

## ADMINISTRACIÓN DE SULFATO DE COBRE SOBRE LA HEMOQUÍMICA, HEMATOLOGÍA Y BIOACTIVIDAD DEL LÍQUIDO RUMINAL EN VACAS

Juan García D<sup>1\*</sup>, Mario Cuesta M<sup>1</sup>, Rodolfo Pedroso S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central de Las Villas. Santa Clara Villa Clara. Cuba. <sup>2</sup>Instituto de Ganadería Tropical (IGAT). Habana, Cuba \*Correspondencia: juanramon@agronet.uclv.edu.cu

### RESUMEN

El trabajo se realizó en unidades de producción pertenecientes a la Granja Pecuaria Santa Clara de la provincia de Villa Clara. Se estudiaron 150 hembras bovinas divididas en tres grupos de tratamientos, (A, B y C) de 50 animales cada uno. El grupo A, control; el B, fue tratado con 2 ml (25 mg/ml) de un compuesto de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) inyectado subcutáneamente (alopáticamente) y el grupo C, se trató con acupuntura utilizando 0.1 ml de dicho producto subcutáneamente en el punto PaHuai o Bahuai; los animales del grupo A, no recibieron ningún tratamiento. A los animales de los grupos tratados (B y C) se les repitió el tratamiento cada 60 días en dos aplicaciones más. Los análisis hematológicos y hemoquímicos se efectuaron en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central de Las Villas. Los datos obtenidos fueron valorados mediante el paquete estadístico Statgraphics Plus 4.1. Las investigaciones hematológicas y hemoquímicas en los animales confirmaron la existencia de la carencia de cobre en los animales y la respuesta a la suplementación de los mismos ya que aumentaron significativamente ( $p < 0.05$ ) los niveles del K, Cu, Fe, Hto, Hb y la bioactividad del líquido ruminal. Además, en el grupo tratamiento C sólo se utilizó un veinteavo de la dosis alopática suministrada a el grupo B. Ello muestra la factibilidad de la cuproterapia alopática empleada, tanto alopáticamente como la acupuntural en el acupunto Baihuai para incrementar los perfiles hematológicos, hemoquímicos y la bioactividad ruminal.

**Palabras Clave:** Cobre, Hipocupremia, Cuproterapia, Bioactividad ruminal.

## DIRECTION FOR COPPER SULPHATE ON THE HAEMOCHEMIST, HAEMATOLOGY AND BIOACTIVITY OF RUMINAL FLUID IN CATTLE

### ABSTRACT

The research work was carried out in dairy production units belonging to the Dairy Cattle Farm at Santa Clara in Villa Clara province, Cuba. One hundred and fifty bovine females were divided in three groups to study the following treatments: A; B and C, fifty animals each one; A, control; B, it was treated with 2 ml of  $\text{CuSO}_4$ , (25mg/ml), compound injected subcutaneously (allopathically) and C, treated with acupuncture, using 0.1 ml of the compound mentioned before, also injected subcutaneously in the point PaHuai or

Bahuai. The animals included in the group A weren't treated. Animals included in groups B and C received a repeated treatment every 60 days in two applications more. There were statistically significant differences  $P < 0,05$  in the treated groups compared with the control. Higher levels of K, Cu, Fe, Hto and Hemoglobin and ruminal liquid bioactivity was observed in treated groups. In addition, in group C, one/twenty of the allopathic doses were used. The feasibility of cuppertherapy was demonstrated applying both allopathically and acupunctural methods in order to increase the hematological and hemochemical profiles. The ruminal bioactivity was also improved.

**Key words:** Cupper; Hypocupperhemic, cuppertherapy, ruminal bioactivity.

## INTRODUCCIÓN

La deficiencia de cobre (Cu) o hipocuprosis es la segunda carencia mineral más frecuente en bovinos en pastoreo en el mundo, después de la de fósforo. (Underwood et al. 1999). En Cuba se ha diagnosticado deficiencias de Cu en un 77% del ganado bovino (Pedroso 2005; Fajardo et al. 2004). Por otra parte, la deficiencia de cobre también se ha comunicado en ovinos y bovinos en Brasil y México (Da Silva et al. 1999) así como en Argentina (Ávila et al. 1997; Ruksan 1985; Ramírez et al. 1997; Minatel et al. 1998).

