

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA**  
**ANTONIO NARRO**  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



SUPLEMENTACIÓN ORAL CON BOLOS CON COBRE DE  
LIBERACIÓN LENTA Y SU RELACIÓN CON LA INCIDENCIA  
DE RETENCIÓN DE SECUNDINAS EN BOVINOS

ELABORADA POR:

EIVAN JESÚS ARZATE TOLEDO

**TESIS**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER  
EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**SUPLEMENTACIÓN ORAL CON BOLOS CON COBRE DE  
LIBERACIÓN LENTA Y SU RELACIÓN CON LA INCIDENCIA  
DE RETENCIÓN DE SECUNDINAS EN BOVINOS**

**POR:**

**EIVAN JESÚS ARZATE TOLEDO**

**Tesis**

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**Médico Veterinario Zootecnista.**

M.V.Z. Carlos Ramírez Fernández

Asesor principal.

MC. Ramón Alfredo Delgado González

Coordinador Regional de Ciencia Animal.



Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

"ANTONIO NARRO"

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

SUPLEMENTACIÓN ORAL CON BOLOS CON COBRE DE  
LIBERACIÓN LENTA Y SU RELACIÓN CON LA INCIDENCIA  
DE RETENCIÓN DE SECUNDINAS EN BOVINOS

Tesis que se somete a la consideración del H. Jurado examinador  
como requisito parcial para obtener el título de:

Médico Veterinario Zootecnista.

Aprobada por:

Presidente

M.V.Z. Carlos Ramírez Fernández

Vocal

Dr. Carlos Leyva Orasma

Vocal

M.C. Juan Luis Morales Cruz

Vocal suplente

M.V.Z. Rodrigo Isidro Simón Alonso

M.C. Ramón Alfredo Delgado González

Coordinador Regional de Ciencia Animal

Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal



## **Agradecimientos**

A Dios, que gracias a él esto aquí y que día con día hace posible mi continuidad, por sus bendiciones, por su apoyo y por todas las cosas que tengo.

A mis padres:

Nemesio Arzate Fernández

Teresa Toledo Ochoa

Por darme su apoyo incondicional, por darme el ejemplo de cómo salir adelante, ser los pilares de mi vida, por prestarme su atención, por esos consejos que me hicieron cada día mejor persona.

A mis hermanos:

Carlos Alberto Arzate Toledo

Marlom Trinidad Arzate Toledo

Maritere Arzate Toledo

Por estar siempre a mi lado en todo momento, por ser fuente de inspiración hacia mi superación, por todos esos momentos que pasamos juntos que nos enseñaron muchas cosas.

A mi asesor:

Carlos Ramírez Fernández

Por todo el apoyo brindado desde el comienzo de mi trabajo de tesis, por la paciencia y consejos sobre la vida laboral.

## **Dedicatoria**

A mis padres:

Nemesio Arzate Fernández

Y

Teresa Toledo Ochoa

A mis hermanos:

Carlos Alberto Arzate Toledo

Marlom Trinidad Arzate Toledo

Maritere Arzate Toledo

A mis abuelos:

Petra Ochoa Guadarrama

Roberto Arzate Benítez

María Elena Fernández Ocampo

A mis amigos:

Saúl García Carbajal

Luis Manuel Cruz de la Luz

Maximino Gregorio Riaño

Eliazit Cortez Ruiz

## Índice general

Contenido	
Agradecimientos	i
Dedicatoria	ii
Índice general	iii
Índice de tablas	v
Resumen	vi
I. Introducción	1
II. Justificación	3
III. Hipótesis	3
Objetivo General	3
IV. Revisión de bibliografía	4
4.1 La placenta	4
4.1.2 Retención de membranas fetales en ganado bovino	4
4.1.3 Factores que favorecen la retención placentaria	4
4.1.4 Factores internos de RMF	5
4.1.5 Enfermedades que predisponen la RMF	5
4.1.6 Causas externas	5
4.1.7 Factores nutricionales	6
4.2 Cobre	6
4.2.1 Función del cobre	7
4.2.2 Absorción, transporte, almacenamiento y metabolismo del Cu	8
4.2.3 Vías de eliminación del Cu	10
4.2.4 Deficiencia del cobre y factores que la predisponen.	11
4.2.5 Fisiopatologías de la deficiencia.	12
4.2.6 Suplementación de Cu	14
4.2.7 Relación cobre sistema inmunitario	15
V. Materiales y Métodos	17
Animales de estudio y diseño experimental	17
Toma de muestras de sangre	17
Evaluación estadística.	18
VI. Resultados y Discusión.	19

VII. Conclusiones	24
Recomendaciones y sugerencias.	24
Literatura citada	25

## Índice de tablas

Tabla 1. Influencia de la suplementación de Cu a través de bolos de liberación lenta sobre la frecuencia de retención de membranas fetales \_\_\_\_\_ 19

Tabla 2. Influencia de la suplementación de cobre sobre los valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros de Hematocrito, en los diferentes grupos y muestreos. \_\_\_\_\_ 20

Tabla 3. Influencia de la suplementación de cobre sobre los valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros de Hemoglobina, en los diferentes grupos y muestreos. \_\_\_\_\_ 21

Tabla 4. Influencia de la suplementación de cobre sobre los valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros de eritrocitos, en los diferentes grupos y muestreos. \_\_\_\_\_ 22

Tabla 5. Influencia de la suplementación de cobre sobre los valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros de leucocitos, en los diferentes grupos y muestreos. \_\_\_\_\_ 23



## Resumen

Con el objetivo de evaluar la suplementación oral de cobre en vacas gestantes y sus efectos en el porcentaje de retención de secundinas, se realizó un estudio, donde se utilizaron 40 hembras de raza Holstein, al momento del secado. Los animales seleccionados se dividieron aleatoriamente en 2 subgrupos de 20 animales cada uno. Grupo Testigo (20), Grupo Tratado (20), al cual se le administró un suplementación adicional de 25g de oxido de cobre en forma de bolo intraruminal de liberación lenta (Agrimin 24-7). A todos los animales de ambos grupos se les realizo una muestra sanguínea, al momento del secado, 30 días posteriores y al día siguiente del parto, para analizar el comportamiento de los valores de hematocrito, hemoglobina, eritrocitos y leucocitos totales.

La evaluación clínica de retención de membranas fetales se efectuó por observación visual y a través de la palpación rectal. Los individuos que mantenían las membranas por más de 24 hrs post-parto, se consideraron con retención de secundinas.

Los resultados en los valores de hematocrito, hemoglobina, eritrocitos y leucocitos, entre ambos grupos no mostraron diferencia estadística ( $P < 0.05$ ), para el porcentaje de retención de secundinas, se observo en el grupo tratado un 5%; en el grupo control, 15%; no mostrando así una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

Se concluye que la suplementación oral con Agrimin 24-7, no presenta una influencia directa en el porcentaje de retención de secundinas, ni en el aumento de los valores de hemoglobina, hematocrito, eritrocitos y leucocitos.

**Palabras Clave:** Cobre, Bolos, Suplementación, Vacas, Retención, Secundinas.

## I. Introducción

Una de las principales limitantes para una óptima producción animal, es una deficiencia y desequilibrada nutrición mineral (Balbuena et al., 2003).

