



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ESTUDIOS DE EFICACIA Y DISTRIBUCIÓN  
GASTROINTESTINAL DE PARTÍCULAS DE ÓXIDO  
CÚPRICO EN CIERVOS ROJOS (*Cervus elaphus*)

INFORME FINAL DEL TRABAJO PROFESIONAL EN EL  
EXTRANJERO QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA

**FERNANDA CASTILLO ALCALÁ**

Asesores

Dr. Francisco J. Trigo Tavera  
Prof. Peter R. Wilson



México, D.F.

2006



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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 todas las personas que me han acompañado a lo largo de este recorrido, en especial a mi hermana Nuny quien me enseñó que una caminata de mil kilómetros empieza con un paso y a Nacho por caminar conmigo.

## AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincera gratitud a todas las personas que directa e indirectamente participaron en la realización de este proyecto. En especial a mis asesores, Dr. Francisco J. Trigo Tavera por su apoyo incondicional y por brindarme siempre su confianza y Prof. Peter R. Wilson por darme la oportunidad de trabajar a su lado y participar en todos sus proyectos de investigación.

A mis compañeros de trabajo de la Universidad de Massey en Nueva Zelandia, Alejandra Ayanegui, Geoff Purchas, Martin Chesterfield, Natasha Swainson, Roos Molenaar y Marleen Broekjuise. Al Dr. Nicolas López-Villalobos por la ayuda proporcionada con el análisis estadístico y a Neville Grace por su asesoría en el proyecto. A la familia Pullar por habernos dejado trabajar con sus animales y a los Laboratorios Parnell, Nueva Zelandia por financiar el proyecto.

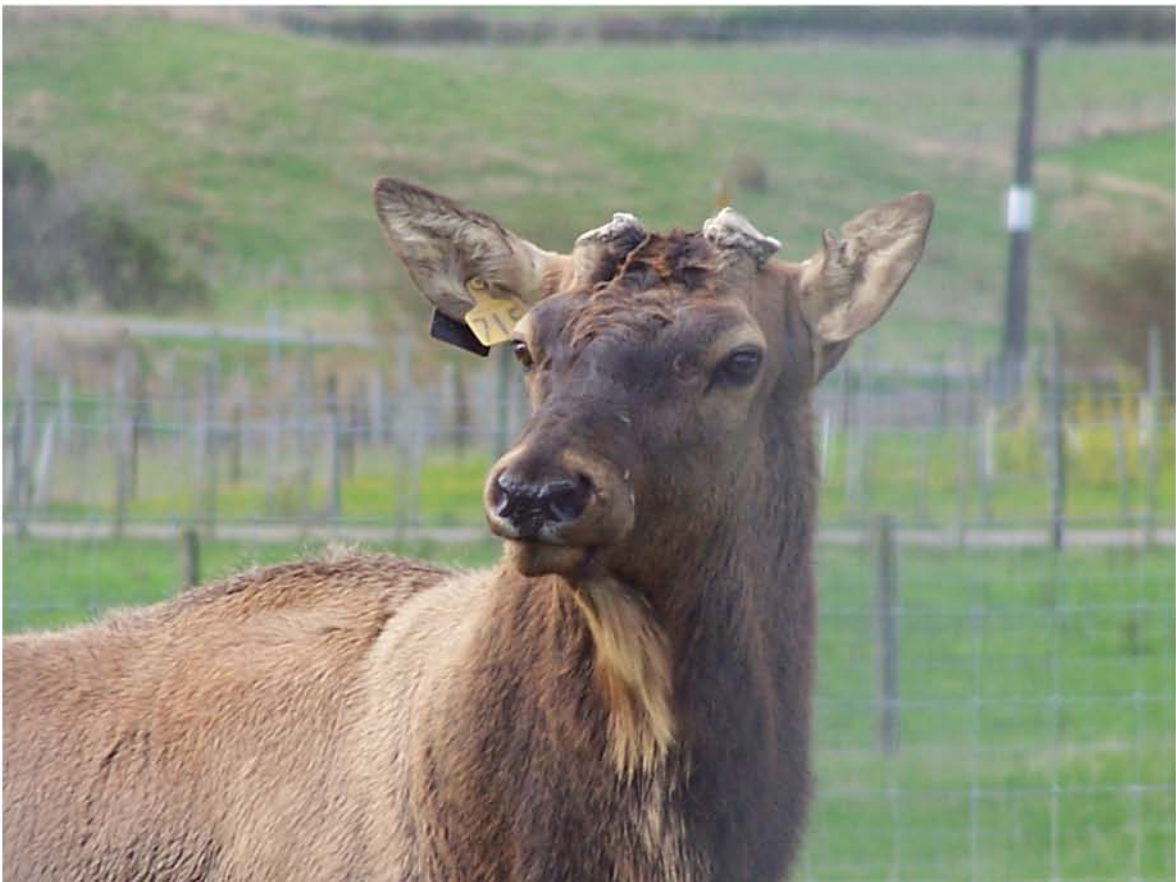
A todos mis amigos, por mantenerse cerca mientras estuve lejos y a todos mis profesores de la FMVZ y de la Universidad de Massey por su dedicación y paciencia.

Gracias en especial a mi familia, porque sin su apoyo, nada de esto hubiera sido posible. Finalmente, gracias a Dios por permitirme estar viva.

## CONTENIDO

Introducción	2
Antecedentes	2
Trabajo profesional en el extranjero	2
Objetivo General	3
Contenido	4
Actividades realizadas durante el Trabajo Práctico	4
Trabajo de investigación	15
Introducción	16
Materiales y métodos	18
Resultados	23
Discusión	27
Conclusiones	33
Referencias	35
Anexos	39

**INFORME DEL TRABAJO PROFESIONAL EN EL EXTRANJERO EN  
LA MODALIDAD DE ANIMALES DE PRODUCCIÓN**



## **Introducción**

### ***Antecedentes***

La Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Massey se localiza en Palmerston North, Nueva Zelanda. La Facultad se inauguró en 1964 y actualmente forma parte del Instituto de Ciencias Veterinarias, Animales y Biomédicas (IVABS). La Universidad de Massey es la única institución en Nueva Zelanda que imparte la carrera de Medicina Veterinaria y es una de las siete escuelas fuera de los Estados Unidos de América y Canadá que se encuentra acreditada por la Asociación Americana de Medicina Veterinaria (AVMA).

En Nueva Zelanda, las actividades agropecuarias son la fuente más importante de ingresos. El clima templado y las altas precipitaciones le han permitido basar la industria de producción animal en sistemas de pastoreo.<sup>1</sup> La industria agropecuaria de mayor importancia económica es la de producción de leche; actualmente cuenta con 5.2 millones de vacas en ordeña y el 20 % de los ingresos por exportaciones se generan por los productos lácteos. La industria de la carne se integra por los bovinos, ovinos y ciervos. Existen alrededor de 4.7 millones de bovinos productores de carne y 40 millones de ovinos. Esta última industria es una de las más eficientes y productivas en el mundo. La producción de ciervos en granja es la más grande en el mundo, con aproximadamente 5,000 granjas y 1.7 millones de ciervos. La actividad del médico veterinario es, por ende, de vital importancia para la sustentabilidad de la industria animal y la economía del país.

### ***Trabajo profesional en el extranjero***

El trabajo profesional es una opción de titulación aprobada por el Consejo Técnico de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), que consiste en realizar práctica profesional supervisada, la cual se lleva a cabo en la especie o disciplina de elección del alumno, pudiéndose realizar en México o en el extranjero. Uno

de los principales objetivos de la FMVZ de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) es establecer acciones que permitan mejorar la formación integral de los alumnos para de esta manera fortalecer la formación de excelencia de los médicos veterinarios zootecnistas.<sup>2</sup> El trabajo profesional en el área de animales de producción permite al alumno adquirir mayor experiencia teórica para comprender los diferentes sistemas de producción animal, entender la relevancia de los programas de medicina preventiva en el campo y fortalecer el desarrollo de habilidades prácticas para diagnosticar, tratar, controlar y prevenir las principales enfermedades que afectan a las especies de producción.

La apertura de los mercados ha generado la importación libre de productos y de servicios, entre ellos los profesionales.<sup>2</sup> La realización del trabajo profesional en el extranjero no sólo enriquece la experiencia académica y de aprendizaje práctico del alumno, sino que permite establecer y mantener relaciones con universidades, empresas y otras instituciones, fomentando la vinculación externa de la FMVZ.

El presente trabajo se realizó en la Universidad de Massey, Nueva Zelanda, en la modalidad de animales de producción, en las áreas de medicina, zootecnia e investigación. La especie con la que se trabajó fueron ciervos rojos y el trabajo se llevó a cabo bajo la supervisión del Prof. Peter R. Wilson BVSc, PhD, MACVSc.

