase). En este caso se formaron tres grupos; se asignaron aleatoriamente 12 conejos jóvenes para ser canulados en 13ª asa cecal con cánula de silicón y con fijación externa en línea media (grupo 1), 10 conejos jóvenes, que se canularon en 13ª asa cecal utilizando cánula de silicón y con fijación externa lateral (grupo 2), y 12 conejos que se utilizaron como control (grupo 3) (Cuadro 2). La técnica de fijación externa en línea media se utilizó con la finalidad de disminuir el traumatismo quirúrgico provocado por la realización de dos incisiones

La evaluación de la cánula se realizó, por una parte, a través de la adaptación del animal a la cánula midiendo la ganancia diaria de peso, y por otra parte, mediante la funcionalidad de la misma a través de diferentes variables: la obtención de contenido cecal a través de la cánula, el tiempo de permanencia de la cánula y sus tapones, la presencia de estenosis de la cánula, prolapso del órgano canulado, la pérdida de tapones y el edema post quirúrgico provocado por la cánula, categorizándolo en: leve < 72 hrs, moderado o grave  $\geq$  72 hrs.



**Fig. 5** Cánula flexible de polietileno con tapón de polietileno; cuyas medidas son: Diámetro del disco interno 0.4cm, Diámetro del disco externo 0.7cm, diámetro de la tapa de cierre 0.4cm, diámetro de la abertura útil de la cánula 0.4cm, espesor total de la cánula 2.5cm.



**Fig. 6** Cánula flexible de silicón grado médico con tapón de PVC con rosca; cuyas medidas son: Diámetro del disco interno 0.8cm, Diámetro del disco externo 1.3cm, diámetro de la tapa de cierre 0.8cm, diámetro de la abertura útil de la cánula 0.8cm, espesor total de la cánula 1.3cm.

**Cuadro 1. Tamaño de muestra de los grupos de estudio  
FASE 1**

Tratamiento	N
Grupo 1 13 <sup>a</sup> asa cecal, cánula de polietileno, fijación lateral.	11
Grupo 2 Apéndice cecal, cánula de polietileno, fijación lateral.	11
Grupo 3 13 <sup>a</sup> asa cecal, cánula de silicón, fijación lateral.	11
Grupo 4 Testigo	22

**Cuadro 2. Tamaño de muestra de los grupos de estudio**  
**FASE 2**

Tratamiento	N
Grupo 1	
13 <sup>a</sup> asa cecal, cánula de silicón, fijación en línea media.	12
Grupo 2	
13 <sup>a</sup> asa cecal, cánula de silicón, fijación lateral.	10
Grupo 3	
Testigo	12

### 5.2. Obtención de Muestra de contenido cecal

Se utilizaron 11 conejas previamente canuladas (grupo 3, Fase 1) y 11 conejas como testigo (grupo 4, Fase 1), las cuales se mantuvieron en las condiciones antes descritas. A través de la cánula se recolectaron muestras de contenido cecal de todos los animales, diariamente a las 10:00 am durante un periodo de 10 días, bajo condiciones de *pre prandium*. Estas muestras se colocaron en tubos Eppendorf® de 2 ml con tapón de rosca (sin conservador para ácidos grasos volátiles), se identificaron y se guardaron en congelación (-20 °C) hasta su análisis. Pasado el tiempo de recolección de muestras todos los animales, de los grupos 3 y 4, se sacrificaron por el método de desnucamiento (NOM-033-ZOO-1995, Pinheiro, *et al.*, 2009) para obtener el ciego, el cual se guardó en bolsas de polietileno y se mantuvieron en congelación (-20 °C) hasta su análisis.

### 5.3. Análisis de las muestras

En el laboratorio de Microbiología Ruminal del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, las muestras de contenido cecal se diluyeron 1:5 con agua desmineralizada, se centrifugaron a 3000 rpm a 2 °C por 30 min posteriormente se midió el pH del sobrenadante (con potenciómetro marca Hanna instruments® pH211) (Pinheiro, *et al.*, 2009). Terminada la medición, con la ayuda de una micropipeta, se decantaron 400 µl del sobrenadante a viales cromatográficos, se adicionaron 10 µl de ácido píválico al 1 % y se mantuvieron en

congelación (-20 °C) hasta su análisis cromatográfico para cuantificar la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV).

El análisis cromatográfico se llevó a cabo en el laboratorio del Departamento de Nutrición Animal del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Para el análisis se utilizó un cromatógrafo de gases marca Varian 3400Cx, con detector de ionización de flama (FID) y una columna de polietilenglicol JW® DBFAP de 30 m de largo, con diámetro de 0.25 mm y 0.25 µm de fase estacionaria, se realizó un programa de temperatura de 100 a 210°C. Se inyectó 1 µl de la dilución previamente preparada; el ácido pivalico se utilizó como estándar interno (Bellier, R. y Gidenne, T., 1996)

## 5.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

### 5.4.1. Fase quirúrgica

Para el análisis de la adaptación del animal a la cánula, medida a través de la ganancia diaria de peso, se realizó un análisis de varianza para un diseño completamente al azar de un factor, con cuatro niveles para la fase 1 (tratamiento 1: canulación lateral en 13a asa cecal con cánula de polietileno, tratamiento 2: canulación lateral en apéndice cecal con cánula de polietileno, tratamiento 3: canulación lateral en 13° asa cecal con cánula de silicón y tratamiento 4: grupo testigo) y con tres niveles para la fase 2 (tratamiento 1: Canulación en línea media en 13a asa cecal con cánula de silicón, tratamiento 2: Canulación lateral en 13a asa cecal con cánula de silicón y tratamiento 3: grupo testigo) . Se utilizó la prueba de Welch debido a la heterogeneidad de las varianzas y la prueba de Dunnet T3 para las comparaciones múltiples. (Dunnet, 1980; Dunnet, 1982; Saez, *et al.*, 1994; Zar, 1999) El modelo para ambas fases es:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  : es la ganancia de peso del conejo j del tratamiento i

$\mu$  : media general de la ganancia de peso

$\tau_i$  : efecto del tratamiento i

$\epsilon_{ij}$  : error del conejo j del tratamiento i

El análisis de la funcionalidad de la cánula a través de las variables: permanencia de las cánulas y sus tapones se llevó a cabo mediante un análisis de varianza (ANDEVA) de un diseño de un solo factor con cuatro niveles para la fase 1 y con 3 niveles para la fase 2 cuyo modelo es similar al anterior. . Para el caso específico de la permanencia en días de los tapones en la fase 1, se realizó el análisis utilizando la prueba de Welch debido a la presencia de varianzas heterogéneas y la prueba de Dunnet T3 para las comparaciones múltiples. (Dunnet, 1980; Dunnet, 1982)

Para el caso de las variables pérdida de tapones, presencia de estenosis de la cánula, presencia de prolapso del órgano canulado a través de la cánula, el edema post quirúrgico y la obtención de líquido se utilizó la prueba exacta de Fisher (Everitt, 1977) debido a que la aproximación a la ji cuadrada de la prueba de bondad de ajuste de

Pearson no pudo utilizarse debido a que el número de celdas con frecuencias esperadas menores de 5 fue superior al 20%.

#### 5.4.2. Fase laboratorio

Para evaluar si existió diferencia en el pH entre los días y la concentración de ácidos grasos volátiles del contenido cecal obtenido *in vivo*. Se realizó un análisis a través del tiempo utilizando el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + S_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$ : valor de la respuesta para el conejo  $j$  en el tiempo  $i$ .

$T_i$ : efecto del tiempo  $i$ ,  $i = 1, \dots, 6$

$S_j$ : efecto del conejo  $j$  aleatorio  $j = 1, \dots, 11$

$\varepsilon_{ij}$ : error o residual del conejo  $j$  en el tiempo  $i$

La comparación entre los valores promedio de pH y la concentración de ácidos grasos volátiles *in vivo* y *post mortem* de los conejos canulados del grupo 3 Fase 1, se realizó a través de una comparación de medias para observaciones pareadas mediante la T de Student.