Las deficiencias minerales se presentan de dos formas en el organismo: La primera cuando la cantidad del mineral en los alimentos o agua consumida no cubre los requerimientos del animal y la segunda cuando el metabolismo y absorción del mineral no son inadecuados a pesar de que la dieta cumpla con los requerimientos de estos (Keen et al., 1989).

La absorción del cobre es afectada, por la presencia elevada de Molibdeno (Mo) y azufre (S) en la dieta, los cuales forman molibdato de cobre y sulfuro de Cu, la presencia de ambos potencializan los efectos negativos en la absorción del Cu cuando se forman tiomolibdatos a nivel ruminal (Suttle, 1991).

El Cu cumple diferentes funciones en el organismo de los animales (Radostitis et al., 1994). El Cu integra numerosos sistemas enzimáticos esenciales para la vida por lo que es un elemento indispensable, en el transporte de electrones por ejemplo donde durante la respiración aerobia, está presente el sistema citocromo-oxidasa dependiente de Cu. De la lisil-oxidasa, esencial en el tejido conectivo, que participa en la maduración de la matriz extracelular y en la homeostasis del endotelio además presente en la formación de elastina y en el fortalecimiento de los huesos. Enzimas transportadoras de hierro para la síntesis de la hemoglobina como la ceruloplasmina o algunas otras como la tirosinasa, requerida para la pigmentación del pelo y la súper oxido-dismutasa que protege la célula de los efectos tóxicos de los metabolitos del oxígeno, ayudando en la función fagocitaria de las células; (National research council, 2001).

Los neutrófilos contienen en sus gránulos más de 20 diferentes enzimas proteolíticas dependientes de Cu que participan en el mecanismo del desprendimiento placentario como la elastina, gelatinasa y catepsina, participando

activamente en la digestión de membranas basales, tejido elástico y cartílago; si la mieloperoxida tiene como co-factor el cobre y es el principal activador de las enzimas proteolíticas de los neutrófilos (colagenasa y elastina) entonces la hipocupremia juega un papel significativo en la retención placentaria (Silva et al., 2000).

La anemia, retraso del crecimiento, trastornos de los huesos, la infertilidad, la despigmentación del pelo y lana, trastornos gastrointestinales, y lesiones en el tronco cerebral y la médula espinal son algunos de los signos y trastornos que preceden a una deficiencia de Cu en los animales (McDonald et al., 2010).

García et al., (2006) mencionan que otros signos de hipocupremia en el ganado bovino son, el retardo en la involución del útero, abortos, anestros, retenciones secundinas y repeticiones de servicios.

La vía oral y la parenteral son la forma más común de suplementación de Cu, el sulfato ( $\text{CuSO}_4$ ), carbonato ( $\text{CuCO}_3$ ) u óxido de Cu ( $\text{CuO}$ ), son las presentaciones más comunes en la suplementación oral en mezclas minerales como parte de una ración y en el caso de los productos inyectables el etilen diamino tetra acetato (EDTA) de Cu o glicinato de Cu son los principales productos (McCaughan, 1992).

La administración oral de bolos de  $\text{CuO}$  evita las reacciones tisulares que pueden presentarse con los productos inyectables (Buckley, 1991); además permiten mantener niveles de Cu sérico altos por la acumulación y estables al menos por 6 meses, en situaciones de deficiencia de Cu. Además de reducir los riesgos de intoxicación al no producir picos séricos tan altos (Pechín et al, 2006).

## **II. Justificación**

Dentro de las causas de retención de placenta se encuentran las relacionadas con niveles deficitarios de microminerales como cobre y selenio. Uno de los mecanismos para la expulsión de placentas es la relacionada con la inmunidad en donde el cotiledón fetal actúa como cuerpo extraño luego del parto, generando la liberación de sustancias quimiotácticas, lo que determina la infiltración en los placentomas con neutrófilos periféricos, los cuales digerirían la unión carúncula materna-cotiledón fetal (Silva y col, 2000). Así mismo describen que algunos minerales tales como el Selenio, Calcio, Cobre y Zinc son esenciales para el metabolismo de los leucocitos y que su deficiencia provoca una menor respuesta de éstos.

## **III. Hipótesis**

La administración oral de una fuente de cobre de liberación lenta, contribuye a reducir la retención de secundinas post-parto

## **Objetivo General**

Evaluar si la suplementación oral de cobre con bolos intra-ruminales de liberación lenta en vacas Holstein en el último tercio de la gestación, disminuye la retención de membranas fetales al parto, activando los procesos fisiológicos naturales.

## **IV. Revisión de bibliografía**

### **4.1 La placenta**

Hafez y Hafez, (2002) definen a la placenta como una oposición o fusión, de las membranas fetales al endometrio, permitiendo así el intercambio fisiológico entre el feto y la madre. Diversos grados de interacciones materno-fetales dan como resultado a este complejo órgano, que se comunica con el embrión por medio de un cordón de vasos sanguíneos.

#### **4.1.2 Retención de membranas fetales en ganado bovino**

La retención de membranas fetales (RMF), es la falla o incapacidad de expulsión de las mismas, comúnmente conocidas como placenta, dentro de 12 a 24 horas más tarde a la expulsión del producto, cuya patología es considerada multifactorial (Hafez y Hafez 2002).

Esta patología tiene un incidencia entre el 1.3% y el 40% en función de las características del hato donde se realice el estudio, o del país (Kelton et al., 1998).

#### **4.1.3 Factores que favorecen la retención placentaria**

Dentro de los factores involucrados que favorecen el desarrollo de las patologías en relación al parto, está el estrés que es uno de los principales problemas de muchos hatos. Este problema produce una elevada producción de corticoides (cortisol) tanto en la madre como en el neonato, logrando una mayor predisposición a padecer de distocias y retención de membranas fetales, y por ende alto grado de infecciones uterinas. Las vacas que presentan niveles mayores de cortisol dentro de las 12 a 24 horas pre-parto, tienen niveles inferiores de

estrógenos y prostaglandinas F2 alfa; esta última constituye una secreción encargada de la regresión del cuerpo lúteo, y coadyuvante en la expulsión de líquidos y membranas fetales. El estrés calórico también puede originar partos prematuros, becerros de poco peso, débiles o muertos, afectando negativamente la expulsión de las membranas y loquios;(Gutiérrez y Soto, 2005).

#### **4.1.4 Factores internos de RMF**

Dentro de los factores internos más estudiados se encuentra la distocia, parto prematuro, partos gemelares, parto inducido, abortos, gestación corta o larga, torsión uterina, atonía uterina, oclusión del cérvix, prolapso vaginal, cesaría, niveles hormonales bajos. (Hafez y Hafez, 2002).

#### **4.1.5 Enfermedades que predisponen la RMF**

Dentro de las principales enfermedades que favorecen la RP se encuentran la brucelosis, leptospirosis, Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Diarrea Viral Bovina, Vibriosis y listeriosis (Hincapié et al., Hafez y Hafez, 2002; 2008; Laing et al., 1985).

#### **4.1.6 Causas externas**

La higiene deficiente de las maternidades o paridero, ya que en estos lugares habrán sucedido infinidad de partos y si no se tiene la precaución de desinfectar el lugar después de cada parto habrá una alta prevalencia infecciones, propiciando así que allá un retardo en la involución uterina (Hafez y Hafez, 2002; Manspeaker, 2005; Maas, 2004; Akar et al., 2005).