## **Objetivo General**

- Adquirir experiencia teórico-práctica en las áreas de medicina, zootecnia e investigación en las especies de producción para obtener el Título de Médico Veterinario Zootecnista, bajo la modalidad de trabajo profesional en el extranjero.



## Contenido

### ***Actividades realizadas durante el Trabajo Práctico***

#### **Preámbulo**

##### *Importancia de la industria de los ciervos en Nueva Zelandia*

Los colonizadores europeos introdujeron una gran variedad de mamíferos y aves a Nueva Zelandia entre 1800 y 1920. Entre ellos, se introdujeron diez especies y subespecies de ciervos, siendo los ciervos rojos (*Cervus elaphus*) la especie más popular. Inicialmente se importaron 250 animales provenientes de Inglaterra, Escocia y Australia.<sup>3</sup> Al contar con alimento suficiente, poca competencia y grandes áreas boscosas y montañosas, los ciervos se reprodujeron exitosamente como muchas otras especies de rumiantes domésticos. La exportación de carne de ciervos silvestres se inició en los años sesenta y principios de los setenta. Previo a 1969 era ilegal mantener a los ciervos en granja y fue en 1970 que se expide la primera licencia para llevar a cabo esta actividad. En 1975 se formó la asociación de productores de ciervos de Nueva Zelandia y para 1986 se habían establecido unas 3,000 granjas.

Actualmente se estima que existen 5,000 granjas de ciervos en las dos islas principales que integran Nueva Zelandia. Estas granjas van de pequeñas unidades a grandes estaciones, que se dedican principalmente a producir carne, astas, pie de cría y animales para caza (trofeos). La población se estima en 1.7 millones de ciervos, número que representa más de la mitad de la población mundial de esta especie en sistemas de producción en granja. A partir de 1993 se comenzó a aplicar el esquema de aseguramiento de la calidad en las granjas productoras de ciervos y se espera que para el año 2010 todas las granjas estén integradas al esquema.

El producto más importante de la industria del ciervo en Nueva Zelandia es la carne,

la cual se exporta en su mayoría a Europa (>89%), siendo Alemania el principal consumidor (65% de la producción total). Los ciervos se procesan en plantas especialmente diseñadas para la especie y se clasifican como “carne de caza”, lo que significa que las tarifas arancelarias son mucho menores para esta especie que para el resto de las especies domésticas en el mercado internacional (5% en la Comunidad Económica Europea comparada con 20% en otras especies y sin aranceles en los Estados Unidos de América).

El rendimiento de la canal de los ciervos es mayor que el rendimiento de las canales de ovinos y bovinos (55%-60% comparado con 48%). Además, se aprovechan otros subproductos, como la piel, los tendones, el pene, los testículos y la cola. Estos subproductos son exportados a Corea y al sureste asiático, donde se utilizan como ingredientes en la medicina tradicional. En cuanto a la producción de astas, la mayor parte de la producción (47%) se exporta congelada para ser procesada en Corea. En 2005, los ingresos generados por la industria del ciervo fueron de NZ \$257,210,297 (Cuadro 1).

**Cuadro 1**

Valor de los productos de la industria del ciervo en Nueva Zelanda (NZ\$) \*

<b>Productos</b>	<b>2001</b>	<b>2002</b>	<b>2003</b>	<b>2004</b>	<b>2005</b>
Carne	234,227,148	212,779,111	156,628,218	178,190,719	205,514,259
Astas	37,161,947	36,299,348	28,886,902	27,411,739	24,082,378
Pieles	8,238,166	8,806,311	7,764,587	10,929,922	8,950,282
Subproductos	14,348,365	8,373,296	9,533,922	8,751,412	7,060,136
Piel curtida	8,218,979	2,510,344	5,650,690	5,462,321	11,516,088
Animales	81,765	15,900	315,949	9,600	87,154
<b>TOTAL(\$)</b>	<b>302,276,370</b>	<b>268,784,310</b>	<b>208,780,268</b>	<b>230,755,713</b>	<b>257,210,297</b>

\*Fuente: *Deer Industry New Zealand, 2005*

*El grupo de investigación en ciervos de la Universidad de Massey*

El grupo de investigación en ciervos de la Universidad de Massey (MUDRG) tiene como misión realizar proyectos de investigación que sean consistentes con las

necesidades de la industria de ciervos en Nueva Zelanda, así como promover el conocimiento científico de la biología de la especie. Es un grupo con un enfoque multidisciplinario, con casi 30 años de experiencia en investigación en ciervos, integrado por un grupo de académicos e investigadores especialistas en las áreas de medicina y zootecnia de grandes especies.

El grupo ofrece servicios de consultoría a productores, a la industria, a instituciones educativas y a diferentes agencias internacionales. Está involucrado de forma activa en la presentación y publicación de información a la comunidad científica y a la industria. En el ámbito académico, se encarga de participar en el desarrollo profesional de estudiantes, veterinarios y otros científicos en el área de medicina y producción de ciervos.

Como recursos materiales, cuenta con una unidad experimental, la cual forma parte del IVABS. La unidad está integrada por 200 ciervos en pastoreo (promedio anual), en 26 Ha adyacentes al campus universitario. La unidad fue diseñada principalmente para llevar a cabo programas experimentales de medicina y zootecnia, así como para la realización de prácticas de enseñanza para los alumnos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Ciencia Animal. Dentro de la unidad hay un edificio de investigación, el cual posee las instalaciones necesarias para el manejo adecuado y seguro de la especie. Se cuenta con una presa hidroneumática para el manejo de los ciervos y con 15 jaulas metabólicas.

En la Facultad de Veterinaria está el hospital de grandes especies, el cual presta servicio a los ciervos de la unidad y cuenta con un área de aislamiento específicamente diseñada para éstos. En el último año de la carrera de medicina veterinaria se imparte la materia de medicina y zootecnia de ciervos, la cual consta de un componente teórico y uno práctico. La universidad de Massey es la única escuela de medicina veterinaria en el mundo que integra esta materia al currículo de medicina veterinaria con carácter de obligatoria.

## **Desarrollo de actividades**

El trabajo profesional se llevó a cabo con el MUDRG y las actividades se realizaron en las diferentes áreas de especialidad del grupo.

### **❖ *Área de medicina y cirugía***

#### Objetivo específico

- Desarrollar las habilidades teóricas y prácticas necesarias para el diagnóstico, tratamiento, control y prevención de las enfermedades más comunes que afectan a los ciervos en granja, así como diversos procedimientos quirúrgicos practicados en la especie.

#### Actividades

- Se colaboró en el desarrollo de programas de medicina preventiva para las granjas comerciales que hacen uso del servicio médico y consultoría a granja que presta el IVABS (Figura 1).
- Se participó en el tratamiento de animales enfermos y en el seguimiento de los casos. En su caso, se realizaron necropsias y se elaboraron informes del diagnóstico.
- Se participó en las diferentes cirugías practicadas en los ciervos de la unidad experimental, como cesáreas, castraciones, corte de astas y colocación de fístulas ruminales (Figuras 2 y 3). De igual forma, se asistió en los procedimientos anestésicos de estos ciervos (Figura 4).
- Se participó en las prácticas de manejo más comúnmente realizadas en la granja, como desparasitaciones, vacunación y toma de muestras (sangre, orina y heces). Se realizó la técnica para la obtención de biopsias hepáticas para la determinación de elementos minerales.

## ❖ **Área de zootecnia**

### Objetivo general

- Adquirir el conocimiento y práctica necesarios para el manejo y producción sustentable de ciervos en pastoreo.

### **Nutrición**

#### Objetivo específico

- Adquirir experiencia práctica en la evaluación del establecimiento, manejo, valor nutritivo y persistencia de los diferentes pastos, forrajes y otras hierbas, así como su impacto en la salud de los ciervos.

#### Actividades

- Se participó en las visitas semanales a la unidad experimental con el objetivo de conocer e identificar las pasturas utilizadas, evaluar el crecimiento y la calidad de las mismas (Figura 5).
- Se realizaron composiciones botánicas, determinación de materia seca en las praderas y se registró la ganancia de peso de los ciervos en diferentes regímenes de alimentación.

### **Reproducción**

#### Objetivo específico

- Conocer las técnicas de reproducción comúnmente utilizadas en la especie y adquirir experiencia práctica en el manejo de los ciervos para llevar a cabo dichas prácticas.

#### Actividades

- Se participó en la inseminación artificial de las ciervas (Figura 6).
- Se adquirió experiencia en el diagnóstico de gestación por medio del ultrasonido vaginal.

## ***Producción***

### Objetivo específico

- Adquirir experiencia en la evaluación de los diferentes sistemas de producción y programas de medicina preventiva.

### Actividades

- Se visitaron granjas comerciales y se llevó a cabo la evaluación de las variables productivas y reproductivas de cada una de ellas. Se visitaron granjas dedicadas a la producción de carne, de astas y de animales de caza.