Dado que el cobre es un elemento esencial para la formación de la hemoglobina; la deficiencia del mismo da lugar entre otros problemas a la anemia (Prohaska 1991). La aplicación de cobre por vía parenteral en ratas produjo aumentos significativos de los niveles de cobre hepático y plasmático a favor del grupo suplementado con cobre (Brem et al. 2004). Resultados similares reportaron anteriormente Igarza et al. (1999).

Por su parte Nuñez et al (1976) empleando inyecciones de 200 mg., de cobre elemental cada cuatro meses, lograron en un año aumentos de los niveles de cobre y de peso en novillos; estos resultados fueron corroborados más tarde por Forchetti et al (1986). En animales con hipocuprosis la respuesta a la suplementación suele ser rápida y produce una notable mejoría del estado general (Espinet 1987). El objetivo de este trabajo fue diagnosticar la carencia de cobre y la evaluación del efecto de la administración por vía parenteral de un compuesto de sulfato de cobre sobre la hepatología, la hemoquímica y la bioactividad del líquido ruminal.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 150 vacas y novillas del genotipo racial Siboney de cuba, de cinco rebaños lecheros pertenecientes a la granja pecuaria Santa Clara y a la empresa pecuaria "La Vitrina", ubicadas en la provincia Villa Clara. Las hembras se dividieron en tres grupos de 50 animales cada uno. El grupo A, sirvió de control y no recibió tratamiento. El grupo B, fue tratado con 2ml de  $\text{CuSO}_4$  (25mg/ml), inyectado subcutáneamente (alopáticamente) y el grupo C se inyectó subcutáneamente con 0.1 ml de  $\text{CuSO}_4$  en el punto PaHuai o Bahuai (espacio lumbosacro). A los animales de los grupos B y C se les repitió el tratamiento cada dos meses hasta completar un total de tres aplicaciones.

Los análisis hematológicos y bioquímicos se efectuaron en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central de Las Villas. La hemoglobina se determinó por el método de cianometahemoglobina (Drabkin 1970), dosificada fotocolorimétricamente con un Spekol-11. El hematocrito, por micro hematocrito con tubo capilar; el conteo total de leucocitos en cámara de Newbawer con micropipetas de Thomas y solución de ácido acético al 2% y el conteo diferencial, por tinción de Giemsa contando 200 células en microscopio (Olympus med Bañes, Japón). El calcio, magnesio, sodio, potasio, zinc, hierro y cobre se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica (SP-9- Pye Unicam).

El líquido ruminal se obtuvo a través de sonda bucoesofágica (Rosemberger (1983) y se determinó el pH con un papel indicador inmediatamente. La sedimentación-flotación se realizó colocando 20 ml de líquido ruminal en un tubo de ensayo y se midió el tiempo empleado por las partículas livianas

en flotar y las pesadas en sedimentar. La prueba de bioactividad ruminal se realizó depositando 1 ml de azul de metileno (0.03%) en un tubo de ensayo y se le añadió 20 ml de líquido ruminal. Igual cantidad se tomó como patrón midiéndose el tiempo empleado en decolorarse la muestra que contenía el azul de metileno (Roussel 2003).

Se evaluaron los parámetros hemoquímicos, hematológicos y la bioactividad ruminal entre los tres grupos antes y después del tratamiento, así como la respuesta a la administración del compuesto inyectable de sulfato de cobre al inicio y al final del experimento en los animales del mismo grupo. Los datos obtenidos fueron agrupados, ordenados y analizados estadísticamente. Las diferencias entre medias (ANOVA) de los datos hemoquímicos y de la bioactividad del líquido

ruminal se analizaron mediante el paquete estadístico Statgraphics Plus 4.1.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los animales al inicio de la investigación presentaron deficiencias de cobre evidenciadas en los valores promedios en sangre (10.23 y 11.53 mmol/l vacas y novillas respectivamente). El 90% de los animales presentaron valores de cobre sérico inferiores a los normales y el 10% restante presentaron valores subnormales. En la figura 1 se observan los porcentajes de animales con deficiencias tanto en cobre como de otros minerales. Por otra parte se diagnosticó una baja bioactividad del líquido ruminal en el 50% de las hembras.