#### **4.1.7 Factores nutricionales**

Diversos estudios han comprobado que niveles deficitarios de algunos minerales tienen relación con el desencadenamiento de RMF. Dentro de los macrominerales, se ha encontrado relación directa entre retención de secundinas e hipocalcemia. (Buckley, 1991, Carson et al., 1978). En cuanto a los microminerales, ya existe evidencia de la relación entre las deficiencias de Cobre y Selenio con la RMF y otros trastornos de la gestación (Harrison et al., 1984; Hogan et al., 1993).

Dentro de los mecanismos expuestos para expulsión de placenta se encuentra la reacción inmunitaria; el cotiledón fetal actúa como cuerpo extraño luego del parto, con liberación de sustancias quimiotácticas, lo que determina la infiltración de los placentomas por neutrófilos periféricos, quienes digieren el placentoma (Brown et al., 1991). Estos mismos autores mencionan que los neutrófilos contienen en sus gránulos más de 20 diferentes enzimas proteolíticas, las que son segregadas al medio al que fueron atraídos. De éstas, la Elastinasa, Colagenasa, Gelatinasa, y Catepsina D y E, serían las más importantes, ya que las mismas pueden digerir membranas basales, tejidos elásticos y cartílago entre otras.

#### **4.2 Cobre**

El cobre (del latín: aes cyprum: es de Chipre), es un elemento dúctil, con propiedades brillantes de color rojo pardo, (Mufarrege, 2003). El símbolo químico del cobre es Cu. Está incluido en el grupo de los microelementos o minerales traza esenciales, requerido por los animales y el hombre en cantidades pequeñas (microgramos o miligramos /día) (Mufarrege, 2003).

### 4.2.1 Función del cobre

Es un elemento indispensable debido a que es integrante de numerosos sistemas enzimáticos esenciales para la vida, como del sistema citocromo-oxidasa que es indispensable para el transporte de electrones durante la respiración aerobia. El lisil-oxidasa, esencial en el tejido conectivo, ayudando en la maduración de la matriz extracelular y en la homeostasis del endotelio; en la formación de elastina y en el fortalecimiento de los huesos, la ceruloplasmina que transporta el hierro para la síntesis de hemoglobina; la tirosinasa requerida para la pigmentación del pelo a través de la melanina proveniente de la tiroxina y la súper oxido-dismutasa que protege la célula de los efectos tóxicos de los metabolitos del oxígeno lo que es particularmente en la función fagocitaria de las células (National research council, 2001).

Los principales procesos biológicos en los que participa el Cu son en actividades enzimáticas como: en la síntesis de hemoglobina, mielina, melanina y queratina, en la respiración celular, en la rigidez de las proteínas estructurales (colágeno y elastina), y del metabolismo de los radicales libres. Interviene en funciones, del sistema nervioso central, mantiene el equilibrio osmótico de las células y establece estadios físicos de membrana y citoplasma. Además su carencia causa desordenes fisiológicos y metabólicos inhibiendo la síntesis de proteína ruminal.

El Cu se encuentra en dos fracciones:

- 1) ligado a las metaloenzimas tisulares, ceruloplasmina, citocromo oxidasa, catalasa, lisil oxidasa, superoxido dismutasa, tirosinasa (polifenil oxidasa), ácido ascórbico oxidasa, monoamino oxidasa plasmática, y uricasa dependiente de Cu.
- 2) fijado a las proteínas de depósito hepático (metalotioneina). El hígado desempeña un papel clave en el metabolismo del Cu porque representa la reserva mobilizable (Inta, 2004)

La ceruloplasmina (Cp) es una  $\alpha$ -2 globulina sintetizada en los hepatocitos tomando el cobre a partir de la metalotioneina. Es una glucoproteína con ocho átomos de Cu por molécula y 7 a 8% de hidratos de carbono. Sus funciones



principales son el transporte de Cu desde el hígado a los tejidos, aproximadamente 80-95% del Cu circulante está unido a la Cp, acción antioxidante sobre sustratos como poliaminas y polifenoles, modulación de la respuesta inflamatoria como proteína de fase aguda en infecciones o estrés, oxidación del  $\text{Fe}^{+2}$  para que este pueda ser transportado hasta los tejidos hematopoyéticos por la transferrina debido a que el hierro se absorbe como  $\text{Fe}^{++}$  y se transporta como  $\text{Fe}^{3+}$  por deber su acción a una enzima dependiente de cobre que es la ferroxidasa II y finalmente oxidación de aminas aromáticas (Underwood et al., 1999).

La superóxido dismutasa (SOD) es una metaloenzima ampliamente distribuida en el organismo dentro del eritrocito. La SOD actúa como principal antioxidante intracelular. Su función es inactivar los iones superóxido con la producción de peróxido de hidrógeno y oxígeno. El peróxido de hidrógeno, aun tóxico, es inactivado por las enzimas catalasas y glutatión peroxidasa (Enjalbert et al., 2006). La citocromo-c-oxidasa es un complejo que contiene los citocromos y al de la cadena respiratoria, posee una actividad del 60% para mantener el metabolismo oxidativo del tejido hepático, posee dos átomos de Cu además de dos grupos hemo con sus respectivos átomos de Fe. Representa la enzima terminal de la cadena respiratoria y cataliza la transferencia de 4 electrones al  $\text{O}_2$  para formar 2 moléculas de agua y ATP (Enjalbert et al., 2006, Xin et al., 1993).

#### **4.2.2 Absorción, transporte, almacenamiento y metabolismo del Cu**

Debido a que el rumen reduce el  $\text{Cu}^{+2}$  a  $\text{Cu}^{+1}$ , el cual dificulta su absorción, el porcentaje obtenido es mucho menor, en comparación con los monogástricos que presentan hasta un 50% de absorción de Cu. (Nederbragt, 1984) y, por otro lado, la formación de sulfuros ( $\text{S}^{-2}$ ) a partir de sulfatos ( $\text{SO}_4^{-2}$ ), los que se combinan con Cu para formar  $\text{CuS}$ , compuesto altamente insoluble que no puede ser absorbido (Underwood y Suttle, 2010), otros factores que pueden afectar la absorción del Cu son características propias de los animales, como la edad, la raza o estados reproductivos. Los animales jóvenes además de tener mayores

reservas de Cu que los animales adultos, presentan una capacidad de absorción mayor (Barrios et al, 2011). En vacas Holstein en etapa de lactación se observó una absorción del  $5,1 \pm 1,5$  % de Cu (Brem et al., 2002).

El metabolismo del Cu es regulado en dos niveles: uno donde la metalotioneína controla la eficiencia de absorción a nivel intestinal; y la segunda hepáticamente, donde se deposita como metalotioneína o por medio de movilización a los tejidos a través de la ceruloplasmina, dependiendo de si el balance de Cu es positivo o negativo. Manteniendo de esta manera la cupremia dentro de un margen de 9.4-18.8  $\mu\text{mol/L}$  (60-120  $\mu\text{g/dl}$ ). La absorción del cobre se lleva a cabo en varios sitios del tracto digestivo, desde el (omaso) hasta el intestino grueso en las diferentes especies. En los rumiantes la absorción principal es a nivel de duodeno y yeyuno, en menor proporción en íleon y el retículo-rumen, abomaso no son sitios de absorción importantes (Jessé et al., 2002).