Para realizar la comparación *post mortem* de los valores de pH y la concentración de ácidos grasos volátiles entre los conejos canulados y los controles, se utilizó un análisis de varianza de un solo factor con dos niveles para cada una de las mediciones obtenidas (pH, ácido acético, propiónico, isobutírico, butírico, isovalérico, valérico, isocaproico, caproico, heptanoico) en los dos grupos de tratamiento cuyo modelo es:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$ : respuesta estudiada en el conejo  $j$  del tratamiento  $i$   $j = 1, \dots, n_i$   $i = 1, 2$

$\mu$ : media general de la respuesta estudiada

$\tau_i$ : efecto del tratamiento  $i$

$\varepsilon_{ij}$ : error del conejo  $j$  del tratamiento  $i$

## **6. Métodos**

### **6.1. Procedimiento quirúrgico**

#### **6.1.1. Preparación del Paciente**

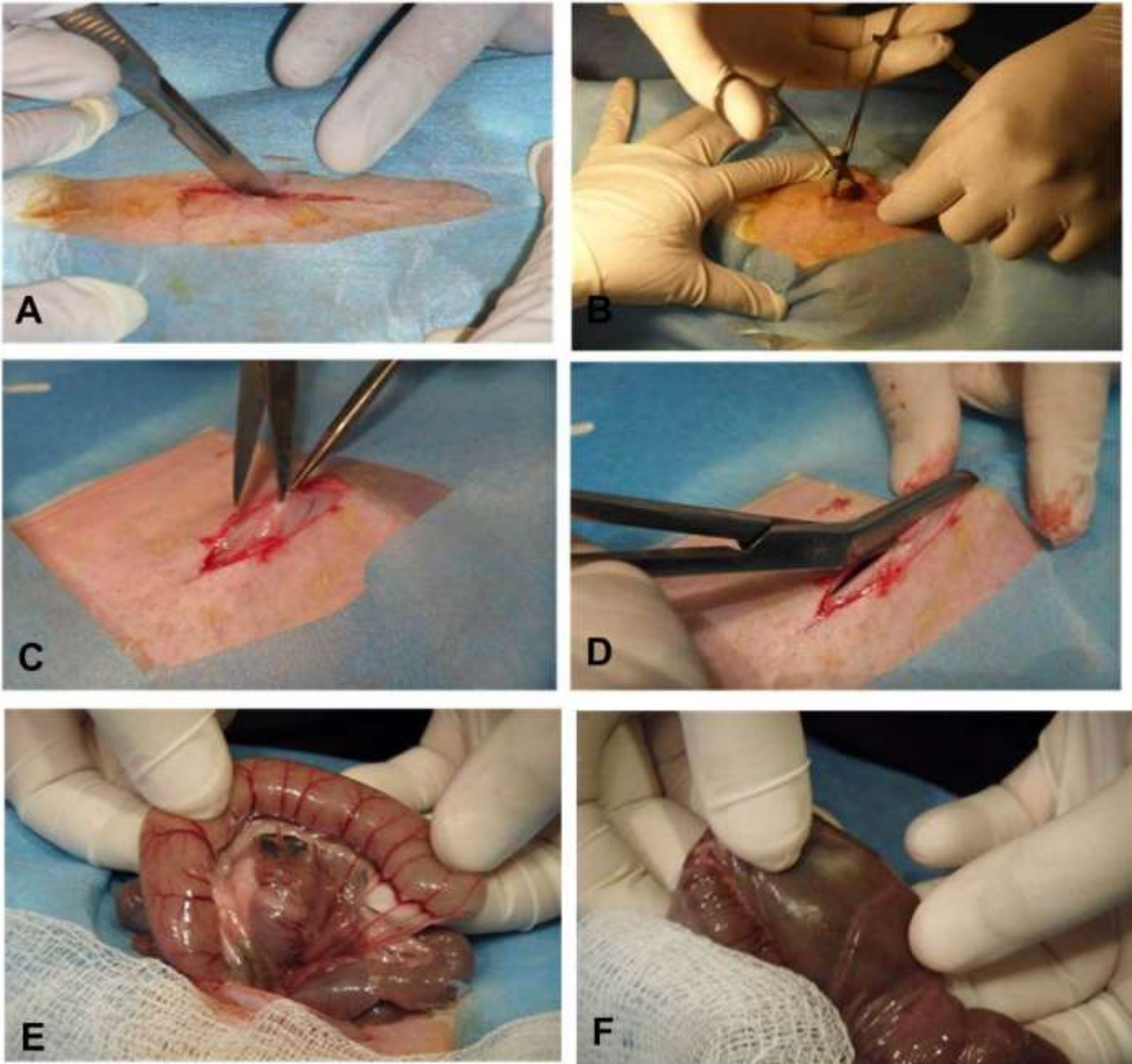
Los procedimientos quirúrgicos se realizaron en los quirófanos de la Unidad de Investigación Quirúrgica del Hospital Juárez de México y se utilizó un quirófano con las condiciones de asepsia requeridos, y con el instrumental preciso previamente esterilizado. Los animales se mantuvieron en ayuno por 24 h. Se tranquilizaron con Xilacina intramuscular (i.m.) en dosis de 5 mg por kilo de peso, y se anestesiaron con Ketamina i.m. en dosis de 30 mg por kilo de peso. La zona de abordaje (línea media) y la zona de colocación de la cánula se depilaron y desinfectaron (povidona yodada) y se procedió a infiltrar localmente con lidocaína (2 %), en forma de anillo, los planos cutáneos y musculares.

#### **6.1.2. Método quirúrgico**

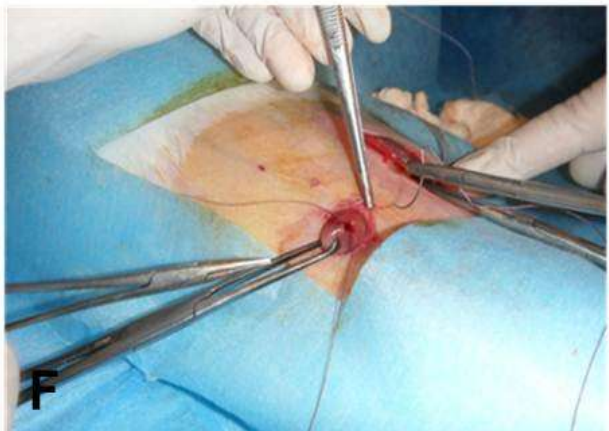
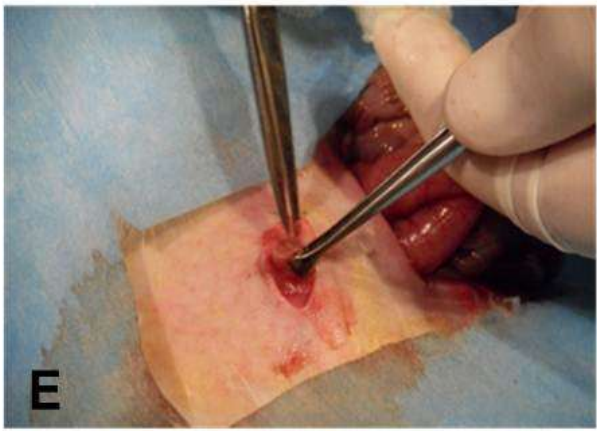
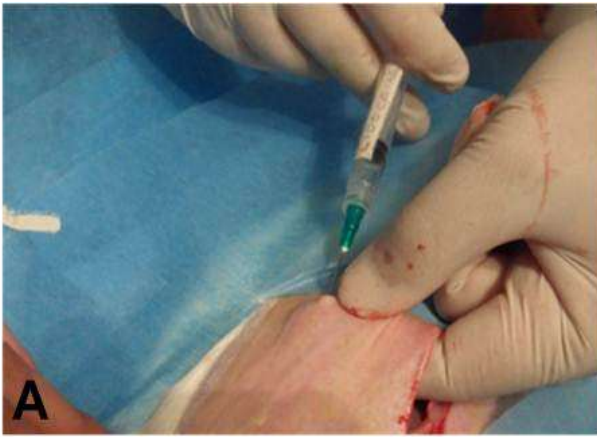
Los animales se operaron en la posición de decúbito dorsal sobre una mesa; una vez logrado el nivel de inconsciencia y analgesia local deseada, se procedió a incidir la piel con bisturí en línea recta de 5 cm de largo aproximadamente para luego abrir el plano subcutáneo empleando disección roma con pinzas hasta exponer línea alba. El acceso a la cavidad abdominal se realizó con un corte sobre ésta; posteriormente se localizó el órgano a fistulizar (Fig. 7).