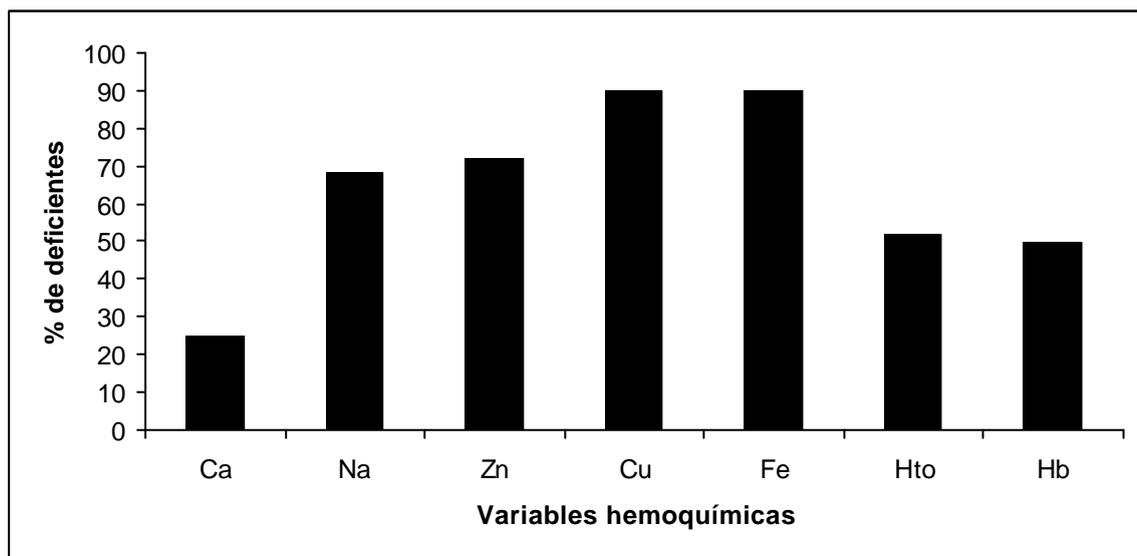


Figura 1. Comportamiento de los parámetros hemoquímicos y hematológicos.

En las tablas 1 y 2 se observan los resultados de la respuesta hemoquímica al final del periodo, observándose diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) pre y postratamiento en K, Cu, Fe, Zn, Fe, Hematocrito, hemoglobina y bioactividad ruminal a favor de los animales postratamiento en los grupos B y C; en cambio en el grupo A sólo

aumentó de manera significativa el valor del Zinc ( $p < 0.05$ ). En el grupo C sólo se utilizó un veinteaño de la dosis alopática suministrada al grupo B. ello muestra la factibilidad de la cuproterapia acupuntural en el acupunto Baihuai. El preparado no provocó reacciones inflamatorias indeseables, ni tuvo efectos pirógenos.

**Tabla 1.** Valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros hemoquímicos evaluados antes y después del tratamiento.