El Cu ingresa naturalmente al organismo con la dieta, se absorbe en el intestino delgado donde ingresa a través del ribete del enterocito que lo deposita a la metalotioneína (MT) y es transportado por la vena porta hacia el hígado, ligado especialmente a albúmina y secundariamente a aminoácidos libres, ambas fracciones, denominadas cobre de reacción directa (CRD) debido a que reaccionan con el dietiltiocarbamato sin acidificación previa, ceden fácilmente el Cu al hígado. El  $92,5 \pm 5\%$  del CRD es captado por el hígado. El resto se distribuye por los tejidos ( $2,9 \pm 0,8\%$ ), leche ( $3,5 \pm 4,5\%$ ) y orina ( $1,5 \pm 0,3\%$ ). (Fazzio, 2006).

En los rumiantes el cobre se almacena principalmente en el hígado y también en riñones, cerebro, pulmones, páncreas, corazón y bazo. Las reservas corporales sirven durante unos cinco meses, proveyendo el cobre necesario cuando se produce una deficiencia (Fazzio, 2006).

El hígado es el principal órgano de depósito. La sangre normalmente tiene de 0.6 a 1.0 mg Cu/litro y con altos valores hepáticos queda entre 0.8 y 1.5 mg Cu/litro (McDonald et al, 2010).

Los síndromes de toxicidad del Cu fueron primeramente descritos a finales de 1920. Si bien ellos son similares entre las diferentes especies, la susceptibilidad para la intoxicación varía (Bostwick, 1982).

La intoxicación por este mineral puede ser clasificada en una forma aguda la cual es causada por la acción directa de las sales de cobre sobre el tracto gastrointestinal, que provocan gastroenteritis, pasaje de heces fluidas verdosas, shock y muerte. Una intoxicación crónica se produce por la ingesta y absorción de cobre que es almacenado en el hígado por un largo periodo (Bremner, 1987).

Al producirse la peroxidación lipídica de la membrana de los eritrocitos, se produce su estabilidad y se aumenta su destrucción, hay reducción de hemoglobina a metahemoglobina y formación de cuerpos de Heinz en las células, la severa crisis hemolítica trae como consecuencia hemoglobinuria y metahemoglobinuria así como necrosis tubular y falla renal (Jubb y Kennedy, 1970).

#### **4.2.3 Vías de eliminación del Cu**

El Cu endógeno se elimina principalmente por la bilis y secundariamente las pérdidas exógenas son por leche y orina aunque las pérdidas por leche se consideran más una secreción y esta contiene escasos indicios de cobre: 0,12ppm. Cuando esta cantidad se eleva a 1,5 ppm existe peligro de oxidación. La mayor parte de las pérdidas se deben a la reacción de hidroxipolimerización. Los fitatos también pueden incrementar la excreción de este. Los lisosomas son los encargados de tomar el Cu y volcarlo a la bilis por exocitosis. Se ha registrado una pérdida diaria de Cu por bilis de 0,87% del Cu hepático en vacas Holstein en lactación coincidiendo estos valores con los de novillos Friesian y a los de otras razas. Sin embargo, la excreción biliar de Cu varía entre razas. La principal ruta de excreción del Cu es a través de las heces y en promedio son de 280mg de Cu/día (Quiroz y Bouda, 2001; Yost et al., 2002).

Las pérdidas por orina son insignificantes las que revelan que de 0,24 a 1.1 mg de Cu es excretado por vaca/día que absorben 11,8 mg de Cu. La excreción por esta vía representa alrededor del 1% de Cu ingerido. Y pequeñas cantidades se pierden a través del sudor. Cuando existe una obstrucción de vías biliares, la alternativa del organismo para la eliminación de Cu es mediante la secreción intestinal y la diuresis. La secreción de cobre en leche es aproximadamente del 0.5% del Cu total extraído de su organismo (Divier et al., 2005; Quiroz y Bouda, 2001).

#### **4.2.4 Deficiencia del cobre y factores que la predisponen.**

Las deficiencias minerales en los animales se presentan en dos situaciones. Las deficiencias primarias que presentan cuando los alimentos y agua consumida por los animales contienen cantidades por debajo de los requerimientos. Las secundarias se observan cuando a pesar de que el alimento contiene la cantidad requerida del mineral, existe una mala absorción o un metabolismo inadecuado de los mismos, por causas diferentes como, en la cocción de alimentos, fármacos, sustancias antagonistas o desordenes genéticos producidos por sustancias tóxicas. (Keen et al, 1989).

Los requerimientos de estos son por debajo de 100 ppm (Mattioli et al, 1997). A pesar de las pequeñas cantidades que requiere el organismo, la deficiencia de Cu causa muchos disturbios metabólicos, afectando a los animales desde el nacimiento hasta la vida adulta, siendo uno de los elementos más restrictivos para la producción (Underwood y Suttle, 2010); siendo la deficiencia de cobre (Cu<sup>2+</sup>) o hipocuprosis la segunda carencia mineral más frecuente en bovinos (Underwood y Suttle, 1999).

En los rumiantes la deficiencia puede atribuirse a la presencia en la dieta de factores que reducen su disponibilidad. Además la causa de la carencia parece

residir en el forraje, que cubre menos del 50 % de los requerimientos de Cu. Algunos factores que interfieren con la absorción del Cu, en las diferentes vías de absorción se hallan, las altas concentraciones de molibdeno (Mo), azufre (S), hierro (Fe), calcio (Ca), cadmio (Cd), zinc (Zn), fitatos y ácido ascórbico, entre otros (Mattioli, 2007).

#### **4.2.5 Fisiopatologías de la deficiencia.**

La deficiencia de Cu o hipocuprosis causa una gran variedad de signos entre los cuales se mencionan:

Anemias. El Cu participa en el metabolismo del Fe, este elemento es fundamental para la formación de la hemoglobina, principal componente del eritrocito. En las deficiencias de este mineral se observa reducción en el número de glóbulos rojos, aumento en el volumen corpuscular de los mismos, con una disminución de hemoglobina. El tipo de anemia en los bovinos es específicamente de tipo hipocromica macrocitica (Quiroz y Bour, 2001).

La poca actividad de la enzima ferroxidasa es una de las causas de la anemia, por lo cual concuerda con un aumento en la concentración hepática de Fe. Otra causa es la reducción de la vida media de los eritrocitos debido a la disminución en la actividad de la SOD eritrositaria durante la hipocuprosis. Debido a que el Fe se encuentra en el cuerpo en forma de hemoglobina y mioglobina en un 50% de total juega un papel muy importante en relación a la anemia. Los glóbulos rojos son reemplazados constantemente, por lo que el hierro está sometido a un metabolismo muy activo, como consecuencia la síntesis de hemoglobina ocurre durante toda la vida, especialmente en los periodos de crecimiento. (Enjalbert et al., 2006).

Infertilidad variable. se puede observar infertilidad, bajo porcentaje de gestación, anestro o alteraciones estrales, abortos, mortalidad embrionaria, bajo lívido, retraso en la pubertad y retención placentaria (Suttle, 1980; Suttle, 2010).