La fijación lateral de los dos tipos de cánulas se realizó en el punto central de la base de un triángulo formado por el extremo ventral del décimo tercero arco costal, el extremo del proceso transversal de la quinta vértebra lumbar y la articulación coxofemoral (la fijación de la cánula del ciego en su treceava asa cecal se ubicó en el flanco izquierdo y para el apéndice cecal se ubicó en el flanco derecho). Una vez localizado dicho lugar, se procedió a incidir la piel con bisturí en línea recta horizontal de 1.5 cm aproximadamente para después abrir los planos musculares abdominales correspondientes (oblicuo abdominal externo, oblicuo abdominal interno) y la fascia transversa empleando disección roma con tijeras; de igual manera se procedió a la abertura del peritoneo por donde se expuso ligeramente (<1 cm) el órgano (Fig. 8). En el caso de la fijación ventral de la cánula en la treceava asa cecal del ciego coincidió con la incisión ventral.





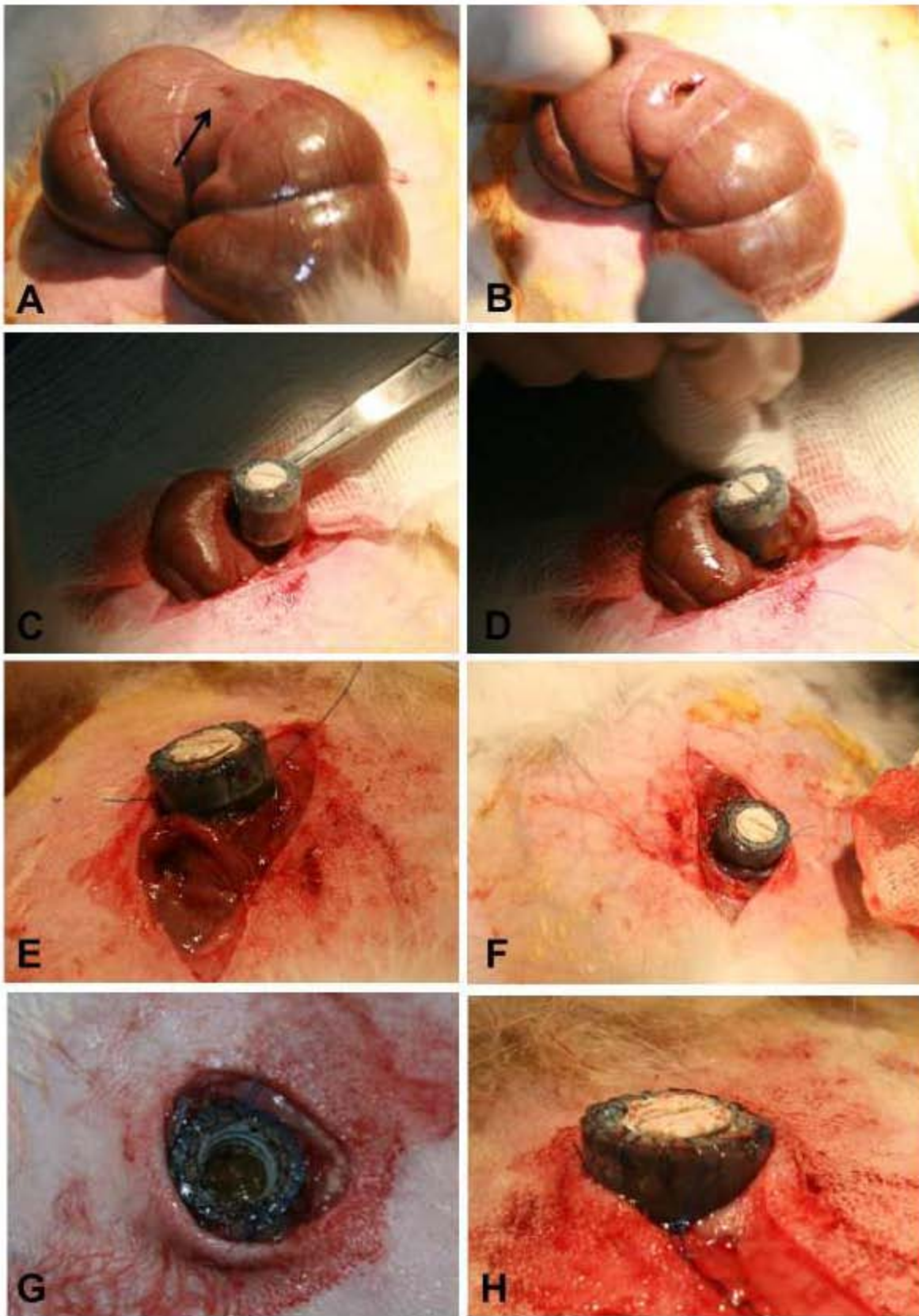
**Fig. 7** Abordaje quirúrgico (A, B, C, D); apéndice cecal E, ciego F



**Fig. 8** Incisión lateral (A, B, C, D); exposición del órgano E, fijación del órgano F

Para fijar el compartimento a la piel en su posición definitiva se realizó una sutura no perforante empleando hilo de polipropileno 5-0 con un punto en "U" que traspasaba piel, peritoneo y pared del compartimento, para salir atravesando peritoneo y piel nuevamente (comprometiendo peritoneo visceral y musculatura, sin entrar a la mucosa), cuidando de mantener la posición normal de cada compartimento en relación con la abertura en la pared abdominal. Completada esta etapa se procedió a incidir el órgano mediante una pequeña incisión y ampliándola con disección roma, seguida de la colocación de la cánula, la cual se hizo pasar por la abertura del órgano. Para fijar la cánula al órgano, músculo y piel en su posición definitiva se realizó una sutura empleando hilo de polipropileno 5-0 con surgete continuo derecho que traspasaban cada plano y la cánula; esto para asegurar el cierre hermético de la pared abdominal; concluida la fijación de la cánula al órgano y al plano muscular se corroboró el acceso a la luz del órgano a través de la cánula (Fig. 9). Posterior a esta etapa se procedió a cerrar línea media con puntos de candado, en tejido subcutáneo se utilizó Cushing como patrón de sutura; ambas suturas se realizaron con hilo de ácido poliglicólico 3-0; la piel se cerró con puntos candado con hilo de nylon 3-0. En la figura 10 se muestra la cánula en el conejo.

Como manejo postoperatorio se administró antibióticos i.m. durante 6 días y antiinflamatorios i.m. durante 3 días; al séptimo día se procedió a remover los puntos de línea media.



**Fig. 9** Incisión del órgano **A**, ampliación de la incisión **B**, colocación y fijación de la cánula al órgano **C**, **D**, **E**; verificación del acceso a la luz del órgano donde se observa el contenido cecal **G**; fijación de la cánula a la piel **F**.