## ***Manejo***

### Objetivo específico

- Adquirir experiencia en el manejo de la especie, conocer las características de comportamiento y desarrollar las habilidades necesarias para llevar a cabo prácticas rutinarias de medicina preventiva.

### Actividades

- Se aprendió el manejo básico de la especie en los potreros, patios de manejo y en la presa hidroneumática. Se adquirió destreza para reconocer los principales comportamientos de la especie para llevar a cabo un manejo seguro tanto para los ciervos como para el personal (Figura 7).

## ***❖ Área de investigación***

### Objetivo específico

- Identificar problemas y plantear soluciones, con base en el método científico, que permitan el desarrollo de la industria de ciervos en Nueva Zelandia y fomenten el bienestar de estos animales y el avance de la biología de la especie.

### Actividades

- Se participó en los principales proyectos de investigación del MUDRG, los cuales incluyeron enfermedad de Johne (Figuras 8 y 9), leptospirosis (Figura

10), bartonelosis, infección por herpesvirus (Figura 11), enfermedades parasitarias (Figura 12) y metabólicas.

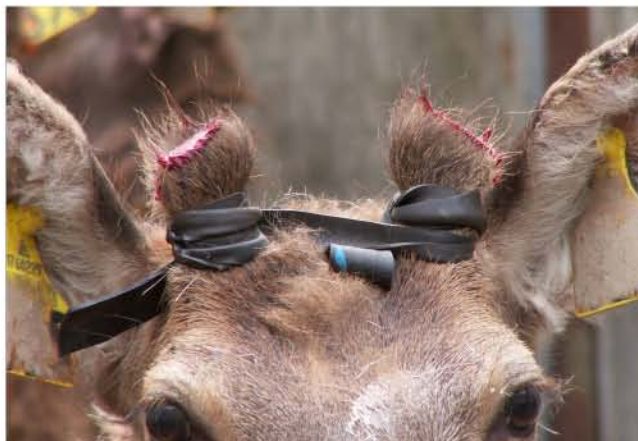
- Se colaboró en las actividades prácticas relacionadas con dichos proyectos, incluyendo toma de muestras, pruebas de laboratorio y cuidado de los animales de experimentación.
- Se elaboraron protocolos de investigación para conseguir financiamiento y llevar a cabo los proyectos.
- Se solicitó y consiguió aprobación por parte del Comité de Ética de la Universidad de Massey para utilizar animales para experimentación.
- Se realizaron búsquedas en bases de datos para llevar a cabo revisiones de la literatura.
- Se realizaron dos reportes de resultados a la industria (Laboratorios Fort Dodge, Nueva Zelanda y Laboratorios Parnell, Nueva Zelanda).
- Se presentaron avances de resultados de los proyectos realizados en conferencias nacionales (*Annual Conference of the Deer Branch of the New Zealand Veterinary Association*) e internacionales (*20<sup>th</sup> International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology* y *1<sup>st</sup> World Deer Veterinary Congress*).
- Se enviaron tres trabajos de investigación para publicación en el *New Zealand Veterinary Journal*.



**Figura 1.** Granja comercial de ciervos rojos en la Isla Norte de Nueva Zelanda.



**Figura 2.** Cesárea en una cierva roja.



**Figura 3.** Corte de astas en un ciervo rojo de nueve meses.





**Figura 4.** Intubación de un ciervo rojo para mantenimiento con anestesia inhalada.



**Figura 5.** Cierva roja con cría en pradera de achicoria.



**Figura 6.** Inseminación artificial en una cierva roja.



**Figura 7.** Trabajo con ciervos rojos en el patio de manejo.



**Figura 8.** Nódulo linfático mesentérico de ciervo rojo con enfermedad de Johne.



**Figura 9.** Ciervo rojo con emaciación y diarrea por enfermedad de Johne.



**Figura 10.** Riñones de ciervo rojo con lesiones sugerentes a leptospirosis.



**Figura 11.** Ojo de ciervo rojo con queratoconjuntivitis asociada a herpesvirus tipo 1.



**Figura 12.** Colección de heces en ciervos rojos para un estudio parasitológico.



## TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

ESTUDIOS DE EFICACIA Y DISTRIBUCIÓN GASTROINTESTINAL  
DE PARTÍCULAS DE ÓXIDO CÚPRICO EN CIERVOS ROJOS  
(*Cervus elaphus*)



## Introducción

El cobre (Cu) es un microelemento esencial para el desarrollo y la prevención de diversos desórdenes clínicos y patológicos en las diferentes especies animales.<sup>4</sup> En los rumiantes, el metabolismo de este microelemento es muy complejo y las deficiencias, aún cuando pueden atribuirse a un aporte insuficiente en la dieta, se asocian principalmente a la presencia de elementos antagonistas que interactúan con el Cu a nivel ruminal, formando compuestos no biodisponibles.<sup>5,6</sup>

La deficiencia de Cu se ha descrito en la mayoría de las especies domésticas. En el ciervo rojo (*Cervus elaphus*), la osteocondrosis en animales jóvenes y la ataxia enzoótica en animales adultos son los síndromes clínicos más frecuentemente asociados a la deficiencia de este microelemento.<sup>7-9</sup> Esto hace que la complementación con Cu sea una práctica común a nivel de hato.<sup>10</sup>

La complementación con microelementos intenta establecer un balance entre el costo del tratamiento, la posibilidad de inducir toxicidad o deficiencia de otro elemento y la respuesta a dicho tratamiento en términos de una mejoría en la salud y la productividad.<sup>5</sup> Desde el punto de vista de bienestar del animal, se recomienda la complementación si previene la presentación clínica o subclínica de la enfermedad.

La deficiencia de Cu se puede prevenir mediante la aplicación de complementos a la pastura o mediante el tratamiento individual del animal. En Nueva Zelandia, estudios recientes sugieren que la aplicación de complementos de Cu en la pastura, aún en concentraciones muy altas, produce respuestas variables e impredecibles en la concentración hepática del microelemento en los ciervos rojos.<sup>11,12</sup>

Comercialmente, existen complementos de Cu para el tratamiento individual en forma de edetato de Cu (CuEDTA) inyectable y en partículas de óxido cúprico (CuO) para administración oral. Estas últimas son la forma más común de complementación en

las granjas de ciervos en Nueva Zelanda.<sup>13</sup>

Las partículas de CuO, también conocidas como “agujas de cobre”, se utilizan ampliamente en la mayoría de los rumiantes domésticos. Se cree que al administrarse por vía oral, las partículas entran al rumen, donde permanecen de manera transitoria, para después pasar al abomaso, donde se retienen temporalmente. El pH ácido de este órgano permite la solubilización del CuO para su posterior absorción a nivel intestinal.<sup>14</sup>

La velocidad de paso de las partículas de CuO a través del rumen puede ocasionar diferencias en la concentración hepática de Cu, ya que la respuesta es proporcional a la cantidad de partículas que se retienen en el abomaso y al tiempo de permanencia en este órgano.<sup>15</sup> Suttle y Valente<sup>16</sup> sugieren que las diferencias anatómicas del tracto gastrointestinal de los diferentes rumiantes domésticos pueden influir en la eficacia de los complementos minerales cuando estos se administran en forma de partículas de liberación lenta.

En los ovinos, las partículas de CuO se retienen principalmente en el abomaso,<sup>14,17,18</sup> mientras que en los bovinos la mayor parte permanece en el rumen-retículo.<sup>16,19</sup> El principal sitio de retención de las partículas de CuO en los ciervos rojos se desconoce.

En general, las partículas de CuO se administran dentro de una cápsula de gelatina, la cual se disuelve al entrar en contacto con la saliva y el contenido ruminal. Los laboratorios Parnell en Australia desarrollaron un bolo que contiene las partículas de CuO en una matriz soluble (CUE Bullets®). En comparación con las cápsulas de gelatina, esta nueva presentación es más resistente a la humedad y puede reutilizarse si el animal regurgita el bolo.

Se sabe que el tratamiento oral con partículas de CuO contenidas en una cápsula de gelatina incrementa las concentraciones de Cu en el tejido hepático en los ciervos

rojos.<sup>20-25</sup> La eficacia de las partículas de CuO contenidas en una matriz soluble (CUE Bullets®) está demostrada en los bovinos,<sup>26</sup> pero no existen datos para los ciervos rojos.

Este estudio investigó la localización de las partículas de CuO en el tracto gastrointestinal de los ciervos rojos, la excreción fecal de estas partículas y el efecto del tratamiento en la concentración hepática de Cu posterior a la administración oral de 10 g de CuO contenidos en una matriz soluble (CUE Bullets®, Anexo 1).

## **Materiales y métodos**

Los experimentos se aprobaron por el Comité de Ética para el cuidado y uso de los animales de la Universidad de Massey en Nueva Zelandia (Protocolos 04/38 y 04/74).

### ***Efecto de las partículas de CuO en las concentraciones hepáticas y séricas de cobre en ciervos rojos***

El estudio se llevó a cabo en una granja comercial de ciervos rojos en el valle de Pohangina, Manawatu, Nueva Zelandia.