G	M	Ca(mmol/l)	Mg(mmol/l)	Na(mmol/l)	K(mmol/l)	Zn( $\mu$ mol/l)	Cu( $\mu$ mol/l)	Fe( $\mu$ mol/l)
A	I	2.40 $\pm$ 0.11	0.88 $\pm$ 0.06	135.3 $\pm$ 5.3	4.7 $\pm$ 0.3	14.7 $\pm$ 2.0 <sup>a</sup>	11.5 $\pm$ 1.51	18.6 $\pm$ 2.7
	F	2.29 $\pm$ 0.09	0.88 $\pm$ 0.05	134.2 $\pm$ 4.7	4.8 $\pm$ 0.4	18.5 $\pm$ 2.3 <sup>b</sup>	11.0 $\pm$ 1.08	19.0 $\pm$ 1.8
B	I	2.42 $\pm$ 0.11	0.90 $\pm$ 0.08	136.0 $\pm$ 5.4	4.4 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	14.7 $\pm$ 2.0 <sup>a</sup>	11.3 $\pm$ 1.24 <sup>a</sup>	18.0 $\pm$ 2.5 <sup>a</sup>
	F	2.33 $\pm$ 0.10	0.92 $\pm$ 0.08	134.9 $\pm$ 5.2	4.8 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>	18.9 $\pm$ 2.3 <sup>b</sup>	13.3 $\pm$ 2.37 <sup>b</sup>	20.4 $\pm$ 3.1 <sup>b</sup>
C	I	2.41 $\pm$ 0.10	0.87 $\pm$ 0.05	134.8 $\pm$ 5.3	4.6 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	13.9 $\pm$ 2.4 <sup>a</sup>	11.4 $\pm$ 1.43 <sup>a</sup>	18.5 $\pm$ 2.7 <sup>a</sup>
	F	2.38 $\pm$ 0.06	0.89 $\pm$ 0.04	133.1 $\pm$ 4.6	4.8 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	16.5 $\pm$ 2.4 <sup>b</sup>	12.5 $\pm$ 1.25 <sup>b</sup>	20.1 $\pm$ 1.7 <sup>b</sup>

G = Grupos; M = Momento de observación; I = Inicial; F = Final.

ab = medias con diferente letras en la misma columna difieren significativamente (P < 0.05).

**Tabla 2.** Valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros hematológicos y la bioactividad ruminal antes y después del tratamiento.

G	M	Hematocrito (L/l)	Hemoglobina (g/l)	BR (minutos)
A	I	0.33 $\pm$ 0.03	109.2 $\pm$ 9.99	6.8 $\pm$ 1.20
	F	0.33 $\pm$ 0.04	100.6 $\pm$ 10.99	7.01 $\pm$ 0.53
B	I	0.33 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	105.7 $\pm$ 10.16 <sup>a</sup>	6.5 $\pm$ 0.85 <sup>a</sup>
	F	0.38 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	118.5 $\pm$ 9.92 <sup>b</sup>	5.9 $\pm$ 0.78 <sup>b</sup>
C	I	0.32 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	107.6 $\pm$ 8.54 <sup>a</sup>	6.7 $\pm$ 1.12 <sup>a</sup>
	F	0.37 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	116.7 $\pm$ 7.44 <sup>b</sup>	6.1 $\pm$ 1.08 <sup>b</sup>

Los valores de las correlaciones (tabla 4) fueron significativos entre el cobre sérico y la CC (r= 0.58), con la bioactividad ruminal (r= 0.46) y el

hematocrito (r= 0.64), siendo altamente significativa con el hierro (r= 0.84) y la hemoglobina (r= 0.72).

**Tabla 4.** Correlación del cobre sérico y la condición corporal, parámetros hematológicos, hemoquímicos y la bioactividad ruminal.

	Hematocrito		Hemoglobina		Hierro		Zinc		CC		BR	
	c	r	c	r	c	r	c	r	c	r	c	r
Cu	*	0.64	**	0.72	**	0.84	0	0.35	*	0.58	*	0.46

Los resultados de la hemoquímica y hematología obtenidos coinciden con lo reportado por otros autores en Cuba y otros países, entre ellos (González et al. 1990; Da Silva et al. 1999; Pedroso 2002; Pico et al. 2002; Cuesta et al. 2003 y García y Cuesta 2004). Estos están por debajo de 12.6 micromoles por litro, (mmol/l), valor considerado normal para la especie bovina, coincidiendo con lo planteado por Jagos et al (1982) y Graham (1991). Según lo planteado por Phillipppo (1987) el órgano de reserva del mineral, el hígado, moviliza las mismas para el torrente circulatorio por lo que en casos de valores subnormales de la cupremia se podría estar considerando una hipocuprosis.