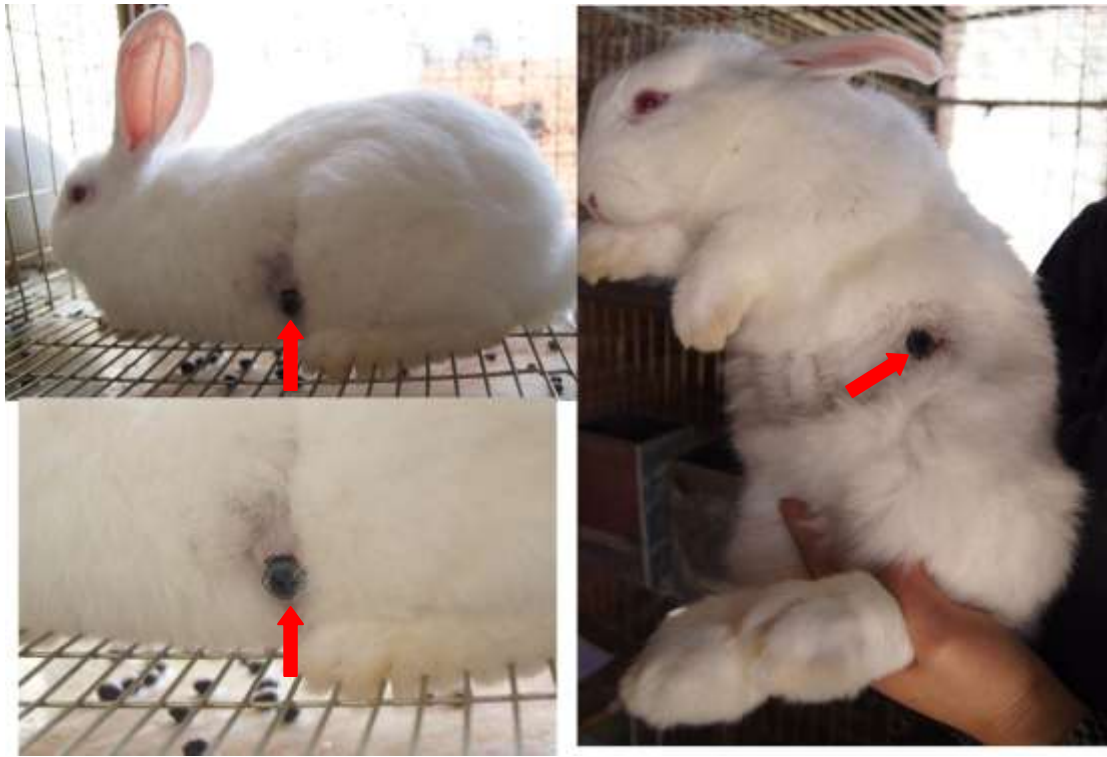


Fig 10. Conejo con cánula (→)

## 7. Resultados

### 7.1. Etapa Quirúrgica

Las conejas respondieron en buena forma a todo el procedimiento quirúrgico, ninguna presentó complicaciones postquirúrgicas. Su nivel de sedación y anestesia fueron logrados en un tiempo promedio de 10 a 20 minutos y la profundidad fue adecuada. Ningún animal presentó hemorragias de importancia al abrir los planos musculares, las cánulas se adaptaron muy bien a sus respectivas fístulas, sin que se presentara fuga de contenido, así mismo los animales no presentaron rechazo postoperatorio de las cánulas.

#### 7.1.1. Fase 1

##### 7.1.1.1. Adaptación a la cánula

Se encontraron diferencias entre el grupo 2 y el grupo 4 (testigo). La ganancia de peso promedio fue mayor para el grupo con cánula (grupo 2) que para el testigo (20.5g) ( $p < 0.05$ ) Cuadro 3.

**Cuadro 3. FASE 1. Ganancia de peso promedio por día de conejos canulados en diferentes porciones del tracto gastrointestinal y con fijación de la cánula lateral**

Tratamiento	N	g	DE
<b>Grupo 1</b> 13 <sup>a</sup> asa cecal, cánula de polietileno.	11	26.1 <sup>ab</sup>	7.9
<b>Grupo 2</b> Apéndice cecal, cánula de polietileno,	11	32.4 <sup>b</sup>	6.1
<b>Grupo 3</b> 13 <sup>a</sup> asa cecal, cánula de silicón	11	20.0 <sup>ab</sup>	18.5
<b>Grupo 4</b> Control	22	20.5 <sup>a</sup>	8.2

Literales diferentes en columna indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ )  
DE= desviación estándar

### 7.1.1.2. Funcionalidad de la cánula

En la permanencia en días de las cánulas no se encontraron diferencias entre los tratamientos ( $p>0.05$ ), las medias por mínimos cuadrados y sus errores estándar se muestran en el Cuadro 4.

Respecto de la permanencia en días de tapones (Cuadro 5) el grupo 3 (13a asa cecal, cánula de silicón) retuvieron en promedio (9.91 días) los tapones por más tiempo que los grupos 1(13<sup>a</sup> asa cecal, cánula de polietileno) y 2 (Apéndice cecal, cánula de polietileno) (2.27 y 3.09 días respectivamente) ( $p<0.05$ )

**Cuadro 4. FASE 1. Número promedio de días de permanencia de las cánulas con fijación lateral**

Tratamiento	días
Grupo 1 13 <sup>a</sup> asa cecal, cánula de polietileno,	16.0
Grupo 2 Apéndice cecal, cánula de polietileno,	13.3
Grupo 3 13a asa cecal, cánula de silicón,	12.6
EE 1.28	

EE = error estándar

**Cuadro 5. FASE 1. Número promedio de días de permanencia de tapones de cánulas con fijación lateral**

Tratamiento	N	días	DE
<b>Grupo 1</b> 13a asa cecal, cánula de polietileno,	11	2.2 <sup>a</sup>	0.7
<b>Grupo 2</b> Apéndice cecal, cánula de polietileno,	11	3.0 <sup>a</sup>	0.9
<b>Grupo 3</b> 13a asa cecal, cánula de silicón,	11	9.9 <sup>b</sup>	5.9
<b>Total</b>	33	5.0	4.8

Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).  
DE = desviación estándar

En la fase 1 el 100% de los conejos que tuvieron la cánula de polietileno en apéndice cecal (Grupo 2) perdieron el tapón, por lo que únicamente se analizó si la proporción de conejos que perdieron los tapones en el grupo con la cánula de polietileno (Grupo 1) era superior a la proporción de conejos que perdieron el tapón con la cánula de silicón (Grupo 3) obteniéndose que en el grupo con la cánula de polietileno la proporción de animales que perdieron el tapón fue superior (81.8 %) a la proporción de animales que lo perdieron en el grupo con la cánula de silicón (36.4 %) ( $p < 0.05$ ) (Cuadro 6). A pesar de las pérdidas de tapones no se presentó prolapso de los órganos canulados para ninguno de los conejos en tratamiento.



**Cuadro 6. FASE 1. Proporción de pérdida de tapones de cánulas con fijación lateral**

	Pérdida de tapón		Sin pérdida de tapón		TOTAL
	n	%	n	%	n
<b>Grupo 1</b>					
13a asa cecal, cánula de polietileno,	9	81.8 <sup>a</sup>	2	18.2	11
<b>Grupo 3</b>					
13a asa cecal, cánula de silicón	4	36.4 <sup>b</sup>	7	63.6	11

Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ )

Al evaluar la comunicación hacia el interior del órgano a través de la cánula se encontró que el 100 % de los conejos del grupo 2 presentaron estenosis de la cánula; por lo que únicamente se analizó si existían diferencias entre los grupos con cánula de polietileno y silicón en 13<sup>a</sup> asa cecal (Cuadro 7). Aunque la diferencia de los porcentajes es muy grande en la ausencia de estenosis entre los grupos 1 y 3 (18.2 y 45.4% respectivamente), no se encontró diferencia entre los grupos ( $p > 0.05$ ).

Aunque se presentó estenosis de la cánula fue posible la extracción de líquido en el 100 % de los conejos del grupo 3, lo cual contrasta con los conejos del grupo 1 y 2, a los cuales (100 %) no se les pudo extraer líquido; debido a esta contundencia fue imposible la construcción de algún modelo estadístico.