#### **Animales**

Para evaluar el efecto de las partículas de CuO en las concentraciones hepáticas y séricas sanguíneas de Cu se utilizaron 30 hembras adultas, no gestantes, con un peso promedio de 86.3 kg (rango 72.5-107.5 kg). Las hembras se mantuvieron en praderas mixtas, compuestas principalmente de ryegrass-trébol blanco y permanecieron juntas durante el estudio.

#### **Diseño experimental**

Al inicio del experimento, se colectaron muestras de hígado y sangre de cada una de las hembras para determinar la concentración hepática y sérica de Cu. Para la

rojos.<sup>20-25</sup> La eficacia de las partículas de CuO contenidas en una matriz soluble (CUE Bullets®) está demostrada en los bovinos,<sup>26</sup> pero no existen datos para los ciervos rojos.

Este estudio investigó la localización de las partículas de CuO en el tracto gastrointestinal de los ciervos rojos, la excreción fecal de estas partículas y el efecto del tratamiento en la concentración hepática de Cu posterior a la administración oral de 10 g de CuO contenidos en una matriz soluble (CUE Bullets®, Anexo 1).

## **Materiales y métodos**

Los experimentos se aprobaron por el Comité de Ética para el cuidado y uso de los animales de la Universidad de Massey en Nueva Zelandia (Protocolos 04/38 y 04/74).

### ***Efecto de las partículas de CuO en las concentraciones hepáticas y séricas de cobre en ciervos rojos***

El estudio se llevó a cabo en una granja comercial de ciervos rojos en el valle de Pohangina, Manawatu, Nueva Zelandia.

#### **Animales**

Para evaluar el efecto de las partículas de CuO en las concentraciones hepáticas y séricas sanguíneas de Cu se utilizaron 30 hembras adultas, no gestantes, con un peso promedio de 86.3 kg (rango 72.5-107.5 kg). Las hembras se mantuvieron en praderas mixtas, compuestas principalmente de ryegrass-trébol blanco y permanecieron juntas durante el estudio.

#### **Diseño experimental**

Al inicio del experimento, se colectaron muestras de hígado y sangre de cada una de las hembras para determinar la concentración hepática y sérica de Cu. Para la



obtención de tejido hepático se siguió la técnica descrita por Harrison y Familton.<sup>23</sup> Los animales se sedaron con xilacina administrada por vía endovenosa (0.4 mg/kg; Phoenix Xylazine, Phoenix Pharm Distributors Ltd, Nueva Zelandia) y se colocaron en decúbito lateral izquierdo. Se rasuró un área de 8 x 8 cm a nivel del onceavo espacio intercostal, aproximadamente a un tercio de distancia entre la columna vertebral y el vientre. El área se infiltró con lidocaína por vía subcutánea (3 ml; Nopaine 2%, Phoenix Pharm Distributors Ltd, Nueva Zelandia) y se desinfectó con clorhexidina. Se hizo una incisión en la piel de aproximadamente 0.5 cm y se introdujeron el estilete y el trocar en un ángulo de 90°. Se penetró el músculo intercostal, el tejido subyacente y el diafragma. Se retiró el estilete y el trocar se redirigió cranialmente en un ángulo de 45°. Una vez que se hizo contacto con la superficie del hígado, se penetró el órgano mediante movimientos rotatorios. Para obtener la muestra, se colocó una jeringa en el extremo del trocar y se aplicó ligera presión negativa. Posteriormente, se retiró el trocar y la muestra obtenida se colocó sobre papel absorbente para remover el exceso de sangre. Las muestras se guardaron en recipientes de plástico en una hielera portátil y se transportaron al laboratorio.

Después de obtener la biopsia hepática, se tomaron 10 ml de sangre de la vena yugular en un tubo Vacutainer sin anticoagulante. Las muestras se colocaron en una hielera portátil y se transportaron al laboratorio.

Todos los animales recibieron un sólo tratamiento intramuscular con oxitetraciclina de larga duración (20 mg/kg; Bivatop 200, Boehringer Ingelheim Ltd, Nueva Zelandia) para disminuir el riesgo de infección. Se les administró una dosis endovenosa de yohimbina (0.25 mg/kg; Parnell Reverzine Injection, Parnell Laboratories, Nueva Zelandia) para antagonizar los efectos de la xilacina. Una de las hembras murió 10-15 minutos después de administrada la yohimbina; los hallazgos a la necropsia no fueron concluyentes.

Las concentraciones de Cu en el tejido hepático y en el suero se determinaron en un laboratorio comercial (New Zealand Veterinary Pathology, Palmerston North, Nueva

Zelandia) mediante la técnica de espectrometría de absorción atómica.

Al inicio del experimento, los animales se dividieron en tres grupos (Día 30, n=10; Día 60, n=10 y testigo, n=9), de acuerdo con las concentraciones hepáticas de Cu, de forma que no existieran diferencias significativas entre grupos. En el día 1 del experimento, todas las hembras se desparasitaron con ivermectina por vía tópica (0.5 mg/kg; Ivomec Eprinex Pour-on, Merial, Nueva Zelandia) y aquellas asignadas al grupo “Día 60” recibieron un bolo de 10 g de CuO (CUE Bullets®) por vía oral. Para comprobar que el bolo no fuera regurgitado, los animales permanecieron en los patios de manejo por 10 minutos. Una vez transcurrido este tiempo, los animales regresaron a la pradera. A los treinta días, las hembras del grupo “Día 30” recibieron un bolo de 10 g de CuO (CUE Bullets®) por vía oral y se trataron de manera similar a la descrita anteriormente. Los animales del grupo testigo no recibieron tratamiento.

A los 60 días de que se trató al primer grupo (grupo “Día 60”), todos los animales, incluyendo a los testigos, se enviaron al rastro para el sacrificio. En el rastro, las muestras de sangre se colectaron durante la exsanguinación y las de hígado durante la inspección veterinaria. Las muestras se procesaron de manera similar a la descrita anteriormente y se enviaron al laboratorio para determinar la concentración sérica y hepática de Cu.

### ***Distribución gastrointestinal y excreción fecal de partículas de CuO en ciervos rojos***

El estudio se llevó a cabo en la Unidad Experimental de ciervos de la Universidad de Massey, Palmerston North, Nueva Zelandia.

#### **Animales**

Para evaluar la distribución gastrointestinal de las partículas de CuO, se utilizaron 20 hembras de 18 meses de edad, no gestantes, con un peso promedio de 88.8 kg

(rango 76.5-114 kg). Las hembras se mantuvieron en praderas mixtas compuestas principalmente de ryegrass-trébol blanco y permanecieron juntas durante el estudio. Para cuantificar la excreción fecal de las partículas de CuO, se utilizaron 4 machos castrados de 18 meses de edad con un peso promedio de 83.6 kg (rango 78.5-88.5 kg). Dichos animales se mantuvieron en jaulas metabólicas por 4 días y se alimentaron con alfalfa ensilada (ChaffHage, The Great Hage Company, Nueva Zelanda) y agua *ad libitum*. Previo a la realización del experimento, los animales tuvieron un periodo de adaptación de 5 días en las jaulas metabólicas.

### **Diseño experimental**

Para el estudio de distribución, las hembras se asignaron en forma aleatoria a uno de 5 grupos (n=4) y recibieron un bolo de 10 g de CuO (CUE Bullets®) por vía oral. Los animales se sacrificaron por grupos a los 1, 5, 15, 30 y 60 días post-tratamiento. Para el sacrificio se administró una sobredosis de pentobarbital por vía endovenosa. Los animales se colocaron en decúbito lateral izquierdo y se hizo una incisión por la línea media ventral. Para minimizar el movimiento de las partículas entre los órganos, se colocaron ligaduras en el cardias, el orificio retículo-omasal, la abertura omaso-abomasal, el píloro y el recto. El tracto gastrointestinal se retiró de la cavidad abdominal y se procesó en la sala de necropsias de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Massey en Palmerston North, Nueva Zelanda.

Los contenidos del rumen-retículo, omaso, abomaso y de los intestinos se colectaron por separado en cubetas de plástico y se les agregó agua para facilitar la sedimentación de las partículas de CuO. Cada uno de los tejidos se lavó en forma cuidadosa y las partículas de CuO adheridas a las mucosas se colectaron utilizando fórceps de punta fina. El sedimento y las partículas de CuO recuperadas se secaron en un horno de convección a 80° C por 30 minutos. Las partículas de CuO se separaron del resto del sedimento utilizando fórceps de punta fina y se pesaron (Báscula Precisa, modelo 40 SM-200 A).