Los problemas óseos son asociados son fracturas, inflamación de articulaciones en miembros, endurecimiento de articulaciones. Debido a estas anomalías los animales muestran dolor osteoarticular. También por un defecto en la queratina produce cascos blandos y alterados. La deficiencia de cobre afecta la formación de los huesos de dos modos diferentes: Por disminución de la actividad de los osteoblastos, lo que significa el retardo en la formación de la matriz ósea, y por disminución de la actividad de la lisis-oxidasa, lo que contribuye a la disminución de la fortaleza y estabilidad del colágeno disminuyendo el entrecruzamiento de las fibras (National research council, 2001).

Las cojeras son una de las mayores preocupaciones en la industria lechera. Quizá porque el 30% o más de los hatos han experimentado algún grado de Laminitis (pododermatitis aséptica difusa), acompañada por pérdidas económicas (Tomlinson et al, 2004).

Predisposición a enfermedades infecciosas. Los leucocitos son dependientes de la SOD, la disminución de esta enzima reduce la vida media de las células. La actividad fagocítica esta depende del citocromo oxidasa, la disminución de inmunidad se relaciona con linfopenia, especialmente del grupo B, y monocitosis, con menor producción de anticuerpos y disminución en la capacidad fagocítica y lítica de los neutrófilos (Enjalbert et al, 2006).

Los responsables de regular primariamente la inmunidad son las citocinas, que son mediadores solubles producidos por las células del sistema inmune, interleucinas, producidas principalmente por macrófagos en reposo y se produce en mayores cantidades cuando se activa, la transcripción del mRNA que codifica la IL-1 se da en los 15 minutos siguientes a la exposición a un estímulo, tal como una partícula fagocítica. Alcanza un máximo 3 o 4 horas más tarde y se mantiene durante varias horas antes de disminuir. Las interleucinas son citocinas que regulan la interacción entre los linfocitos y otros leucocitos, las interleucinas

forman un conjunto heterogéneo de proteínas (Gengelbach et al, 2008, Scaletti, 2003).

El Factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ , linfotoxinas [LT-a y LT-B]) son citocinas poliméricas, derivadas de macrófagos y linfocitos T, como su nombre lo indica, ocasionan la muerte celular programada en algunas células tumorales, si bien esta no es su función principal. Son importantes inductores de la fiebre y anorexia. Cuando un organismo es invadido por un patógeno, los macrófagos que se encuentran con este liberan IL-1 en la circulación. Al actuar esta interleucina en el cerebro, se produce fiebre, letargo, malestar y falta de apetito, de modo que la IL-1 es la causa de que las personas o los animales se sientan enfermos. En las células musculares la IL-1 moviliza aminoácidos, y a nivel de las células hepáticas induce la producción de nuevas proteínas que ayudan a la defensa del cuerpo, las proteínas de fase aguda (Gómez y García, 2006).

Crisis hemolíticas. Cuadro semejante a la hemoglobinuria posparto, la deficiencia de Superóxido Dismutasa (SOD) provoca una oxidación del eritrocito y por lo tanto su consecuente destrucción prematura. Además el daño de la membrana eritrocítica provoca lisis por activación esplénica (Gengelbach et al., 2008).

#### **4.2.6 Suplementación de Cu**

La vía oral y la parenteral son la forma más común de suplementación de Cu, el sulfato (CuSO<sub>4</sub>), carbonato (CuCO<sub>3</sub>) u óxido de Cu (CuO), son las presentaciones más comunes en la suplementación oral en mezclas minerales como parte de una ración y en el caso de los productos inyectables el etileno diamino tetra acetato (EDTA) de Cu o glicinato de Cu son los principales productos (McCaughan, 1992).

García et al., (2007) mencionan que la suplementación vía oral de productos de Cu favorece los indicadores reproductivos y productivos de los hatos.

La utilización de bolos de CuO vía oral, ayuda a prevenir las posibles reacciones tisulares que pueden presentarse con los productos inyectables debido a la alta dosificación. Las partículas del bolo se depositan en el rumen-retículo, posteriormente fluyendo hacia el abomaso, donde el Cu es liberado lenta y constantemente durante periodos prolongados de semanas o incluso meses (Deland et al., 1979).

La utilización de bolos de CuO es una alternativa que brinda resultados similares a una dosificación preventiva con Cu vía parenteral. Estos productos permiten mantener niveles de Cu sérico altos y estables hasta por 6 meses, cuando las deficiencias de Cu están presentes. Por otro lado, al no producir picos de Cu sérico tan marcados, probablemente disminuyen los riesgos de intoxicación en los bovinos (Pechín., 2006).

#### **4.2.7 Relación cobre sistema inmunitario**

Estudios "in vitro" e "in vivo" demostraron, que el Selenio, Calcio, Cobre, Cinc así como otros minerales, son esenciales para el metabolismo de diferentes células como de los leucocitos y que su deficiencia provoca una menor respuesta de éstos (Harrison et al., 1984; Heuwieser et al., 1987).

Existen enzimas cobre-cinc-dependiente, como la superóxido-dismutasa, las cuales transforman a los aniones superóxido en hidroperóxidos, los que mediante la enzima mieloperoxidasa forman compuestos de alta toxicidad para las bacterias, principalmente haluros (HOCl). Los superóxido está presentes en el llamado estallido respiratorio, producido por la fagocitosis de neutrófilos así un antígeno. Ha sido demostrado que la disminución de los niveles de cobre en sangre de bovinos, se acompaña por una menor actividad de esta enzima. De la misma manera, la mieloperoxidasa tiene como co-factor al Cobre. Si tenemos en cuenta que el HOCl es el principal activador de las enzimas proteolíticas de los neutrófilos (colagenasa y gelatinasa), es posible que la hipocupremia (y quizás la



deficiencia de cinc) estén afectando (mediante una menor producción de radicales libres) la actividad de estas enzimas y, por ende, el desprendimiento placentario (Silva et al., 2000).

## **V. Materiales y Métodos**

### **Animales de estudio y diseño experimental**

El estudio se realizó en una explotación lechera con una población de 2000 vientres Holstein, ubicada en la localidad de la Rosita, municipio de San Pedro, Estado de Coahuila, México.

Se seleccionaron 40 hembras de la raza Holstein en el momento que estaban programadas para su periodo del secado. El total de animales se dividieron aleatoriamente en 2 subgrupos de 20 cada uno.

Grupo Control (GC). Con el manejo rutinario de la explotación.

Grupo Tratado (GT) al cual se le administró un suplemento adicional de 25g de óxido de cobre en forma de bolo intra-ruminales, con las propiedades farmacéuticas de ser de liberación lenta y prolongada (Agrimin 24-7).

Los animales seleccionados presentaban una condición corporal de entre 2.5 a 3.7 y con un número de lactancias de 4-5; ambos grupos recibieron la misma alimentación.

### **Toma de muestras de sangre**

Se tomaron tres muestras sanguíneas, el primero el día de la administración de los bolos, el segundo a los 30 días posteriores y el tercero al primer día pos-parto.

Se extrajeron 5 ml de sangre la cual fue obtenida por punción en la vena coccígea con una aguja de calibre 19G x 1 1/2" y recolectadas en tubos con anticoagulante EDTA.

Los estudios de laboratorio se realizaron en el laboratorio de patología clínica de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna (UAAAN UL). Se corrieron las pruebas de:

Hematocrito (Hto) por la técnica de microhematocrito con tubo capilar mediante centrifugación.