La determinación del contenido de Cu en el hígado es la técnica más precisa para conocer el estado corporal del mismo. Se efectúa por espectrofotometría de absorción atómica, previa digestión de tejido. Sin embargo, esta técnica presenta complicaciones porque la obtención de muestras por biopsia es un método invasivo y los propietarios son renuentes a permitir la toma de muestras. Igualmente es complicado acceder a los animales en los mataderos y por otro lado, son pocos los laboratorios que pueden realizar estas determinaciones (Wikse 1992).

Una alternativa que se ha descrito para tener una aproximación del estado de cobre en los animales, es la determinación de sustancias con Cu en su molécula, como la ceruloplasmina (Cp), la citocromo-oxidasa y la superóxido dismutasa de los eritrocitos. Mulryan y Mason (1992). No obstante a ello estas son técnicas muy costosas y poco sencillas que requieren de laboratorios altamente especializados. No obstante, Telfer et al (1996) y Soler et al (2004) encontraron una correlación altamente significativa entre el Cu total sérico y ceruloplasmina oxidada ( $r = 0,76$ ), lo cual es explicable si se tiene en cuenta que en animales normales aproximadamente el 95 % del Cu total se encuentra unido a la ceruloplasmina oxidada (Smart y Christensen 1985).

Es conveniente utilizar una técnica rápida y relativamente sencilla, empleando métodos menos invasivos de obtención de muestras. Por ello se decidió determinar los niveles de cobre y de otros minerales midiendo la concentración en plasma/suero. Con relación a los demás minerales y la

hepatología (Ca, Mg, Na, Zn, Fe, Hto y Hb, gráfico 1) se observaron deficiencias apreciables ya que más del 19 % de los individuos presentaron valores inferiores a los de referencia según lo planteado por Cuesta (2003).

Los resultados de la hemoquímica y hematología están en correspondencia con los reportados por García (2003) y Gutiérrez (2004). Estos autores han reportado en vacas y terneros severas deficiencias de cobre, fósforo, calcio y hierro y bajos valores de la hemoglobina y del hematocrito. Resultados similares a los de estos autores fueron reportados por Kolb (1987) y García et al (2005), quienes obtuvieron además una correlación alta y positiva entre la concentración de hemoglobina y el volumen globular (0.694).

Los bajos valores de la hemoglobina encontrados por nosotros pueden explicarse por los tres factores; primero, la hipocupremia conlleva a una disminución de la actividad de la ceruloplasmina (Keen y Graham 1989). Según lo planteado por Herrera (1991) la Ceruloplasmina cataliza la conversión del hierro, al oxidarlo del estado ferroso al estado férrico a nivel de superficie celular, por ello recibe el sinónimo de ferroxidasa y este mecanismo es el que justifica la aparición de anemia en los animales deficientes en Cu. Como segundo factor se encuentra la reducción de la vida media de los eritrocitos debido a la disminución en la actividad de la SOD eritrocitaria durante la hipocuprosis (Gooneratne et al. 1989) y el tercero, porque durante la hipocupremia se afecta el metabolismo del hierro y este es fundamental para la formación de la hemoglobina, principal componente del eritrocito (Cuesta 2003).

La bioactividad del líquido ruminal se consideró baja porque el tiempo de reducción del azul de metileno es superior a los seis minutos coincidiendo con lo planteado por Rosemberger (1983) y Roussel (2003). Estos autores plantean que una decoloración del reactivo inferior a 6 minutos indica la existencia de una flora ruminal activa, en cambio cuanto mayor sea el tiempo de clarificación, a partir de este tiempo menor será esta actividad.

Los resultados obtenidos una vez aplicada la cuproterapia están en correspondencia con los obtenidos por diferentes autores, quienes al

respecto han demostrado los beneficios de suplementar y/o tratar la deficiencia de cobre en bovinos utilizando compuestos de cobre de liberación lenta por vía parenteral (Balbuena et al. 1985). La suplementación parenteral de cobre incrementa los niveles séricos del oligoelemento, de la hemoglobina, del hematocrito y contribuye además, con la ganancia de peso en novillos (Rabotnikof et al.1983; Carrillo et al. 1978).