**Cuadro 7. FASE 1. Presencia o Ausencia de estenosis de las cánulas con fijación lateral.**

	Presencia		Ausencia		TOTAL
	n	%	n	%	n
<b>Grupo 1</b>					
13a asa cecal, cánula de polietileno,	9	81.8	2	18.2	11
<b>Grupo 3</b>					
13a asa cecal, cánula de silicón,	6	54.5	5	45.4	11

Con respecto a la evaluación del edema postquirúrgico, los resultados obtenidos por cada animal intervenido, mostraron que el 100% de los conejos canulados con cánula de silicón presentó edema leve, mientras que los 24 conejos cuya cánula fue de polietileno, presentaron edema de moderado a severo; en virtud de lo anterior no fue posible la construcción de un modelo estadístico.

### 7.1.2. Fase 2

Es de importancia mencionar que el tamaño de muestra del grupo 2 se redujo a 9 animales, debido a la muerte súbita post quirúrgica de un ejemplar, el cual a la necropsia no presentó evidencias de peritonitis secundaria a la cirugía.

#### 7.1.2.1. Adaptación de la cánula

Los resultados obtenidos en la ganancia diaria de peso se muestran en el (Cuadro 8), donde se observa que la mayor ganancia diaria de peso la obtuvieron los animales del grupo testigo (28.6g) en comparación con el grupo de fijación lateral (8.8g) ( $p < 0.05$ )

**Cuadro 8. FASE 2. Ganancia promedio por día de conejos canulados en 13ª asa cecal con cánula de silicón en diferentes lugares de fijación.**

	<b>n</b>	<b>(g)</b>	<b>DE</b>
Grupo 1 fijación en línea media.	12	20.5 <sup>ab</sup>	19.5
Grupo 2 fijación lateral.	9	8.8 <sup>b</sup>	19.1
Grupo 3 Testigo	12	28.6 <sup>a</sup>	9.1

Literales diferentes en columna indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ )  
DE= desviación estándar

#### **7.1.2.2. Funcionalidad de la cánula**

No se encontraron diferencias en el número de días que permanecieron las cánulas y sus tapones (Cuadro 9), ni entre la proporción de conejos que perdieron el tapón entre los grupos de conejos canulados (Cuadro 10) ( $p > 0.05$ ).

Se presentó la estenosis de la cánula en un 25 % en el grupo 1 y en un 33.3 % en el grupo 2 (Cuadro 11) no encontrando diferencia entre los tratamientos ( $p > 0.05$ ). A pesar de la presencia de estenosis de la cánula fue posible la extracción de contenido en el 100 % de los conejos del grupo 2, existiendo una diferencia significativa ( $p < 0.003$ ) con el grupo 1 (Cuadro 12). Es de importancia resaltar que en ambos grupos el edema postquirúrgico presentado por cada animal intervenido fue de la categoría leve (<72 hrs). A pesar de que en promedio se perdieron los tapones de las cánulas entre los 8.22 y 10.5 días post cirugía (Cuadro 9), la cánula continuó siendo funcional, es decir, se presentaba la salida de líquido a través de ella; sin embargo, se prolapso el órgano canulado en un 83.3% en los animales del grupo 1; este problema no se observó en ningún conejo del grupo 2 (Cuadro 11) ( $p < 0.0001$ ).

**Cuadro 9. FASE 2. Número promedio de días de permanencia de tapones y de las cánulas de silicón colocadas en 13ª asa cecal en diferentes lugares de fijación.**

Tratamiento	n	Canulas	Tapones
		$\bar{x} \pm ee$	$\bar{x} \pm ee$
<b>Grupo 1</b>			
Fijación en línea media	12	16.6 $\pm$ 2.18	10.5 $\pm$ 1.96
<b>Grupo 2</b>			
Fijación lateral	9	12.5 $\pm$ 2.52	8.22 $\pm$ 2.27

EE= error estándar

**Cuadro 10. FASE 2. Proporción de pérdida de tapones de las cánulas de silicón colocadas en 13ª asa cecal en diferentes lugares de fijación**

	Pérdida de tapón		Sin pérdida de tapón		TOTAL
	n	%	n	%	n
<b>Grupo 1</b>					
Fijación en línea media.	7	58.3	5	41.7	12
<b>Grupo 2</b>					
Fijación lateral.	4	44.4	5	55.6	9

**Cuadro 11. FASE 2. Presencia o Ausencia de prolapso y de estenosis de la 13<sup>a</sup> asa cecal con la utilización de cánulas de silicón en diferentes lugares de fijación.**

<b>prolapso</b>					
	<b>Presencia</b>		<b>Ausencia</b>		<b>TOTAL</b>
	n	%	n	%	n
<b>Grupo 1</b>					
Fijación en línea media.	10	83.3 <sup>a</sup>	2	16.7	12
<b>Grupo 2</b>					
Fijación lateral.	0	0 <sup>b</sup>	9	100	9
<b>estenosis</b>					
<b>Grupo 1</b>					
Fijación en línea media.	3	25.0	9	75.0	12
<b>Grupo 2</b>					
Fijación lateral.	3	33.3	6	66.7	9

Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.0001$ )

**Cuadro 12. FASE 2. Obtención de contenido cecal a través de las cánulas de silicón en diferentes lugares de fijación.**

	Posible		No posible		TOTAL
	n	%	n	%	n
<b>Grupo 1</b>					
Fijación en línea media.	4	33.3 <sup>a</sup>	8	66.7	12
<b>Grupo 2</b>					
Fijación lateral.	9	100 <sup>b</sup>	0	0	9

Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.003$ )

### 7.2. Etapa de laboratorio

En los resultados obtenidos de la evaluación de contenido cecal *in vivo* a través del tiempo (Cuadro 13), no se encontraron diferencias en los valores de pH y concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) ( $p > 0.05$ ) por lo que los análisis subsecuentes se realizaron con los promedios por día.

Al realizar la comparación de los valores obtenidos del promedio por día de pH y concentración de AGV *in vivo* con los resultados obtenidos del análisis *post mortem* de los mismos conejos (grupo 3, Fase 1), únicamente se encontró que la concentración promedio de ácido valérico presentó diferencias ( $p < 0.05$ ). (Cuadro 13).

En lo referente a la comparación de los valores de pH y concentración de AGV obtenidos *post mortem* de los conejos canulados (grupo 3, Fase 1) y los del grupo control (grupo 4, Fase 1), no se encontrarán diferencias. (Cuadro 14).

**Cuadro 13. pH y concentración de ácidos grasos volátiles en contenido cecal obtenido *in vivo* y *post mortem* de conejos canulados.**

	<i>In vivo</i>			<i>Post mortem</i>		
	Promedio	DE		Promedio	DE	
pH	7.14 <sup>a</sup>	0.41		6.97 <sup>a</sup>	0.147	
	mMOL/g		%	mMOL/g		%
Concentración total de AGV	39.35			31.96		
Acético	28.63 <sup>a</sup>	14.93	72.76	23.34 <sup>a</sup>	11.14	73.03
Propiónico	3.37 <sup>a</sup>	2.17	8.56	2.71 <sup>a</sup>	1.7	8.48
Isobutírico	0.47 <sup>a</sup>	0.43	1.19	0.34 <sup>a</sup>	0.27	1.06
Butírico	5.12 <sup>a</sup>	3.27	13.01	3.17 <sup>a</sup>	1.14	9.92
Isovalerico	0.65 <sup>a</sup>	0.48	1.65	1.03 <sup>a</sup>	0.95	3.22
Valerico	0.47 <sup>a</sup>	0.36	1.19	0.21 <sup>b</sup>	0.11	0.66
Isocaproico	0.22 <sup>a</sup>	0.23	0.56	0.1 <sup>a</sup>	0.09	0.31
Caproico	0.25 <sup>a</sup>	0.26	0.64	0.09 <sup>a</sup>	0.13	2.94
Heptanoico	0.17 <sup>a</sup>	0.13	0.43	0.12 <sup>a</sup>	0.10	0.38

Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) AGV = ácidos grasos volátiles. DE= desviación estándar

**Cuadro 14. Comparación de pH y concentración de ácidos grasos volátiles en contenido cecal obtenido *post mortem* de conejos control vs conejos canulados**

	canulados	EE		control	EE	
pH	6.97	0.05		6.97	0.05	
	mMol/g		%	mMol/g		%
Concentración total de AGVs	31.96			30.34		
Acético	23.34	3.30	73.03	22.81	3.30	75.18
Propiónico	2.71	0.39	8.48	2.57	0.39	8.47
Isobutírico	0.34	0.24	1.06	0.52	0.24	1.71
Butírico	3.17	0.60	9.92	3.50	0.60	11.54
Isovalerico	1.03	0.20	3.22	0.49	0.20	1.62
Valerico	0.21	0.04	0.66	0.19	0.04	0.63
Isocaproico	0.1	0.02	0.31	0.07	0.02	0.23
Caproico	0.094	0.04	2.94	0.10	0.04	0.33
Heptanoico	0.12	0.02	0.38	0.09	0.02	0.30

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ), AGVs = ácidos grasos volátiles. EE= error estándar de la media

## 8. Discusión

### 8.1. Fase quirúrgica

La adaptación de un animal de producción a las condiciones ambientales y fisiológicas a las cuales es sometido se puede medir a través de indicadores zootécnicos tales como la GDP, la cual al ser positiva, indica un bienestar animal adecuado, ya que cuando es pobre o negativo se reduce la capacidad de crecimiento (Thomas, *et al.*, 2004; Xiccato y Trocino, 2005; Hernández, 2008). En este estudio, en fase 1, se observó que los 4 grupos presentan una GDP promedio positiva en un rango de 20.0 g hasta los 32.4 g, valores que se encuentran dentro de lo mencionado por Nieves (2001). El grupo 2, presentó una GDP promedio (32.4g) 58% superior a la del grupo testigo, lo cual se debió posiblemente a un crecimiento compensatorio; el cual se presenta posterior a la adaptación de una situación de estrés (fisiológico o ambiental) y se caracteriza por una mejor eficiencia nutricional. (Bergaoui, *et al.*, 2008; Olazabal y San Martín, 2008; Tudela, 2008; Romero, *et al.*, 2010; Gidenne, *et al.*, 2012). Por otro lado el grupo 3 fue el que menor GDP tuvo (20.0 g) inclusive por debajo del grupo testigo (4), aún cuando esta diferencia no fue significativa, pudo deberse a la extracción de contenido cecal (2-24ml) realizada a través de la cánula. Estos resultados reflejan que en la implantación y la utilización de las cánulas las hembras lograron mantener una GDP similar a la dieta testigo, e incluso, en algunos grupos se presentó crecimiento compensatorio.

En la fase 2, la GDP promedio entre grupos refleja una importante diferencia, donde se observa que el valor obtenido (8.84 g) del grupo 2 se encuentra por debajo de los valores encontrados por Nieves 2001. Esta diferencia con respecto al grupo 3 puede deberse al estrés causado por el traumatismo quirúrgico aunado al provocado por el destete. Es importante mencionar que el estrés puede producir estados emocionales negativos provocados por estímulos ambientales y/o fisiológicos, lo que se traduce en un déficit del costo orgánico para llegar a la adaptación, reflejándose en una pobre GDP e inclusive pérdida de peso.

Un componente importante de la cánula es el tapón, ya que sin su presencia puede presentarse la salida de contenido cecal (cuando no existe estenosis de la cánula), el cual provoca irritación dérmica y predispone a la presencia de piodermas principalmente en la



zona circundante a la cánula. Al respecto se observó que con la utilización de cánulas de silicón dotadas con tapón de rosca, el número promedio de días de permanencia fue de  $(9.91 \pm 5.9)$  días, mayor con respecto a los tapones de presión con los que contaban las cánulas de polietileno, los cuales permanecían  $3.09 \pm 0.94$  días.

Otra parte importante de la evaluación de las cánulas es la funcionalidad que posean, es decir, que sea posible la toma de muestra del contenido cecal a través de ellas, sin causar daño al animal. Durante la fase 1, es evidente que la utilización de la cánula de silicón provocó un edema postquirúrgico menor a 72 Hrs, lo cual, de acuerdo con los principios básicos de cirugía, este tiempo favorece una cicatrización adecuada (Martínez y Valdés, 1997); es posible que la diferencia del edema causado por el uso de cánula de polietileno se deba a que el material causa una mayor reacción tisular. Se podría pensar que el edema provoca estenosis de la cánula, sin embargo esta situación también se presentó en el uso de las cánulas de silicón, en una proporción de 54.5%; a pesar de ello fue posible la extracción del líquido, es decir, siempre existió buena comunicación del exterior hacia el órgano canulado; situación que no se presentó con las cánulas de polietileno.

Otro factor que influye en la presencia de estenosis es la fuerza ejercida por los músculos (oblicuo abdominal externo, oblicuo abdominal interno) que circundaban la cánula, los cuáles son contraídos por el animal para adoptar diferentes posiciones para acicalarse, de descanso o para la realización de la cecotrofia. Debido a esta estenosis, en esta fase no se presentó prolapsos del órgano canulado.

En el grupo 1 de la fase 2, en la mayoría de los casos (ver cuadro 12), no fue posible la obtención de la muestra ya que el órgano canulado (13ª asa cecal) se prolapsó a través de la cánula cada vez que se intentaba recolectar la muestra, provocando una irritación de la mucosa. Aunado a esto la colocación de la cánula en posición ventral complicaba el manejo, ya que se requería colocar al ejemplar en decúbito dorsal, posición que no adoptan los conejos de manera natural por tiempo prolongado; esto contrasta con la cánula colocada en posición lateral, ya que permitía que el conejo adoptara una posición natural, disminuyendo así la reacción de huida del animal. Aunado a lo anterior, la colocación de la cánula en posición lateral permite fácilmente la recolección de la muestra sin necesidad de suspender al animal, colocado en una hamaca, esperando que

el contenido cecal se obtenga por gravedad (Bellier, *et al.*, 1995). Debido a esto, en este experimento, se encontró que la técnica de fijación lateral de la cánula presenta más ventajas con respecto a la técnica de fijación ventral. En virtud de que no se presenta prolapso del órgano canulado y facilita el manejo para la obtención de muestra; esto a pesar de que la técnica quirúrgica es mucho más compleja y requiere de mayor habilidad del cirujano; a su vez involucra mayor tiempo quirúrgico; sin embargo, no existe ningún efecto negativo para el desarrollo del animal.

También se observó que la canulación a nivel de apéndice cecal no es funcional, ya que por el diámetro del órgano no es posible colocar una cánula mayor a 0.7cm de diámetro externo, lo cual limita la obtención de contenido debido a la estenosis presentada, por lo que en este estudio no fue posible la obtención de contenido de éste órgano.

En ambas fases el tiempo promedio de permanencia de las cánulas es de utilidad para la evaluación de la presencia en tipo y número de microorganismos existentes en el ciego, de los productos de la fermentación bajo circunstancias de un cambio repentino de dieta, o bien, durante la alimentación con dietas deficientes en fibra. Esta afirmación se sustenta en lo descrito por Michelland *et al.* (2011), quienes mencionan que un cambio en la concentración y tipo de bacterias se observa durante los dos días posteriores al cambio de dieta, y que la adaptación o recolonización de las bacterias sucede en la primera semana subsecuente, en estos casos es interesante poder realizar estudios a diferentes tiempos, situación que es factible cuando los animales se encuentran canulados.