Determinación de valores de Hemoglobina por medio de la relación hematocrito-hemoglobina, dividiendo el hematocrito entre un valor constante 3.

Conteo celular, total de eritrocitos (T-E) y total de leucocitos (T-L) mediante conteo directo en cámara de Neubauer.

Se considero retención de membranas fetales cuando transcurrieron más de 24 posteriores de la expulsión fetal y las secundinas no han sido expulsadas.

### **Evaluación estadística.**

Los resultados obtenidos fueron analizados por un modelo computacional mixto de medidas repetidas PROC MIXED (SAS), ajustando el modelo para un diseño completamente al azar.

Se realizaron comparaciones dentro de los grupos (tratado y control) y entre muestreos (1, 2,3) de cada grupo.

## VI. Resultados y Discusión.

Los resultados obtenidos en la evaluación de retención de membranas fetales de acuerdo al número de animales de cada grupo fueron:

En el grupo tratado, 1 vaca que corresponde al 5%, la cual presento gestación gemelar.

En el grupo control, 3 vacas fueron positivas a RP que corresponde al 15% del total de animales del grupo, las cuales presentaron diferentes patologías al parto (Parto prematuro, distocia y gestación gemelar).

La relación de los resultados observados, sobre la retención de membranas fetales pueden ser observados en la tabla 1.

**Tabla 1. Influencia de la suplementación de Cu atreves de bolos de liberación lenta sobre la frecuencia de retención de membranas fetales**

Grupos	N	RMF	%
Tratado	20	1	5a
control	20	3	15a

Letras iguales no muestran diferencia estadística (P<0.05)

Becerra et al. (2009); Manspeaker, J.E. (2005); Maas, (2004); Akar y Yildiz, (2005), mencionan que los principales factores predisponentes a retención de secundinas son el parto gemelar, distocias y abortos, concuerdan con lo anterior, además describen que el tiempo de gestación tiene otro papel importante en la incidencia de retención de membranas fetales, los animales de ambos grupos del presente trabajo que presentaron retención de membranas fetales presentaron

algún factor predisponente, debido al lo cual no se puede confirmar que la suplementación oral con cobre tuvo efectos directos en la reducción del porcentaje de retención de secundinas.

En los valores de hematocrito no existió diferencia estadística ( $<0.05$ ) entre los muestreos y entre grupos, como se aprecia en la tabla 2.

**Tabla 2. Influencia de la suplementación de cobre sobre los valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros de Hematocrito, en los diferentes grupos y muestreos.**

Muestreo	Grupo control (%)	Grupo tratado (%)	EEM
1	33.950 Aa	34.300 Aa	0.8101
2	31.000 Aa	32.950 Aa	0.3156
3	30.100 Aa	30.900 Aa	0.6900
EEM	1.5846	0.8558	

EEM- Error estándar de la media

Letras iguales mayúsculas en la hilera no presentan diferencia estadística, al igual que letras minúsculas en la columnas ( $P<0.05$ ).

García, et al (2007) en sus estudios, plasman que la suplementación con Cu tiene efectos significativos en el aumento de hematocrito tanto en vacas como en terneros, el presente trabajo revela que la suplementación por cobre vía oral no tiene un rol importante en el aumento de hematocrito, coincidiendo con lo mencionado por Cuesta, (2011).

Con respecto a los valores de hemoglobina, debido al sistema que se utilizó para determinarlo tampoco se observó diferencia estadística como se muestra en la tabla 3.

**Tabla 3. Influencia de la suplementación de cobre sobre los valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros de Hemoglobina, en los diferentes grupos y muestreos.**

Muestreo	Grupo control (g/dL)	Grupo tratado (g/dL)	EEM
1	11.325 Aa	11.425 Aa	0.3415
2	10.320 Aa	10.985 Aab	0.4515
3	9.930 Aa	10.300 Ab	0.4757
EEM	0.5324	0.2846	

EEM- Error estándar de la media

Letras iguales mayúsculas en la hilera no presentan diferencia estadística, al igual que letras minúsculas en la columna (P<0.05).

National Research Council (1984) menciona que el Cu es requerido para la síntesis de hemoglobina, absorción y movilización del hierro (Fe), por lo cual niveles bajos Cu repercuten en los valores séricos de hemoglobina.

García et al. (2007) describen en su estudio que las vacas y terneros que fueron suplementados con Cu vía parenteral tuvieron un aumento significativo de hemoglobina, debido a que los resultados de hemoglobina obtenidos en este estudio no muestran alguna diferencia estadística y no concuerdan con lo descrito anteriormente, se determina que la suplementación por este medio no refleja efectos positivos.

En cuanto los valores encontrados de los eritrocitos (eritrocitos  $\times 10^{12}/L$ ) no hubo diferencia estadística (P<0.05) entre grupos.

En relación a los valores obtenidos dentro del grupo tratado se encontró una diferencia estadística entre el muestreo 1 y 3, donde los valores fueron en decremento como se muestra en la tabla 4.

**Tabla 4. Influencia de la suplementación de cobre sobre los valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros de eritrocitos, en los diferentes grupos y muestreos.**

Muestreo	Grupo control (eritrocitos x10 <sup>12</sup> /L)	Grupo tratado (Grx10 <sup>12</sup> /L)	EEM
1	7.0750 Aa	6.6400 Aa	0.5455
2	6.3800 Aa	6.4250 Aa	0.5128
3	6.1500 Aa	6.7550 Aa	0.4692
EEM	0.5825	0.5124	

EEM- Error estándar de la media

Letras iguales mayúsculas en la hilera no presentan diferencia estadística, al igual que letras minúsculas en la columnas (P<0.05).

Potsma, (2010) menciona que la hipocuprosis provoca una anemia macrocítica e hipocrómica en vacas.

Rosa, (2008) por otra parte menciona que la suplementación con Cu favorece la producción de eritrocitos totales; en este estudio no se presentó ninguna diferencia estadística positiva, por lo que se deduce que la suplementación de Cu vía oral no influye en los parámetros de eritrocitos totales.

En relación al conteo global de leucocitos se observó una diferencia estadística en la segunda muestra (P<0.05) (30 previos al parto) entre ambos grupos. Sin embargo al considerar todos los valores de leucocitos entre muestras y grupos el análisis no arroja diferencia estadística entre ellos tal como se muestra en la tabla 5.

**Tabla 5. Influencia de la suplementación de cobre sobre los valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros de leucocitos, en los diferentes grupos y muestreos.**

Muestreo	Grupo control (Gbx10 <sup>9</sup> /L)	Grupo tratado (Gbx10 <sup>9</sup> /L)	EEM
1	4.005 Ab	4.600 Ab	0.6876
2	4.275 Bb	7.565 Aba	0.0376
3	10.600 Aa	10.255 Aa	0.9052
EEM	1.3173	1.5960	

EEM- Error estándar de la media

Letras iguales mayúsculas en la hilera no presentan diferencia estadística, al igual que letras minúsculas en la columnas (P<0.05).

Ciria, (2005) en sus estudios menciona que el Cu es uno de los minerales que genera un óptima respuesta inmunitaria en los animales, Potsma 2010, describe en un estudio que vacas con deficiencia de Cu inducidas manifestaron alteraciones en la concentración total de leucocitos.