Viejo y Casaro (1993) encontraron en un campo con hipocuprosis, que la suplementación parenteral con cobre en terneros aumentó la cupremia, las ganancias de peso diarias y los pesos al destete, independientemente de si los terneros provenían de madres con o sin suplementación con cobre. Los más bajos niveles de cobre hepático al nacimiento provinieron de las madres sin suplementación con cobre, y la falta de suplementación en esos terneros durante su período de crecimiento, produjeron los más bajos niveles de cobre plasmático y hepático y los más bajos pesos al destete. La mejor respuesta se obtuvo en la combinación madres suplementadas-terneros suplementados.

Se sabe que el glicinato de cobre mantiene una reserva hepática de cobre elevada durante un período prolongado, y se refleja en la actividad

sérica de la ceruloplasmina; lo que confirma que el glicinato de cobre puede ser utilizado con resultados satisfactorios para el tratamiento de la deficiencia de cobre (Quiroga et al. 1995; Minatel et al.1998).

Por su parte Balbuena et al (1999) en Argentina, en un rebaño con deficiencia de cobre en sangre pero sin sintomatología de hipocuprosis lograron aumentos significativos de la hemoglobina y del volumen globular ( $P < 0,05$ ) en terneros y las concentraciones de Cu en suero ( $P < 0,01$ ) en terneros y vacas que recibieron la cuproterapia por vía parenteral.

García y Cuesta (2004) al administrar sulfato de cobre por dos vías, subcutánea y en el acupunto BaHuai, lograron en ambos grupos de tratamientos aumentar ( $p < 0.05$ ) los niveles de cobre sérico, el hierro, la hemoglobina, el hematocrito y la condición corporal de los animales tratados.

En conclusión, se obtuvo correlación clínica entre el diagnóstico de la carencia de cobre en hembras bovinas y la terapéutica empleada. La cuproterapia empleada brindó resultados satisfactorios que se reflejaron en indicadores superiores de salud de los animales apreciables en los perfiles hemoquímicos y hematológicos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ávila GJ, Bouda J, Quiroz RGF, Yabuta OA. Impacto de deficiencias minerales sobre la reproducción de vacas lecheras. Memorias del XXI Congreso Nacional de Buiatría; 1997 Julio 9-12; Colima (Colima) México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1997; 191-193.
2. Balbuena O, McDowell LR, Stahinger RC. Suplementación con cobre inyectable en terneros y vacas con hipocupremia. Vet Arg 1999; 154:272-280.
3. Balbuena O, Luciani CA, Toledo HO. Efecto de la administración de cobre inyectable sobre algunos valores hemáticos en bovinos con hipocuprosis. Vet Arg 1985; 2:358-368.
4. Brem JJ, Pochon DO, Trulls HE. Ratras sometidas a dietas con exceso de molibdeno y deficientes en cobre. Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 1997. Secretaría General de Ciencia y Técnica -UNNE.
5. Carrillo BJ, Bingley JB, Ruksan BE. Efecto de la administración de cobre por vía parenteral sobre la concentración de cobre plasmático y el peso vivo en bovinos. Prod Anim 1978; 6:612-619.
6. Cuesta M, Cuesta A, Gil L, García JR. Condición corporal de las vacas lecheras y su relación con indicadores productivos, de reproducción, de la calidad de la leche y