## **8.2. Fase laboratorio**

Considerando las muestras obtenidas del grupo 3, Fase 1 (conejos canulados en 13a asa cecal, cánula de silicón, fijación lateral). En este estudio se observó que los valores promedio de pH del contenido cecal tanto *in vivo* como en *post mortem* se encuentran dentro de los rangos obtenidos por diferentes autores (5.79 a 7.36) (Hernández Sánchez y Cobos Peralta, 2001; García, *et al.*, 2002; Hernández Sánchez, *et al.*, 2004; Guedes, *et al.*, 2009) a través de muestras obtenidas del vaciamiento total del ciego posterior al sacrificio.

Como se observa en los resultados, los valores obtenidos en este estudio (7.14 *in vivo* y 6.97 *post mortem*) presentan pH neutro, esto se debe a que la colecta de la muestra se llevó a cabo durante el periodo *pre prandrial*. Situación que coincide con la baja

concentración de sustrato disponible para los microorganismos responsables de la fermentación en el ciego, la cual se incrementa durante el periodo de ingesta provocando un descenso del pH de hasta 5.4, debido a una mayor concentración de AGV. (Henning y Hird, 1972; Parker y McMillan, 1976; Bellier, *et al.*, 1995; Bellier y Gidenne, 1996; García, *et al.*, 2002) En este sentido se observa que los principales AGV producidos son acético (72.76% *in vivo*, 73.03% *post mortem*), butírico (13.01% *in vivo*, 9.92% *post mortem*); y en menor propiónico (8.56% *in vivo*, 8.48% *post mortem*). Estos valores corresponden a los mencionados por diferentes autores. (Parker y McMillan, 1976, García, *et al.*, 2002, Gidenne, *et al.*, 2002; Bovera, *et al.*, 2008; Pinheiro, *et al.*, 2009).

Es importante resaltar la diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) obtenida en los resultados entre la concentración (mMol/g) de ácido valérico *in vivo* (0.47) y *post mortem* (0.21), la cual puede deberse a la presencia de mayor actividad de microorganismos que realizan el proceso de fermentación de etanol-propionato, a través de la oxidación de etanol para la producción de ácido acético y posteriormente su condensación con el propionato para la formación de valerato, o bien, a través de la condensación de acetyl-CoA y/o propionil-CoA (Stadtman, *et al.*, 1949; Bornstein y Barker, 1948; Hobson Stewart, 1997; Dworkin, *et al.*, 2006), vía metabólica utilizada por bacterias del género *Ruminococcus* y *Clostridium*, géneros que componen la microbiota cecal del conejo (Fortun-Lamonthe y Boullier, 2007; Gutiérrez Olvera, *et al.*, 2008).

Se recomienda la utilización de la cánulas cuando se requieran de estudios de cinética de digestión (*pre*, *post alimentación* y durante la cecotrofia) a diferentes tiempos y para mostrar el efecto de la edad y condición animal sobre la digestibilidad de aminoácidos y otros nutrimentos utilizando un número reducido de animales, ya que en este estudio, la ganancia promedio de peso de los animales canulados se mantuvo dentro de los rangos normales, y demuestra que el pH y la concentración de ácidos grasos volátiles del contenido cecal obtenidos tanto *in vivo* como *post mortem* no difieren, a excepción del ácido valérico.

## **9. Conclusiones**

Se concluye que las cánulas de silicón y con tapón de rosca con fijación lateral resultaron más efectivas para la obtención de contenido cecal.

## 10. Referencias

- NOM-033-ZOO-1995. *Norma Oficial Mexicana, Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres* .
- NOM-062-ZOO-1999. (1999). *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio* .
- Allison, M., 1978. Production of branched-chain volatile fatty acids by certain anaerobic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 35(5), pp. 872-877.
- Bellier, R. & Gidenne, T., 1996. Consequences of reduced fibre intake on digestion, rate of passage and caecal microbial activity in the young rabbit. *British Journal of Nutrition*, 75(3), pp. 353-363.
- Bellier, R., Gidenne, T., Vernay, M. & Colin, M., 1995. In vivo study of circadian variations of the cecal fermentation pattern in postweaned and adult rabbits. *Journal of Animal Science*, Volumen 73, pp. 128-135.
- Bergaoui, R., Kammoun, M. & Ouerdiane, K., 2008. Effects of feed restriction on the performance and carcass of growing rabbits. *9th World rabbit congress*, pp. 547-550.
- Bergman, E., 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Review*, 70(2), pp. 567-590.
- Blas, E. y otros, 2003. Interlaboratory study on ileal digestibility in rabbits: the effect of digesta collection time and a simplification of the procedure. *World Rabbit Science*, Volumen 11, pp. 101-111.
- Bornstein, B. & Barker, H. A., 1948. The energy metabolism of *Clostridium kluvei* and the synthesis of fatty acids. *The journal of biological chemistry*, Volumen 172, pp. 659-669.
- Bourget, S., Morisse, J. & Boilletot, E., 1987. La flora intestinal del conejo: características y comportamiento bajo la influencia de un antibiótico. *Cunicultura*, Volumen 15, pp. 49-52.
- Bovera, F. y otros, 2008. Prediction of rabbit caecal fermentation characteristics from faeces by in vitro gas production technique: roughages. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, Volumen 92, pp. 260-271.
- Brotóns, N. & Blasco, M., 2004. Hipomotilidad gastrointestinal en conejos: 7 casos clínicos. *REv. AVEPA*, 24(4), pp. 211-219.
- Bugaut, M., 1987. Occurrence, absorption and metabolism of short chain fatty acids in the digestive tract of mammals. *Comparative Biochemistry Physiology*, 86B(3), pp. 439-472.

Cabrera, R. y otros, 2000. Fistulación y canulación permanente del compartimento 1 (Rumen) en Llamas (*Lama glama*). *Archivos de Medicina Veterinaria*, 32(1), pp. 131-138.

Carabaño, R. y otros, 1997. *Necesidades de fibra en conejos*. Madrid, XIII Curso de especialización FEDNA.

Carabaño, R., Reboollar, P., Gómez, S. & Chamorro, S., 2005. *Nuevas tendencias en la alimentación de conejos: influencia de la nutrición sobre la salud intestinal*. Madrid, XX1 Curso de especialización FEDNA.

Carman, R. J. & Waynforth, H. B., 1984. chronic fistulation and cannulation of the rabbit caecum. *Laboratory Animals*, 18(3), pp. 258-260.

Cunninham, J., 2009. Fisiología y metabolismo gastrointestinal. En: 4a, ed. *Fisiología Veterinaria*. España: Elsevier, pp. 380-388.

Dihigo, L. E. y otros, 2008. Caracterización físico-química de las harinas de morera (*Morus alba*), pulpa de cítrico (*Citrus sinensis*) y harina de caña (*Saccharum officinarum*) para la alimentación de los conejos. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 42(1), pp. 65-69.

Dunnet, C., 1980. Pairwise multiple comparisos in the unequal variance case. *Journal of the American Statistical Association*, 75(372), pp. 796-800.

Dunnet, C., 1982. Robust multiple comparisons. *Communicatoins in Statistics*, Volumen 11, pp. 2611-2629.

Dworkin, M. y otros, 2006. *The Prokaryotes*. 3a. ed. Minneapolis: Springer.

Everitt, B. S., 1977. *The Analysis of Contigency tables*. 1a. ed. s.l.:Chapman and Hall.

Fortun-Lamonthe, L. & Boullier, S., 2007. A review of the interactions between gut microflora and digestive mucosal immunity. Possible ways to improve the health of rabbits. *Livestock Science*, Volumen 107, pp. 1-18.

Furuya, S., Sakamoto, K. & Takahashi, S., 1979. A new in vitro method for the estimation of digestibility using the intestinal fuid of the pig. *British Journal of Nutrition*, Volumen 41, pp. 511-520.

García, J., Gidenne, T., Falcao-E-Cunha, L. & de Blas, C., 2002. Identification of the main factors that influence caecal fermentation traits in growing rabbits. *Animal Research*, 51(165 - 173).

Gecele, P., 1986. Fisiología digestiva del conejo adulto. *Monografías de Medicina Veterinaria*, 8(2).