Sin embargo con los valores obtenidos en las células blancas se observó una diferencia estadística en valores de mayor cantidad en el segundo muestreo entre ambos grupos; este incremento se manifestó en grupo experimental lo cual coincide con lo descrito por Silva (2000) donde menciona que el cobre estimula la capacidad de movimiento y fagocitosis de los leucocitos. Sin embargo al analizar en forma estadística los comportamientos entre ambos grupos con respecto al número de leucocitos no existe diferencia significativa entre ellos.



## **VII. Conclusiones**

Bajo las condiciones en las cuales se desarrollo este experimento se concluye que la Suplementación oral con 25 gramos de oxido de cobre en forma de bolos de liberación lenta (Agrimin 24-7) no tiene una influencia en incidencia de retención de secundinas en ganado Holstein, ni en el aumento de los valores séricos de hematocrito, hemoglobina, leucocitos y eritrocitos totales.

### **Recomendaciones y sugerencias.**

Incrementar el número animales debido a que existe una diferencia significativa del conteo leucocitario en la segunda muestra entre grupos, siendo el grupo experimental en el que se observo menos factores predisponentes de retención, tratar de determinar si la suplementación con cobre tiene una influencia directa.

Medir los niveles séricos de cobre en ambos grupos y no utilizar métodos indirectos como los que se utilizaron en este experimento (hematología), para determinar el porcentual de absorción del producto, independientemente de los contenidos de este mineral en la ración alimenticia.

## Literatura citada

- 1) Ahola, J.K., Engle, T.E., Burns, P.D. 2005. Effect of copper status, supplementation, and source on pituitary responsiveness to exogenous gonadotropin-releasing hormone in ovariectomized beef J Anim Sci.
- 2) Akar, Y., Yildiz, H. 2005. Concentrations of some minerals in cows with retained placenta and abortion Turk J. Vet. Anim. Sci. 29: 1157-1162.
- 3) Balbuena, O., Luciani, C.A., McDowell, L.R., Conrad, J.H., Martin, F.G. 2003. Estudios de la Nutrición Mineral de los Bovinos para carne del este de las provincias de Chaco y Formosa (Argentina). 1. Fósforo y Calcio. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. INTA EEA.
- 4) Balbuena, O., McDowell, L.R., Luciani, C.A., Conrad, J.H., Wilkinson, N., Martin, F.G. 2003. Estudios de la Nutrición Mineral de los Bovinos para carne del este de las provincias de Chaco y Formosa (Argentina). Cobre, Molibdeno y Azufre. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria pp. 1-8.
- 5) Barrios, M., Espartacos, S., Sánchez, D. 2011. Anemia microcítica hipocrómica en rumiantes. Mundo Pecuario, VII, Nº 3, 145-150.
- 6) Becerra, J.J. 2009. Influencia de distintos factores endógenos y exógenos sobre los parámetros reproductivos en hembras bovinas de raza Rubia Gallega. Tesis Doctoral. Departamento de Patología animal. Universidad de Santiago de Compostela.
- 7) Bolasell, D. 2005. Evaluación de distintas fuentes de cobre para rumiantes. Rev. Med. Vet. Porfenc SRI.

- 8) Bostwick, J.L. 1982. Copper toxicosis in sheep. J.A.V.M.. 180: 195.
- 9) Brem, J.J., Master, J., Pochon, D.O., Trulls, H.E. 2002. Alteraciones del ciclo estral provocadas por un alto ingreso de molibdeno en vaquillonas Brangus y respuesta a la suplementación con cobre. FCV UNNE Rev. Vet Cuba.
- 10) Bremner, I. 1987. Involvement of metallothionein in the hepatic metabolism of copper. The Journal of Nutrition American Institute of Nutrition. 19-29.
- 11) Brown, G.B., Roth, J.A. 1991. Comparison of the response of bovine and human neutrophils to various stimuli. Vol. 28:3-4.
- 12) Buckley, W.T. 1991. A kinetic model of copper metabolism in lactating dairy cows. Can J Anim. Sci. 71: 155- 166.
- 13) Carson, R.L., Caudle, A.B., Riddle, H.E. 1978. The relationship between narrow calcium-phosphorus ratio and reproductive problems in a dairy herd: a case report. Theriogenology 9:6,505-507.
- 14) Church, D.C. 1994. Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. México DF. UTEHA–Noriega editores.
- 15) Ciria, J.C., Villanueva, R.M., Ciria, G.J.T. 2005. Avances en nutrición mineral en ganado bovino. IX Seminario de pastos y forrajes.
- 16) Cuesta, M.M. 2011. Administración parenteral de un compuesto con cobre, zinc y manganeso en vacas lecheras. REDVET. Vol.12.
- 17) Curtís, C.R., Eib, H.N., Sniffen, C.I., Smith, R.D., Power, P.A., Smith, M. C., Whhe, M.E., Hillman, R.B., Pearson, E.J. 1983. Association of parturient

- hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. J Am Vet Med Assoc.
- 18) Deland, M.P.B., Cunningham, P., Milne, M.L., Dewey, D.W. 1979. Copper administration to young calves: oral dosing with copper oxide compared with subcutaneous copper glycinate injection. Australian Veterinary Journal. 55
- 19) Divier, A., Gómez, A., Bedoya, O. 2005. Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. Biotecnología Pecuaria, Semillero de Investigación SISMO. Vol. 2, No. 1:38-42.
- 20) Enjalbert, F., Lebreton, P., Salat, O. 2006. Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds: Retrospective study. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). 90
- 21) Fazzio, L.E., Mattioli, G.A., Picco, S.J., Traveria, G.E., Costa, E.F., Romero, J.R. 2006. Intoxicación Aguda con Cobre Inyectable en Bovinos. PV Albeitar pp.1-6.
- 22)** García, J.D., Cuesta, M.M., Pedroso, R.S., Gutiérrez, M., Mollineda, A.T., Figueredo, J.R. 2006. Efecto Del Cobre Sobre La Reproducción En Novillas Lecheras De Cuba. Rev. MVZ Cordoba vol.11 no.2.
- 23) Garcia, J.D., Cuesta, M.M., Pedroso, R.S., Rodriguez, J.M., Gutierrez, M.P., Mollienda, A.T., Figueredo, J.R., Quiñones, R.R. 2007. Suplementación parenteral de cobre en vacas gestantes: efecto sobre postparto y terneros Rev. MVZ Córdoba Vol. 12.
- 24) Gengelbach, G.P., Ward, J.P., Spears, J.W., Brown Jr. T.T. 2008. Effects of copper deficiency and copper deficiency coupled with high dietary iron or molybdenum on phagocytic cell function and response of calves to a respiratory disease challenge. J. Anim. Sci. Vol. 75.