- parámetros de bioactividad ruminal y sanguíneos. Segunda conferencia internacional sobre desarrollo agropecuario y sostenibilidad. Santa Clara, Villa Clara, Cuba Junio 2003.
7. Cuesta M. Medicina Interna Veterinaria. Libro de texto, UCLV, 2003. ISBN 959-250-105- X.
  8. Da Silva MS, Hubinger TC, Döbereiner J. Deficiências e desequilíbrios de microelementos em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. *Pesq Vet Bras* 1999; 19:19-33.
  9. Drabkin. Manual de Técnicas de Laboratorio Clínico. MINSAP. (1970). Cuba.
  10. Espinet RG. Actualización Técnica Sobre Hipocuprosis en Rumiantes. *Vet. Arg.* 1987; Vol. IV N° 35:407-415.
  11. Fajardo H, Viamonte M, Rondón G, Aliaga A, Leyva M, Sánchez M, Constenla L. Procedimientos para el control de la reproducción en rebaños bovinos de leche. Memorias del II Congreso internacional de agricultura en ecosistemas frágiles y degradados. Bayamo, Granma, Cuba 1-3 de diciembre del 2004.
  12. Forchetti O, Maffrand C, Mortara L, D'Amico A. Convenio Univ. Nac. Río Cuarto-AACREA Zona Centro. Cátedra de Semiología y Análisis Clínicos, Fac de Agr y Vet 1986; U.N.R.C. Río Cuarto.
  13. García JR. Estudio del estado de salud y producción de una unidad pecuaria con especial referencia al diagnóstico de la condición corporal y su relación con parámetros de producción y salud. Trabajo de diploma. Departamento de Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central de las Villas. 2003.
  14. García JR, Cuesta M. Acupuntura veterinaria en la ganadería agroecológica. II: Acupuntura en la profilaxis del anestro en novillas. Memorias del II Simposio internacional de ganadería agroecológica Las Tunas, Cuba 11-12 Noviembre del 2004.
  15. García JR, Cuesta M. Diagnóstico y tratamiento de la deficiencia de cobre y su efecto sobre la reproducción y el estado de salud de las hembras bovinas. Memorias del II Congreso internacional de agricultura en ecosistemas frágiles y degradados. Bayamo, Granma, Cuba 1-3 de diciembre del 2004.
  16. García S, Mencho JD, Guerra Y, Marin E, Vale M, Correspondencia entre el color de la mucosa conjuntival y el eritrograma en vacas mestizas - *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*®, ISSN 1695-7504, Vol. VI, n° 06, Junio /2005. *Veterinaria.org*® - Comunidad Virtual *Veterinaria.org*® <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060605.html>
  17. González N, Pedroso R, Roler F. Deficiencias minerales en el ganado bovino. Citado por Cuesta, M. Medicina Interna Veterinaria. Libro de texto, UCLV, 2003. ISBN 959-250-105-X.
  18. Gooneratne SR, Buckley WT, Christensen DA. Review of copper deficiency and metabolism in ruminants. *Can J Anim Sci* 1989; 69:819-845.
  19. Graham TW. Trace element deficiencies in cattle. *Vet Clin North Am: Food Anim Pract* 1991; 7:153-215.
  20. Gutiérrez M. Diagnóstico de los niveles hemoquímicos y hematológicos en vacas lecheras y terneros lactantes. Tesis presentada en opción al título de master en medicina veterinaria preventiva. Departamento de medicina veterinaria. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central de las Villas. 2004.
  21. Herrera C. Bioquímica. 2ª ed. Vol II. México (DF): McGrawHill-Interamericana, 1991.
  22. Igarza L, Quiriga MA, Agostini M del C, Auza N. Modelo experimental para el estudio de la Molibdenosis y de la Deficiencia Primaria de Cobre en Ratas. *Acta Physiol Pharmac Therap Latinoam.* 1999; 49:170-176.