Para validar la eficacia del método de recuperación de las partículas de CuO, se llevó a cabo un estudio *in vitro*, en el cual se disolvieron individualmente 10 CUE Bullets® en agua y 10 CUE Bullets® en contenido ruminal. El proceso de recolección fue similar al anteriormente descrito y el peso promedio de las partículas de CuO recuperadas fue  $9.91 \text{ g} \pm 0.08 \text{ g}$  y  $9.64 \text{ g} \pm 0.13 \text{ g}$  a partir del agua y del contenido ruminal, respectivamente. Las especificaciones del producto establecen un contenido de  $10 \pm 1 \text{ g}$  de partículas de CuO por bolo.

Para cuantificar la excreción de partículas de CuO, los animales recibieron un bolo de 10 g de CuO (CUE Bullets®) por vía oral y se mantuvieron en las jaulas metabólicas por 4 días. Las heces de cada animal se colectaron cada 24 horas, se mezclaron y se pesaron (Báscula Fairbanks Allegra modelo 98-198 A1). Una muestra correspondiente al 10% de las heces recolectadas por día por venado se procesó, siguiendo una técnica similar a la descrita anteriormente para la recuperación de partículas de CuO del tracto gastrointestinal.

### **Análisis estadístico**

Las concentraciones hepáticas y séricas de Cu se analizaron mediante el uso de los procesos lineales generales (GLM) de S.A.S., considerando el efecto fijo de día, grupo, interacciones entre el día y el grupo, y el efecto aleatorio de medir un animal al día 0 y al día 60 (S.A.S. Institute Inc, Cary, North Carolina, EUA). Los datos se transformaron en logaritmos base 10 para su análisis, pero se presentan como media de cuadrados mínimos  $\pm$  e.e.m (error estándar de la media).

Para el estudio de distribución gastrointestinal y excreción fecal de partículas de CuO se utilizó el programa de estadística descriptiva (GraphPad Prism, versión 4.02 para Windows, GraphPad Software, San Diego, California, EUA) y los resultados se expresaron como media  $\pm$  e.e.m.

## Resultados

### ***Efecto de las partículas de CuO en las concentraciones hepáticas y séricas de cobre en ciervos rojos***

En el cuadro 2 se muestran los valores de las concentraciones hepáticas en materia húmeda (MH) y séricas sanguíneas de Cu antes y después del tratamiento oral con un bolo de 10 g de CuO. Al finalizar el estudio (día 60), un animal perteneciente al grupo “Día 60” presentó una concentración hepática de Cu similar a la del grupo testigo. La posibilidad de que el animal haya regurgitado el bolo no se pudo descartar, por lo que los datos de este animal se excluyeron del análisis estadístico.

**Cuadro 2**

**Concentración de cobre (Cu) en el tejido hepático ( $\mu\text{mol/kg}$ ) y en el suero ( $\mu\text{mol/L}$ ) de ciervos rojos tratados por vía oral con un bolo de 10 g de CuO 30 y 60 días antes del sacrificio**

Grupo	Cu hepático		Cu sérico	
	<i>Pre-tratamiento</i>	<i>Post-tratamiento</i>	<i>Pre-tratamiento</i>	<i>Post-tratamiento</i>
Día 60 (n=9)	244 $\pm$ 53.67	446.67 $\pm$ 53.67*	14.15 $\pm$ 0.99	11.94 $\pm$ 0.99
Día 30 (n=10)	254.9 $\pm$ 50.91	597.0 $\pm$ 50.91*	13.64 $\pm$ 0.94	12.89 $\pm$ 0.94
Testigo (n=9)	228.8 $\pm$ 53.67	80.44 $\pm$ 53.67*	12.31 $\pm$ 0.99	7.74 $\pm$ 0.99*

\*Significativamente diferente a valores pre-tratamiento

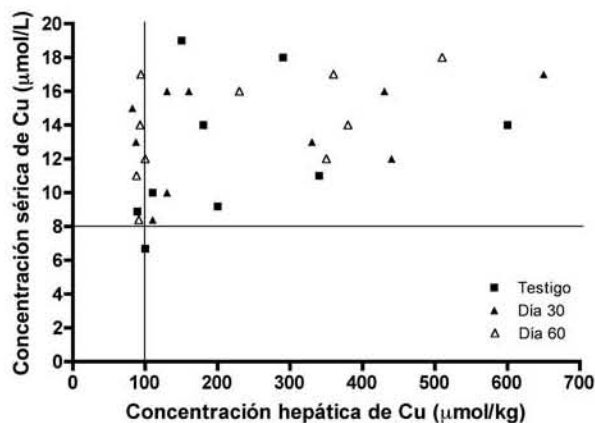
Previo a la administración de las partículas de CuO, el promedio general de las concentraciones hepáticas y séricas de Cu fue de 243  $\mu\text{mol/kg}$  (rango 82-650) y 13.37  $\mu\text{mol/L}$  (rango 6.7–19), respectivamente. Los animales se dividieron de tal forma que las concentraciones hepáticas y séricas de Cu no fueran significativas entre los tres grupos ( $p \geq 0.1880$ ).

Al término del estudio (día 60), la concentración hepática de Cu en los animales de los grupos “Día 30” y “Día 60” incrementó en forma significativa ( $p \leq 0.0024$ ), mientras que la del grupo testigo disminuyó en forma significativa ( $p = 0.0003$ ).

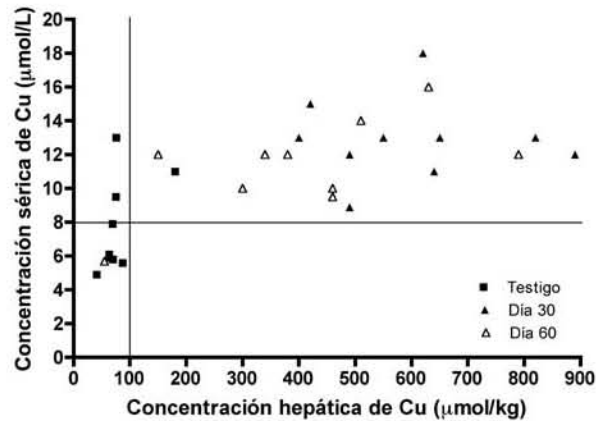
Al comparar las concentraciones hepáticas de los grupos tratados “Día 30” y “Día 60” con las del grupo testigo al día 60, hubo un incremento significativo debido al tratamiento ( $p < 0.0001$ ). No se encontró diferencia significativa entre los grupos “Día 30” y “Día 60” ( $p = 0.1968$ ).

Aunque al término del estudio (día 60) la concentración sérica de Cu en los animales de los grupos “Día 30” y “Día 60” no fue significativamente diferente a los valores pre-tratamiento ( $p \geq 0.1319$ ), la concentración en el grupo testigo disminuyó en forma significativa ( $p < 0.0001$ ).

Las concentraciones séricas de Cu de los grupos tratados “Día 30” y “Día 60” fueron significativamente mayores a las del grupo testigo al día 60 ( $p \leq 0.0007$ ); sin embargo, no hubo diferencia significativa entre los grupos “Día 30” y “Día 60” ( $p = 0.5443$ ). La relación entre las concentraciones de Cu sérico y hepático en ciervos rojos antes y después del tratamiento se presentan en las Figuras 13 y 14, respectivamente. Estas relaciones son similares a las descritas por Mackintosh et al.<sup>27</sup>



**Figura 13.** Relación entre la concentración sérica y hepática de Cu en ciervos rojos previa al tratamiento oral con 10 g de CuO.



**Figura 14.** Relación entre la concentración sérica y hepática de Cu en ciervos rojos posterior al tratamiento oral con 10 g de CuO.

### ***Distribución gastrointestinal y excreción fecal de partículas de CuO en ciervos rojos***

Se recuperaron partículas de CuO de todas las secciones del tracto gastrointestinal de ciervos rojos tratados por vía oral con un bolo de 10 g de CuO 1, 5 y 15 días antes del sacrificio. A los 60 días post-tratamiento, se recuperaron partículas del rumen-retículo y del abomaso exclusivamente. En todos los grupos, el mayor porcentaje de partículas se recuperó del rumen-retículo (55.8- 97.19 %), seguido del abomaso (2.81- 43.48%) (Cuadro 3).

Como se observa en el cuadro 4, hubo una considerable variación en las partículas de CuO recuperadas a partir de las heces de los ciervos rojos. La recuperación promedio en gramos a los días 1, 2, 3 y 4 post-tratamiento fue  $0.09 \pm 0.05$ ,  $0.7 \pm 0.48$ ,  $0.08 \pm 0.03$  y  $0.06 \pm 0.02$ , respectivamente. La recuperación promedio durante los 4 días del experimento fue  $0.94 \pm 0.56$  g, equivalente a  $9.87 \pm 5.82$  % de la dosis administrada.