Gidenne, T., Combes, S. & Fortun-Lamothe, L., 2012. Feed intake limitation strategies for the growing rabbit: effect on feeding behaviour, welfare, performance, digestive physiology and health: a review. *Animal*, pp. 1-13.

Gidenne, T., Jehl, N., Segura, M. & Michalet-Doreau, B., 2002. Microbial activity in the caecum of the rabbit around weaning: impact of a dietary fibre deficiency and of intake level. *Animal feed science and technology*, Volumen 99, pp. 107-118.

Guedes, C. M. y otros, 2009. Effects of age and mannanoligosaccharides supplementation on production of volatile fatty acids in the caecum of rabbits. *Animal feed science and technology*, Volumen 150, pp. 330-336.

Gutiérrez Olvera, C. y otros, 2008. Respuesta productiva, fermentación cecal y morbilidad en conejos alimentados con complementos bacterianos de *Clostridium sordelli* o *Peptostreptococcus teetradus*. *Veterinaria México*, 39(4), pp. 397-410.

Kenneth H., 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists Vol. 1, 5a ed., Association of Official Analytical Chemists Inc., USA, pp. 70-88.

Harmon, D. L. & Richards, C. J., 1997. Considerations for gastrointestinal cannulations in ruminants. *Journal of Animal Science*, 75(8), pp. 2248-2255.

Hatch, M. & Geaghan, J., 1989. Oxidative metabolism of rabbit and rat intestine with short chain fatty acids and glucose: an evaluation of data analysis. *Comparative Biochemistry Physiology*, 92B(4), pp. 779-786.

Henning, S. & Hird, F., 1972. Diurnal variations in the concentrations of volatile fatty acids in the alimentary tracts of wild rabbits. *British Journal of Nutrition*, Volumen 27, pp. 57-64.

Hernández Sánchez, D. & Cobos Peralta, M., 2001. Digestibilidad in vitro, población de bacterias celulolíticas y totales del apéndice cecal, ciego y colon del conejo. *Técnica Pecuaria en México*, 39(3), pp. 229-236.

Hernández Sánchez, D. y otros, 2004. Poblaciones microbianas y fermentación en el ciego de conejos en crecimiento alimentados con inóculos de bacterias cecales. *Interciencia*, 29(008), pp. 442-446.

Hernández, G., 2008. *Efecto acumulado del enriquecimiento ambiental sobre bienestar y comportamiento en cabras lecheras durante la etapa de desarrollo bajo condiciones de estabulación*. Tesis de Licenciatura, México, D.F.: UNAM.

Hobson, P. & Stewart, C., 1997. *Rumen microbial ecosystem*. 2a ed. Londres: Chapman & Hall.

Hooper, L., Midtvedt, T. & Gordon, J., 2002. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annual Review of Nutrition*, Volumen 22, pp. 283-307.

- Hoover, W. & Heitmann, R., 1972. Effects of dietary fibre levels on weight gain, cecal volume and volatile fatty acid production in rabbits. *The Journal of Nutrition*, Volumen 102, pp. 375-380.
- Irlbeck, N., 2001. How to feed the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) gastrointestinal tract. *Journal of Animal Science*, Volumen Suppl, pp. 343-346.
- Macfarlane, S. & Macfarlane, G., 2003. Regulation of short-chain fatty acid production. *Proceedings of the Nutrition Society*, Volumen 62, pp. 67-72.
- Martínez, D. & Valdés, G., 1997. *Cirugía: bases del conocimiento quirúrgico*. México: McGrawHill Interamericana.
- Marty, J. & Vernay, M., 1984. Absorption and metabolism of the volatile fatty acids in the hind-gut of the rabbit. *British Journal of Nutrition*, Volumen 51, pp. 265-277.
- McBee, R., 1970. Metabolic contributions of the cecal flora. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 23(11), pp. 1514-1518.
- Michelland, R. y otros, 2011. Rapid adaptation of the bacterial community in the growing rabbit caecum after a change in dietary fibre supply. *Animal*, 5(11), pp. 1761-1768.
- Michelland, R. J. y otros, 2010. Molecular analysis of the bacterial community in digestive tract of rabbit. *Anaerobe*, Volumen 16, pp. 61-65.
- Montrose, M. & Chu, S., 1997. Transepithelial SCFA gradients regulate polarized Na/H exchangers and pH microdomains in colonic epithelia. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 118A(2), pp. 389-393.
- Nieves, D., López, D. & Cadena, D., 2001. Alimentación de conejos de engorde con dietas basadas en materias primas no convencionales y suplementación con *Trichanthera gigantea*. *Revista Unellez de Ciencia y Tecnología*, Volumen Especial, pp. 60-66.
- Olazabal, J. & San Martín, F., 2008. *Crecimiento compensatorio*. s.l.: Sistema de revisiones de investigación Veterinaria de San Marcos.
- Parker, D. & McMillan, R., 1976. The determination of volatile fatty acids in the caecum of the conscious rabbit. *British Journal of Nutrition*, Volumen 35, pp. 365-371.
- Pinheiro, V., Guedes, C., Outor-Monteiro, D. & Mourão, J., 2009. Effects of fibre level and dietary mannanoligosaccharides on digestibility, caecal volatile fatty acids and performances of growing rabbits. *Animal feed science and technology*, Volumen 148, pp. 288-300.
- Rechkemmer, G., Rönna, K. & von Engelhardt, W., 1988. Fermentation of polysaccharides and absorption of short fatty acids in the mammalian hindgut. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 90A(4), pp. 563-568.



Romero, C. y otros, 2010. Effect of early feed restriction on performance and health status in growing rabbits slaughtered at 2 KG live-weight. *World Rabbit Science*, Volumen 18, pp. 211-218.

Saez, A., Suarez, J., Aliaga, F. & Bo, R., 1994. La utilización de los procedimientos de comparaciones múltiples en la investigación educativa en España. *Revista de Investigación Educativa*, 23(1), pp. 396-404.

Scheppach, W., 1994. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. *Gut*, Suppl(1), pp. S35-S38.

Shellin, J. & De Soignie, R., 1998. Short-fatty acids have polarized effects on sodium transport and intracellular pH in rabbit proximal colon. *Gastroenterology*, Volumen 114, pp. 737-747.

Stadtman, E., Stadtman, T. & Barker, H., 1949. Tracer experiments on the mechanism of synthesis of valeric and caproic acids by *Clostridium kluyveri*. *Journal of Biological Chemistry*, Volumen 178, pp. 677-682.

Stevens, E. & Hume, I., 1998. Contributions of microbes in vertebrate gastrointestinal tract to production and conservation nutrients. *Physiological Reviews*, 78(2), pp. 398-419.

Thomas, D. y otros, 2004. Influence of stocking density on the performance, carcass characteristic and selected welfare indicators of broiler chickens. *New Zealand Veterinary Journal*, 52(2), pp. 76-81.

Tudela, F., 2008. Producción de conejos con restricciones alimentarias. *XXXIII Symposium de Cunicultura*, pp. 14-22.

Udén, P. & Van Soest, P., 1982. Comparative digestion of timothy (*Phelum pratense*) fibre by ruminants, equines and rabbits. *British Journal of Nutrition*, Volumen 47, pp. 267-272.

Vernay, M., 1987. Origin and utilization of volatile fatty acids and lactate in the rabbit: influence of the faecal excretion pattern. *British Journal of Nutrition*, Volumen 57, pp. 371-381.

von Engelhardt, W. y otros, 1998. Role of short-chain fatty acids in the hind gut. *Veterinary Quarterly*, Volumen 20, pp. S52-S59.

Xiccato, G. & Trocino, A., 2005. *Condiciones de bienestar animal en la especie cunicula, últimos avances*. Valladolid, XXX Symposium de Cunicultura.

Zar, J., 1999. *Bioestatistical Analysis*. 4a ed. Estados Unidos: Prentice Hall.