23. Jagos P, Bouda J, Kredl F, Pedroso R. "Los valores bioquímicos y hematológicos de los animales domésticos y las nuevas expresiones de los resultados". CIMA, La Habana, Cuba, 17 pp.1982.
24. Keen CL, Graham TW. Trace elements. In: Kaneko JJ ed. Clinical biochemistry of domestic animals. 4th Ed. San Diego: Academic Press, Inc, 1989.
25. Kolb E. Fisiología veterinaria, 3 ed., Acribia, Zaragoza, 1987; p.464-475.
26. Minatell L, Buffarini MA, Dallorso ME, Homse A, Carfagnini JC. Relevamiento mineral de la región noroeste de la provincia de Buenos Aires. Rev Arg Prod Anim 1998; 18:67-75.
27. Mulryan G, Mason J. Assessment of liver copper status in cattle from plasma copper and plasma copper enzymes. Ann Rech Vet 1992; 23:233-238.
28. Nuñez A, Rubies H, Filippini L, Volonteri H. Respuestas al tratamiento con complejos de cobre en bovinos con hipocuprosis. Gac Vet 1976; 38:522-530.
29. Pedroso, R. Conferencia sobre reproducción de la hembra bovina. XVIII PANVET. Noviembre del 2002. Palacio de Las Convenciones La Habana, Cuba.
30. Pedroso R. Conferencia Reproducción de la Hembra Bovina. Reunión Nacional de Reproducción, Sancti Spiritus. Cuba. 2005
31. Phillippo M, Humphries WR, Atkinson T. The effect of dietary molybdenum and iron on copper status, puberty, fertility and oestrous cycles in cattle. J Agric Sci 1987; 109:321-336.
32. Picco S, Mattioli G, De Luca JC, Fazzio LE, Romero JR, Dulout FN. Avances en el estudio de indicadores de la hipocuprosis bovina. Revista del Colegio de Veterinarios de la Provincia de Buenos Aires. 2002; 24: 36-39.
33. Prohaska JR. Changes in Cu, Zn- superoxide dismutase, cytochrome c-oxidase, glutathione peroxidase and glutathione transferase activities in copper-deficient mice and rats" J. Nutr. 1991; 121:355-363.
34. Quiroga ML, Igarza R, Landa M, Ruiz M, Perotti R, Silva E. Evaluación del tratamiento con glicinato de cobre en bovinos con deficiencia de cobre. Rev Arg Prod Anim 1995; 15:806-808.
35. Rabotnikof CM, Gonella CA, Stritzler NP, Floris NR. Efecto de la suplementación parenteral de cobre sobre los niveles de cobre en sangre y la ganancia de peso en novillos en el área de General Villegas. Rev Arg Prod Anim 1983; 3:446-457.
36. Ramírez CE, Tittarelli CM, Mattioli GA, Giuliadori MJ, Puchuri MC. Hipocupremia bovina en 5 partidos de la provincia de Buenos Aires. Argentina. Vet Arg 1997; 14:12-17.
37. Rosenberger G. Enfermedades de los Bovinos. 1ª Edición. Tomo II. Editorial Hemisferio Sur S.A. 1983; 321-324.
38. Roussel A. Procedimientos simples para casos complicados en la clínica de ganado vacuno: discusión sobre casos. WWW.Providesa.Com. 2003.
39. Ruksan B. Mapa de microelementos en forrajeras de Argentina. Rev Arg Prod Anim 1985; 4:89-98.
40. Smart ME, Christensen DA. The effect of cows dietarycopper intake, sire breed, age on her copper status and that of her fetus in the first ninety days of gestation. Can J Comp Med 1985; 49:156-158.
41. Soler JP, Moore DP, Cseh SB. Empleo del cobre sanguíneo y hepático para determinar su deficiencia y su repercusión sobre el estado de salud de los bovinos © <http://www.exopol.com/default.html>. 2004.
42. Telfer SB, Mackenzie AM, Illingworth DV, Jackson DW. The use of caeruloplasmin activities and plasma copper concentrations as indicators of copper status in cattle. Proceedings of the XIX World Buiatrics

- Congress; 1996 July 8-12; Edinburgh (UK).  
Edinburgh (UK): British Cattle Veterinary  
Association, 1996; 402-404.
43. Underwood EJ, Suttle NF. The Mineral  
Nutrition of Livestock. CABI Publishing.  
London. UK. 1999.
44. Viejo RE, Casaro AP. Efectos de la  
suplementación con cobre sobre la ganancia  
de peso, cobre hepático y plasmático en  
terneros. Rev Arg Prod Anim 1993; 13:97-  
105.
45. Wikse SE, Herd D, Field R, Holland P. Diagnosis  
of copper deficiency in cattle. J Am Vet Med  
Assoc 1992; 200:1625-1629.

*Recibido: 17 de Octubre de 2005; aceptado: 10 de Diciembre de 2005*