**Cuadro 3**

**Peso promedio (g) y porcentaje de partículas de CuO recuperadas del tracto gastrointestinal de los ciervos a los 1, 5, 15, 30 y 60 días post-tratamiento por vía oral con un bolo de 10 g de CuO**

Órgano		Días post-tratamiento				
		1	5	15	30	60
Rumen/ Reticulo	g	3.53 ± 0.64	2.02 ± 0.62	0.33 ± 0.19	0.47 ± 0.19	0.14 ± 0.06
	%	56.8 ± 9.25	78.56 ± 5.70	55.80 ± 15.12	88.29 ± 7.03	97.19 ± 1.08
Omaso	g	0.13 ± 0.04	0.01 ± 0.003	0.002 ± 0.002	0.001 ± 0.001	0.0
	%	2.18 ± 0.63	0.89 ± 0.29	0.53 ± 0.53	0.70 ± 0.70	0.0
Abomaso	g	2.36 ± 0.60	0.53 ± 0.23	0.12 ± 0.05	0.03 ± 0.03	0.004 ± 0.001
	%	37.90 ± 9.71	18.87 ± 5.67	43.48 ± 15.58	11.0 ± 7.35	2.81 ± 1.08
Intestinos	g	0.18 ± 0.04	0.03 ± 0.008	0.001 ± 0.001	N/D	N/D
	%	3.10 ± 0.86	1.68 ± 0.62	0.19 ± 0.19	N/D	N/D
<b>Total</b>	g	6.21 ± 0.45	2.61 ± 0.82	0.46 ± 0.23	0.51 ± 0.22	0.15 ± 0.12

N/D= no detectado

**Cuadro 4**

**Peso promedio (g) y porcentaje de partículas de CuO recuperadas de las heces de ciervos rojos a los 1, 2, 3 y 4 días post-tratamiento por vía oral con un bolo de 10 g de CuO**

Animal	Días post-tratamiento				Recuperación	
	1	2	3	4	Total (g)	% de la dosis administrada
1	0.06	0.32	0.16	0.06	0.6	6.2
2	0.24	2.15	0.09	0.12	2.61	27
3	0.06	0.30	0.07	0.07	0.51	5.3
4	N/D	0.03	N/D	N/D	0.03	< 1

N/D= no detectado



## Discusión

Esta serie de estudios demostraron que la administración oral de partículas de CuO contenidas en una matriz soluble incrementó las concentraciones hepáticas y séricas sanguíneas de Cu en ciervos rojos. Además, demostraron por primera vez que las partículas de CuO se pueden recuperar a partir de todos los compartimentos gastrointestinales caudales al esófago, principalmente en el rumen-retículo, y que se eliminan en bajas cantidades en las heces.

### ***Efecto de las partículas de CuO en las concentraciones hepáticas y séricas de cobre en ciervos rojos***

La administración oral de 10 g de partículas de CuO contenidas en una matriz soluble incrementó las concentraciones hepáticas de Cu en ciervos rojos a los 30 y 60 días post-tratamiento (597 y 446  $\mu\text{mol/kg}$ , respectivamente) con respecto a los ciervos testigo no tratados (80  $\mu\text{mol/kg}$ ). Estos valores son similares a los reportados previamente en ciervos tratados con diferentes productos conteniendo partículas de CuO, en los que se observaron incrementos de 350 – 570  $\mu\text{mol/kg}$  y 300 – 594  $\mu\text{mol/kg}$  a los 30 y 60 días post-tratamiento, respectivamente.<sup>28</sup> Sin embargo, las comparaciones directas entre estudios se deben hacer con reserva, ya que las diferencias en peso, sexo y edad de los animales, así como la estación del año en la que se realizaron los estudios, pueden influir en la respuesta al tratamiento.<sup>10</sup> Además, las diferencias existentes entre granjas, como las especies de pastos utilizadas, las concentraciones de Mo y S en la dieta y la complementación con otros elementos minerales, pueden afectar la absorción de Cu y, por lo tanto, la biodisponibilidad de este elemento.<sup>11,12,28</sup> Es por ello que resulta difícil predecir la “eficacia” del tratamiento con partículas de CuO en términos de magnitud o duración del efecto. Es necesario llevar a cabo un seguimiento de la respuesta hepática en base individual, para cada granja y en cada situación, para asegurar que la dosis y la frecuencia del tratamiento sean las adecuadas.

Al administrar la misma dosis de partículas de CuO contenidas en una matriz soluble, los resultados de este estudio con ciervos rojos fueron similares a los obtenidos por Hawkins<sup>26</sup> en bovinos, quien demostró incrementos de 2.3 y 2.2 veces en la concentración hepática de Cu en comparación con animales testigos no tratados después de 6 y 12 semanas de tratamiento.

Wilson y Grace<sup>29</sup> propusieron que en el hígado, las concentraciones de Cu  $\leq 60$   $\mu\text{mol/kg}$  MH representan el rango de “deficiencia”, en el cual los ciervos están en riesgo de presentar signos clínicos de enfermedad o comprometer su crecimiento. Los animales con un rango de 60-100  $\mu\text{mol/kg}$  MH se consideran “marginales” y aquellos con concentraciones  $>100$   $\mu\text{mol/kg}$  MH se consideran “adecuados”. En suero, los rangos de referencia son  $\leq 5$   $\mu\text{mol/l}$ , 5-8  $\mu\text{mol/l}$  y  $>8$   $\mu\text{mol/l}$  para animales “deficientes”, “marginales” y “adecuados”, respectivamente.

Al inicio de este estudio, 9 de los 29 ciervos se clasificaron como “marginales” de acuerdo a la concentración hepática de Cu. Sesenta días después, 7 de los 9 ciervos testigo tuvieron concentraciones hepáticas de Cu “marginales” y uno se clasificó dentro del rango “deficiente”. Por el contrario, todos los ciervos y 9 de los 10 tratados 30 y 60 días antes estuvieron dentro del rango “adecuado”. Un ciervo del grupo “Día 60” tuvo concentraciones hepáticas de Cu de 55  $\mu\text{mol/kg}$ , 95  $\mu\text{mol/kg}$  por debajo de la concentración más baja siguiente, y 392  $\mu\text{mol/kg}$  por debajo de la media del grupo. Es probable que este ciervo no haya recibido el tratamiento o no haya tragado el bolo, regurgitándolo poco tiempo después de la administración, motivo por el cual se excluyó del análisis estadístico.

Las concentraciones séricas de Cu al inicio del estudio fueron “adecuadas” para todos los ciervos, a excepción de uno que tuvo una concentración “marginal”. Después de 60 días, 5 de los 9 ciervos del grupo testigo tuvieron concentraciones séricas de Cu dentro del rango “marginal” y uno se clasificó como “deficiente”. Todos los ciervos tratados se clasificaron como “adecuados” a excepción del ciervo del

grupo “Día 60”, clasificado como “deficiente” de acuerdo a la concentración hepática de Cu, el cual presentó una concentración sérica “marginal”.

La disminución en las concentraciones hepáticas y séricas de Cu en los ciervos testigo es consistente con el patrón observado en ciervos no tratados de la edad y en la época del año en que se realizó el estudio.<sup>10</sup> En muchas granjas de Nueva Zelanda se observa una estacionalidad en la deficiencia de Cu en los ciervos, ya que las concentraciones tisulares de este mineral son generalmente menores al final del invierno y al principio de la primavera, con una rápida disminución a partir del otoño.<sup>29</sup> La granja seleccionada para este estudio había sido previamente clasificada como “marginal estacional” (comunicación personal PR Wilson) y, por lo tanto, los resultados de este estudio son consistentes con los observados cuando las deficiencias son manejadas en los programas de medicina preventiva en la producción comercial.

El hecho de no haber encontrado diferencias significativas en las concentraciones séricas de Cu en los grupos tratados pre y post-tratamiento no fue inesperado. La concentración sérica de este elemento no siempre se relaciona con la concentración hepática, ya que es un reflejo de los mecanismos homeostáticos en el metabolismo del mineral y no es un buen indicador de la concentración total tisular. Por lo tanto, no es recomendable utilizar la concentración sérica de Cu como indicador único en el diagnóstico de la deficiencia de este elemento (véase Anexo 2).

### ***Distribución gastrointestinal y excreción fecal de partículas de CuO en ciervos rojos***

Este es el primer estudio en ciervos rojos que demuestra la recuperación de partículas de CuO administradas por vía oral a partir de todos los compartimentos gastrointestinales caudales al esófago. El rumen-retículo fue el principal órgano reservorio para las partículas de CuO, en donde persistieron por lo menos durante

60 días post-tratamiento.

La distribución de partículas de CuO en el tracto gastrointestinal de ciervos rojos fue similar a la descrita en estudios realizados en bovinos.<sup>16,19</sup> Sin embargo, en ovinos, las partículas de CuO se recuperaron principalmente del abomaso.<sup>14,17,18</sup> Suttle y Valente<sup>16</sup> sugirieron que las diferencias anatómicas del tracto gastrointestinal entre los rumiantes pueden influir la efectividad del tratamiento con microminerales cuando éstos se administran como partículas de liberación lenta.