- 25)Gómez, C., García, M. 2006. Nutrición e Inmunidad en Vacas Lecheras CONAEIZ. pp. 1-30.
- 26)Gooneratne, S.R., Buckley, W.T., Christensen, D.A. 1989. Review of copper deficiency and metabolism in ruminants. *Can J Anim Sci.*
- 27)Gutiérrez, A.J.C., Soto, C.G. 2005. Retención placentaria. *Universidad de Zulia.* 479:480
- 28)Harrison, J.H., Hannock, D.D., Conrad, K.R. 1984. Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow. *J. Dairy Sci.*, 67:123.
- 29)Heuwieser, W., Grunert, E. 1987. Significance of chemotactic activity for placental expulsion in cattle. *Theriogenology* 27:6,907-912.
- 30)Hincapié, J., Campo, E., Capallejas, B. 2008. *Trastornos Reproductivos en la Hembra Bovina*, 3 ed., Honduras: Litocom.
- 31)Hogan, J.S., Weiss, W.P., Smith, L. 1993. Role of vitamin E and Selenium in host defense against mastitis. *J. Dairy Sci*, 76:2795-2803.
- 32)INTA. E.E.A Corrientes, M. 2004. Animales Sin Cobre. *Rev. Brangus, Sitio argentino de Producción Animal.* 26(48):64-66.
- 33)Jessé, A., Pacheco, A.J.L., Rosciano, G.W.A., Villegas, C., Alcocer, W.M.V., Castellanos, A.F.R. 2002. Cuantificación del contenido de cobre y otros minerales en pollinazas producidas en el estado de Yucatán. *Tec. Pec. Mex.* Vol. 41 : 199-205.

- 34)Jubb, K., Kennedy, P.C. 1970. The pathology of domestic animals. 2d. Ed. Academic Press, New York.
- 35)Keen, C.L., Graham, T.W. 1989. Trace elements. In: Kaneko JJ, editor. Clinical biochemistry of domestic animals. 4th ed. San Diego (Ca): Academic Press.
- 36)Keen, C.L., Graham, T.W. 2008. Trace elements. In: Kaneko JJ, editor. Clinical biochemistry of domestic animals. 6th ed.
- 37)Kelton, D.F., Lissemore, K.D., Martin, R.E. 1998. Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. J. Dairy Sci. 81:2502-2509.
- 38)Laing, J.A., Brintey, M.W.J., Wagner, W.C., 1985. Fertilidad e Inseminación en la práctica veterinaria, 4ed., España: Interamericana Mc GRAW-HILL.
- 39) Legleiter, L.R., Ahola, J.K., Engle, T.E., Spears, J.W. 2007. Decreased brain copper due to copper deficiency has no effect on bovine prion proteins. Biochem Biophys Res Commun. Vol. 352, No. 4.
- 40)Maas, J.D.V.M. 2004. Retained placenta in beef cattle. UC Davis University of California; School of Veterinary Medicine; UCD Vet News; California Cattlemen´s Magazine California, EUA.
- 41)Manspeaker, J.E. 2005. Retained placentas Dairy integrated reproductive management. University of Maryland and West Virginia University EUA.
- 42)Mattioli, G.A., Fazzio, L.E., Picco, S.J. 2007. Efecto terapéutico de la suplementación estratégica con cobre en terneros de cría. Rev. vet. 18: 9–13.

- 43)Mattioli; M. Guliodori y Puchuri. 1997 Hipocupremia Bovina En 5 Partidos De La Provincia De Buenos Aires, Argentina, Rev. Vet. Arg. 12-17
- 44)McCaughan, C.M. 1992. Treatment of minerals disorders in cattle. Vet Clin North Am Food Anim Pract.
- 45)McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D. 2010. Animal Nutrition, 7th edition, Harlow, England: Pearson.
- 46)Mufarrege, D. 2003. El Cobre en la Ganadería del NEA. Sitio Argentino de producción animal. E.E.A Mercedes, Corrientes, Noticias y Comentarios. N° 381 pp. 1-4.
- 47)National Research Council (NRC), 1984. Nutrient Requirements of Domestic Animals. Nutrient Requirements of Beef Cattle. Sith revised edition. National Research Council, Washington D.C.
- 48)National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th revised edition. Washington, D.C Nutrient Requirements of Dairy Cattle.
- 49)Nederbragt, H., Van den Ingh, T.S.G.A.M., Wensvoort, P. 1984. Pathobiology of copper toxicity. Vet Quat; 6. 170-174
- 50) Pechín, G.H., Sánchez, L.O., Cseh, S. 2006. Evaluación de dos formas de administración (bolos de liberación lenta vs. EDTA Cu inyectable) en la prevención de la deficiencia de cobre en bovinos para carne. Ciencia Veterinaria. pp. 13.
- 51) Postma, G.C., Olivares, R.W.I., Minatel, L., Dallorso, M.E., Pera, A.R. y Carfagnini, J.C. 2010. Parámetros hematológicos en bovinos con

deficiencia de cobre inducida por altos niveles de molibdeno y sulfato en la dieta. Rev. Vet. Argentina. Vol. XXXI. N° 316.

52) Quiroz, R.G.F., Bouda J. 2001. Fisiopatología de las deficiencias de cobre en rumiantes y su diagnóstico. Veterinaria México. Vol. 32, Núm. 4:280-291

53) Radostits, O.M., Blood, D.C., Gay, C.C. 1994. Veterinary medicine. 8th ed. London (UK): Baillière Tindall.

54) Ramirez, C.E., Tittareffi, C.M., Mattioli, G.A., Guliodori, M., Puchuri, M.C. 1997. Hipocupremia Bovina En 5 Partidos De La Provincia De Buenos Aires, Argentina [en línea] Rev. Vet. Arg.

55) Rocha, J.C., Córdova, I.A. 2008. Causas de retención placentaria en el ganado bovino. RECVET.

56) Rosa, D.E., Mattioli, G.A., 2008. Metabolismo y deficiencia de cobre en bovinos. PV Albeitar.

57) Scaletti, R.W., Trammell, D.S., Smith, B.A., Harmon, R.J. 2003. Role of Dietary Copper in Enhancing Resistance to Escherichia coli Mastitis. J. Dairy Sci. Vol. 86, No. 4.

58) Silva, J.H., Moreno, R.M.J. 1998. Calcio y Vitamina D. Su relación con el sistema inmunológico. Med. Vet. Barcelona 15(I):15-22.

59) Silva, J.H., Quiroga, M.A., Auza, N.J. 2000. Retención Placentaria En La Vaca Lechera. Su Relación Con La Nutrición Y El Sistema Inmune Departamento de Fitopatología. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.



- 60) Suttle, N.F. 1980. The role of thiomolybdates in the nutritional interactions of copper, molybdenum and sulfur: fact or fantasy. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 355:195–207.
- 61) Suttle, N.F. 2010. Copper. In *Mineral nutrition of livestock*. 4th ed. Wallingford, UK: CABI International. p. 255–305.
- 62) Tomlinson, D.J., Mulling, C.H., Fakler, T.M. 2004. Invited Review: Formation of Keratins in the Bovine Claw: Roles of Hormones, Minerals, and Vitamins in Functional Claw Integrity. *J. Dairy Sci.* Vol. 87, No. 4 790-801.
- 63) Underwood, E.J., Suttle, N.F. 1999. *The Mineral Nutrition of Livestock* 3rd edition. CABI Publishing. London. UK.
- 64) Xin, Z., Waterman, D.F., Hemken, R.W., Harmon, R.J. 1993. Copper Status and Requirement during the Dry Period and Early Lactation in Multiparous Holstein Cows. *J. Dairy Sci.* Vol. 76, No. 9:2711-2716.
- 65) Yost, P., Arthington, J.D., McDowell, L.R., Martin, F.G., Wilkinson, N.S., Swenson, C.K. 2002. Effect of Copper Source and Level on the Rate and Extent of Copper Repletion in Holstein Heifers. *J. Dairy Sci.* Vol. 85.