Se cree que al administrarse por vía oral, las partículas entran al rumen donde permanecen de manera transitoria para después pasar al abomaso, donde se retienen temporalmente. El pH ácido de este órgano permite la solubilización del CuO para su posterior absorción a nivel intestinal.<sup>14</sup>

Es importante aclarar que se han investigado una gran variedad de productos en bovinos y ovinos, por lo que el tamaño, la uniformidad y la gravedad específica de las partículas de CuO podrían diferir entre los productos utilizados. En el cuadro 5 se resumen los principales resultados de dichos estudios.

Además de las características anatómicas, existen varios factores que afectan el paso de las partículas a partir del rumen-retículo. Éstos incluyen la capacidad ruminal, el consumo voluntario de alimento y la digestibilidad de la dieta. Los ciervos muestran un consumo voluntario de alimento dependiente de la estación del año, siendo estos ciclos más pronunciados en comparación con otros rumiantes domésticos.<sup>30</sup> El presente estudio se llevó a cabo durante el otoño-invierno cuando el consumo voluntario disminuye en la especie; sin embargo, la estación en que se llevaron a cabo los estudios en bovinos y ovinos no se describió en la literatura.

Con respecto a la dieta, los ciervos en este experimento se mantuvieron en praderas mixtas de ryegrass-trébol blanco; las características de la dieta en los estudios realizados en bovinos y ovinos no se describió en las publicaciones. Dadas las

circunstancias, resulta difícil establecer una posible explicación para las diferencias aparentes entre especies.

**Cuadro 5**

**Porcentajes de partículas de CuO recuperadas del tracto gastrointestinal de bovinos y ovinos descritos en la literatura**

Estudio	Especie	Tratamiento	No. de animales	Días post-tratamiento	Rumen-retículo	Abomaso
					(% recuperación)	
Suttle y Valente (1981)	Bovinos	0.33 g de partículas de CuO /kg	3	7–15	29–53*	3–18*
Deland et al (1986)	Bovinos	50 g de partículas de CuO	4	30	56	38
			4	60	75	20
			4	90	50	46
Dewey (1977)	Ovinos	10 g de partículas de CuO	6	4	24	69
			6	8	18	80
			6	16	34	61
			4	32	67	31
			4	64	N/D	N/D
Judson et al (1982)	Ovinos	10 g de partículas de CuO	3	28	21–54	41
Judson et al (1984)	Ovinos	2.5 g de partículas de CuO	6	28	0–48	0–97

\* No se presentaron los datos por días  
N/D= no detectado

La gravedad específica de la partícula influye la velocidad de tránsito ruminal. El efecto de la gravedad específica en el tiempo medio de retención de las partículas en el rumen-retículo posiblemente resulta de la velocidad a la que se separan las partículas de la ingesta y se hunden en la capa líquida en la parte ventral del rumen y el retículo para así pasar al omaso.<sup>31</sup> Las partículas más pequeñas y densas tienden a ser empujadas hacia el retículo y el saco craneal del rumen y vaciadas a través del orificio retículo-omasal. El paso de las partículas por este orificio se determina por el grado de apertura y el gradiente de presión.<sup>32</sup> Según Dewey,<sup>14</sup> las características físicas de las partículas de CuO, tales como la gravedad específica

alta y la masa baja, facilitan la transferencia de las partículas del rumen al abomaso, donde se retienen y ocurre la disolución parcial de las mismas durante periodos prolongados. Sin embargo, es posible que las partículas con gravedad específica igual o mayor a 1.40 se separen rápidamente y no se transporten en la digesta líquida que abandona el rumen-retículo.<sup>31</sup>

La gravedad específica de las partículas de CuO varía de acuerdo al grado de oxidación y al contenido de Cu elemental. No se determinó la gravedad específica de las partículas usadas en este estudio, pero de acuerdo a reportes previos, ésta debió ser aproximadamente entre 6.3 y 8.9.<sup>14,18</sup>

Langlands et al<sup>15</sup> sugirieron que la variación en la velocidad de paso de las partículas del rumen al abomaso propicia diferencias en las concentraciones hepáticas de Cu a través del tiempo. Esto se debe a que la respuesta es proporcional a la cantidad de partículas retenidas en el abomaso y a su permanencia en este órgano. Se sabe que la velocidad de tránsito ruminal es mayor en ciervos rojos que en ovinos y bovinos,<sup>30</sup> pero poco se conoce sobre la dinámica post-ruminal de las partículas orgánicas e inorgánicas. En este sentido, Kaske y Engelhardt<sup>33</sup> encontraron que las partículas con gravedad específica entre 1.03 y 1.17 abandonan el rumen más rápidamente, mientras que las que poseen densidades fuera de este rango permanecen por más tiempo. Sin embargo, la tendencia de las partículas más pesadas a presentar una retención más prolongada fue muy variable. En el presente estudio, la recuperación de partículas de CuO a partir de todos los compartimentos gastrointestinales fue muy variable entre individuos, pero la mayoría de las partículas siempre se recuperaron del rumen-retículo.

Cabe destacar que a las 24 horas post-tratamiento, únicamente se recuperó el 64% de las partículas de CuO. Aunque parte de las partículas pudieron ser disueltas y absorbidas, es probable que algunas se hayan excretado junto con las heces. Durante las pruebas de recuperación in vitro, se observó que el tamaño de las partículas de las CUE bullets® era muy variable. Esto se puede deber al proceso

de manufactura que requiere de mezcla y compresión en un bolo, a diferencia de las partículas que se administran en una cápsula soluble, como ocurre con otros productos de partículas de CuO. También se observó que las partículas eran muy frágiles, lo que sugiere que parte de la pérdida aparente se pudo deber al rompimiento físico a través del tiempo, hasta que el tamaño de la partícula fue tan pequeño que no se pudo recuperar con la técnica utilizada en este estudio. El alto porcentaje de recuperación *in vitro* a partir del contenido ruminal se logró sin ejercer motilidad constante, lo que difiere con lo que ocurrió *in vivo*.

La excreción de partículas de CuO en las heces presentó gran variabilidad entre los ciervos y de alguna manera esto podría explicar las diferencias en las concentraciones hepáticas cuando los ciervos son tratados por vía oral. Los patrones de excreción tampoco fueron constantes a lo largo de los cuatro días en que se recolectaron heces y es lógico suponer que la excreción continúa por un periodo más largo, lo cual representa un desperdicio considerable del tratamiento. Es por eso que se hace hincapié en que es difícil predecir la eficacia del tratamiento y es necesario llevar a cabo un seguimiento de la respuesta hepática en base individual.

## **Conclusiones**

La serie de estudios descritos en este ensayo demostraron que una sola administración oral de 10 g de CuO (CUE bullets®) incrementó las concentraciones hepáticas de este mineral de manera similar a la descrita previamente con diferentes productos de CuO en ciervos. El tratamiento incrementó las concentraciones hepáticas de Cu al menos por 60 días.

Por primera vez se describe en ciervos rojos la distribución gastrointestinal y la excreción fecal de las partículas de CuO. Después de la administración oral (10 g CuO, CUE bullets®), las partículas se distribuyeron a través de todos los compartimientos del tracto gastrointestinal caudales al esófago. Las partículas permanecieron por lo

menos 60 días en el rumen-retículo y en el abomaso. Aproximadamente 10% de las partículas se excretaron junto con las heces durante los 4 días posteriores al tratamiento. En los ciervos, el rumen-retículo parece ser el órgano reservorio para las partículas de CuO, de donde pasan al abomaso para su disolución y posterior absorción a nivel intestinal.

Con base en los hallazgos aquí reportados, se recomienda la administración oral de CUE bullets® para prevenir la deficiencia de Cu en ciervos rojos en pastoreo. Se requieren más estudios para determinar si el efecto protector de CUE bullets® se extiende por más de 60 días y si además es clínicamente útil en el tratamiento de los síndromes asociados a la deficiencia de Cu en esta especie.



## Referencias

1. Williamson NB. The Massey University Veterinary School. *Journal of the Veterinary Medical Education* 2005;32:361-365.
2. Trigo FJ. Informe de Actividades 2005. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 2005.
3. Challies CN. Establishment, control and commercial exploitation of wild deer in New Zealand. In: Fennessy PF, Drew KR, editors. *Biology of deer production*; 1985; Dunedin, New Zealand: The Royal Society of New Zealand; 1985. p. 23-36.
4. Underwood EJ, Suttle NF. *The mineral nutrition of livestock*. 3rd. ed. Oxon, UK: Cabi Publishing; 2001.
5. Lee J, Masters DG, White CL, Grace ND, Judson GJ. Current issues in trace element nutrition of grazing livestock in Australia and New Zealand. *Australian Journal of Agricultural Research* 1999;50:1341-1364.
6. Grace ND, Knowles SO, West DM, Lee J. Copper oxide needles administered during early pregnancy improve the copper status of ewes and their lambs. *New Zealand Veterinary Journal* 2004;52:189-192.
7. Wilson PR, Orr MB, Key EL. Enzootic ataxia in red deer. *New Zealand Veterinary Journal* 1979;27:252-254.
8. Thompson KG, Audige L, Arthur DG, Julian AF, Orr MB, McSporran KD, et al. Osteochondrosis associated with copper deficiency in young farmed red deer and wapiti x red deer hybrids. *New Zealand Veterinary Journal* 1994;42:137-143.
9. Audigé L, Wilson PR, Morris RS, Davidson GW. Osteochondrosis, Skeletal Abnormalities and Enzootic Ataxia Associated with Copper Deficiency in a

Farmed Red Deer (*Cervus elaphus*) Herd. New Zealand Veterinary Journal 1995;43:70-76.

10. Wilson PR, Grace ND. Practical considerations for diagnosis and management of Cu status of deer. Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production 2002;62:315-318.
11. Grace ND, Wilson PR, Quinn AK. Impact of molybdenum on the copper status of red deer (*Cervus elaphus*). New Zealand Veterinary Journal 2005;53:137-141.
12. Grace ND, Wilson PR, Quinn AK. The effect of copper-amended fertiliser and copper oxide wire particles on the copper status of farmed red deer (*Cervus elaphus*) and their progeny. New Zealand Veterinary Journal 2005;53:31-38.
13. Wilson PR, Audige LJM. Serum copper levels and supplementation - seasonal and farm variation. Proceedings of the Deer Branch of the New Zealand Veterinary Association 1998;15:189-205.
14. Dewey DW. An effective method for the administration of trace amounts of copper to ruminants. Search 1977;8:326-327.
15. Langlands JP, Bowles JE, Donald GE, Smith AJ. Trace element nutrition of grazing ruminants. 1. Degree of oxidation, diet, frequency of dosing and location in the gastro-intestinal tract as factors affecting the ability of oxidized copper wire to promote hepatic copper storage. Australian Journal of Agricultural Research 1986;37:179-188.
16. Suttle NF, Valente E. Species differences in the retention of orally administered cupric oxide 'needles' in the alimentary tract. Proceedings of the nutrition society 1981;40:70 A.
17. Judson GJ, Brown TH, Gray D, Dewey DW, Edwards JB, McFarlane JD. Oxidized copper wire particles for copper therapy in sheep. Australian Journal of Agricultural Research 1982;33:1073-1083.

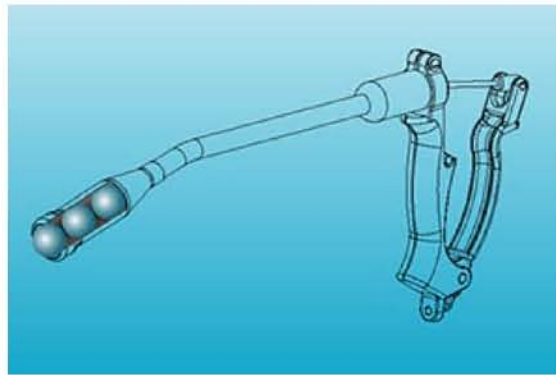
18. Judson GJ, Brown TH, Gray D, Dewey DW, Babidge PJ. Oxidised copper wire as a copper supplement for sheep: a study of some variables which may alter copper availability. *Australian Veterinary Journal* 1984;61:294-295.
19. Deland MPB, Lewis D, Cunningham PR, Dewey DW. Use of orally administered oxidised copper wire particles for copper therapy in cattle. *Australian Veterinary Journal* 1986;63:1-3.
20. Lawrence DW. Copper supplementation of deer - trial work. *Proceedings of the Deer Branch of the New Zealand Veterinary Association* 1987;4:189-193.
21. Wilson PR. Bodyweight and serum copper concentrations of farmed red deer stags following oral copper oxide wire administration. *New Zealand Veterinary Journal* 1989;37:94-97.
22. Booth DH, Wilson PR, Alexander AM. The Effect of Oral Oxidized Copper Wire on Liver Copper in Farmed Red Deer. *New Zealand Veterinary Journal* 1989;37:98-101.
23. Harrison TJ, Familton AS. Evaluation of "Copacaps" in deer. *Proceedings of the Deer Branch of the New Zealand Veterinary Association* 1992;9:163-169.
24. Walker IH, Wilson PR, Beckett SD. Copper supplementation, velvet antler production and growth of rising 2-year-old red deer stags. *New Zealand Veterinary Journal* 2002;50:177-181.
25. Nicol AM, Keeley MJ, Guild CDH, Isherwood P, Sykes AR. Liveweight gain and copper status of young deer treated or untreated with copper oxide wire particles on ten deer farms in Canterbury. *New Zealand Veterinary Journal* 2003;51:14-20.
26. Hawkins D. The performance of a solid copper oxide bolus in elevating liver copper levels under New Zealand field conditions. *Dairy Vets Newsletter*

2004;22:14-17.

27. Mackintosh CG, Wilson PR, Beatson NS, Turner K, Johnstone P. Preliminary report of the liver:serum copper relationship in red deer. Proceedings of the Deer Branch of the New Zealand Veterinary Association 1986;3:156-164.
28. Grace ND, Wilson PR. Trace element metabolism, dietary requirements, diagnosis and prevention of deficiencies in deer. New Zealand Veterinary Journal 2002;50:252-259.
29. Wilson PR, Grace ND. A review of tissue reference values used to assess the trace element status of farmed red deer (*Cervus elaphus*). New Zealand Veterinary Journal 2001;49:126-132.
30. Domingue BM, Dellow DW, Wilson PR, Barry TN. Comparative digestion in deer, goats and sheep. New Zealand Journal of Agricultural Research 1991; 34: 45-53.
31. Campling RC, Freer M. The effect of specific gravity and size on the mean time of retention of inert particles in the alimentary tract of the cow. British Journal of Nutrition 1962;16:507-518.
32. Ruckebusch Y. Motility of the gastro-intestinal tract. In: Church DC (ed). The ruminant animal. Digestive physiology and nutrition. Pp 64-106. Waveland Press, Prospect Heights, Illinois, 1993.
33. Kaske M, Engelhardt W. The effect of size and density on mean retention time of particles in the gastrointestinal tract of sheep. British Journal of Nutrition 1990;63:457-465.

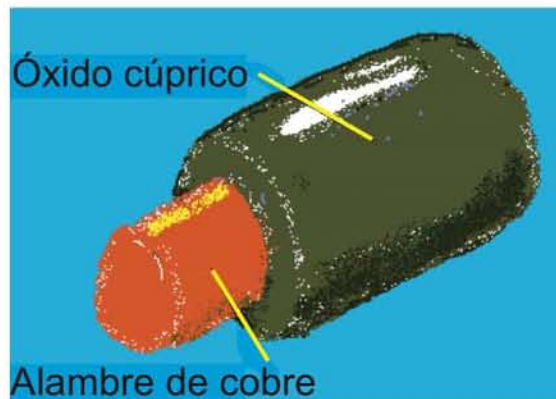
## ANEXO 1

Los CUE bullets® utilizados en este estudio tuvieron un peso promedio ( $\pm$  e.e.m.) de  $14.38 \pm 0.07$  g, de los cuales  $10 \pm 1$  g eran partículas de CuO. Una representación gráfica de los CUE bullets® y del aplicador utilizado para su administración oral se presenta en la Figura 15.



**Figura 15.** Representación gráfica de los CUE bullets® y del aplicador utilizado para la administración oral del bolo.

Las características físicas de las partículas de CuO contenidas en el CUE bullet® se esquematizan en la Figura 16.



**Figura 16.** Características físicas de las partículas de CuO contenidas en el CUE bullet®.

## ANEXO 2

Con el objetivo de evaluar si existía una relación entre los valores de cobre (Cu) sérico, hepático y peso para los ciervos rojos, se realizó un análisis de regresión lineal de estos valores. Para este fin, se utilizó el programa GraphPad Prism (versión 4.02 para Windows, GraphPad Software, San Diego, California, EUA). Los resultados de este análisis se muestran en los Cuadros 6 y 7.

**Cuadro 6**

**Valores de  $r^2$  para los datos de cobre (Cu) sérico, hepático y peso en ciervos rojos (n = 29) previos a la administración oral de 10 g de CuO**

---

	<b>Cu sérico</b>	<b>Cu hepático</b>	<b>Peso</b>
<b>Cu sérico</b>	1	0.1511	0.0004
<b>Cu hepático</b>	0.1511	1	0.0283
<b>Peso</b>	0.0004	0.0283	1

---

**Cuadro 7**

**Valores de  $r^2$  para los datos de cobre (Cu) sérico y hepático en ciervos rojos (n = 29) posteriores a la administración oral de 10 g de CuO**

---

	<b>Cu sérico</b>	<b>Cu hepático</b>
<b>Cu sérico</b>	1	0.4476
<b>Cu hepático</b>	0.4476	1

---