



# Determinación del contenido de cobre y leucocito en sangre de bovinos con papilomatosis tratado con cobre mas un acivador inmunológico

Molina J<sup>1</sup>, Pineda J<sup>1</sup>, Moreno M<sup>2</sup>, Hernández O<sup>3</sup>, Landero J<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Estudiante Investigador de UCATSE.

<sup>2</sup>CIAT-Nicaragua.

<sup>3</sup>Docente UCATSE. flavandino@gmail.com/flavia@ucatse.edu.ni

<sup>3</sup>Docente UCATSE. wiartur@gmail.com

Recibido: 05/07/2015

Aceptado: 10/08/2015

## RESUMEN

La investigación se realizó en la finca Hungría ubicada a 25 km de la Concordia departamento de Jinotega , donde se aplicó un estudio descriptivo comparativo con el objetivo de determinar el contenido de cobre sérico y leucocitos en sangre de bovinos tratados con arete de cobre sometidos a seis semanas de tratamiento , los grupos de estudio fueron divididos en dos, un grupo de nueve animales tratados con arete y nueve animales sin aplicar arete considerados grupo testigo o de referencia para comparar muestras independientes. Las variables evaluadas fueron la concentración de ceruplasmina oxidasa(cobre sérico) , % de neutrófilos, % de linfocitos, % monocitos , % de eosinofilos y recidiva de verrugas papilomatosas , lo cual se les realizó un análisis de prueba t para muestras relacionadas y muestras independientes mediante el sistema estadístico SPSS versión 20, demostrando que la variable ceruplasmina oxidasa para animales tratados con arete de cobre mostro diferencia significativa  $p>0.05$  respecto antes y después del tratamiento, al igual en el análisis de prueba t para muestras independientes en animales tratados con arete y sin arete hubo diferencia significativa  $p>0.05$  , en cambio las variables % de linfocitos ,monocitos y eosinofilos no mostraron diferencia significativa  $p>0.05$ ,llegando a la conclusión que los animales tratados con arete de cobre sufrieron un cambio de hipocuprosis a una normocupremia según las medias reflejadas en el análisis descriptivo , en cambio los leucocitos sufrieron transformaciones patológicas como es el caso en el incremento de monocitos y disminución de eosinofilos y neutrófilos, respecto a la recidiva de verrugas papilomatossas se concluye que no presentaron verrugas por lo cual no hubo reaparición, por esta razón se recomienda que el arete de cobre únicamente se puede aplicar durante seis semanas porque al exceder el tiempo puede causar alteraciones fisiopatológicas en el contenido de células leucocitarias.

**Palabras claves:** Cobre serico, verrugas papilomatosa, recidiva, hipocuprosis, normocupremia, leucocitos



## 1- INTRODUCCIÓN

La etnoveterinaria es una forma terapéutica de carácter homeopático que se ha utilizado en el control de muchas enfermedades de carácter viral como es el caso de la Papilomatosis bovina, que en la zona del trópico seco se ha convertido en una patología de carácter endémico por la elevada aparición de casos en terneros entre los 12 a 24 meses de edad.

El arete de cobre ha sido utilizado en el tratamiento de verrugas producidas por el Papilomavirus bovino siendo efectivo al igual que otros tratamientos como el diaminazeno y la histovacuna, aplicados sobre un brote que se presentó en hembras bovinas del departamento Cauca de Colombia (Valencia H Carlos Eduardo, 2013).

La ceruplasmina oxidasa es la proteína que se encarga de transportar el cobre en sangre para activar el sistema multienzimático de la superoxidodismutasa siendo un factor terapéutico de muchos problemas fisiopatológicos en los animales. Cabe señalar que en los estudios realizados sobre la efectividad del cobre en las verrugas no se ha evaluado el comportamiento de este ion a nivel sérico. Al igual que el comportamiento de leucocitos como es el caso de, neutrófilos, eosinófilos, linfocitos y monocitos, siendo elemental en la respuesta citotóxica desencadenada sobre las verrugas. (Howard, 2010).

Por tal razón en el presente estudio se pretende determinar la concentración de cobre y leucocitos en sangre de bovinos tratados con cobre para el control de Papilomatosis, esto con el propósito de brindar información acerca de los efectos que tiene el cobre a nivel sérico y de células en la línea blanca, para así tener otra base científica sobre este tratamiento utilizado en la medicina alternativa. De igual manera se le brindará al productor una elección de tratamiento de bajo costo y fácil adquisición para controlar dicha enfermedad que en el norte de Nicaragua se ha convertido de carácter endémico.

## 2- MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del estudio

Este estudio se realizó en el Departamento de Jinotega en la “Hacienda Hungría” ubicada a 25 km del Municipio de La Concordia con una altura de 802.8 metros sobre el nivel del mar, con una latitud Norte de 13° 09,51. 3 y una longitud Este de 0 86° 10, 21.3.

La Hacienda cuenta con una extensión territorial 900 Mz. ubicándose dentro de ella galeras, corrales, casa de habitación, potrero, cuenta con unas 5 Mz de pasto Taiwán para corte y concentrado, actualmente se le suministra pasto picado como alimento al ganado horro y el pastoreo, también el ganado parido se pastorea por la tarde estando semi-estabulado al igual que los terneros lactantes.

### VARIABLES EN ESTUDIO

- Contenido de ceruplasmina Oxidasa. Determinación de cobre sérico
- Contenido de Neutrófilos: Porcentaje de neutrófilos en sangre
- Contenido de Eosinófilos: Porcentaje de eosinófilos en sangre
- Contenido de monocitos: Porcentaje de monocitos en sangre.
- Contenido de linfocitos: Porcentaje de linfocitos en sangre.
- Recidiva de verrugas papilomatosas: Recuento de tumores papilomatosos en la piel de animales



## Aplicación de la técnica para la recolección de los datos.

Las condiciones que se encontraron los animales son homogéneos, son 18 terneros entre 150 kg de peso y que presentaron tumores papilomatosos en forma pedunculada, arroz y coliflor, cabe mencionar que el tipo de sistema que estuvo sometidos es estabulado todos con la misma alimentación y manejo, distribuidos de la siguiente manera, 9 animales se trataron con arete de cobre (ubicado en el pabellón auricular) y 9 animales como testigo, luego se comparó ambas medias antes y después del tiempo de tratamiento equivalente a seis semanas (Valencia H Carlos Eduardo, 2013).

## Instrumento

Se utilizaron hojas de laboratorio, brindadas por el centro de diagnóstico en que realizó la prueba, en el caso de la determinación de ceruplasmina oxidasa (cobre sérico) (Ubeda Viviana, 2007) se llevó a cabo en el laboratorio clínico de especialidades Managua, Nicaragua, en el caso de la determinación de células blancas por Biometría Hemática completa (frotis sanguíneo tinción Gyemsa) (Bonilla, 2007) se realizó en el laboratorio de la clínica Veterinaria UCATSE (anexo 2), respecto al conteo de verrugas en animales en recidiva de células papilomatosas se realizó un solo conteo directamente sobre los animales utilizando una hoja de campo (anexo 3 y 4). Estas pruebas se les realizaron a los 18 animales afectados con papilomatosis antes y después del tratamiento con 6 semanas de intervalo

## Técnicas de laboratorio

### Evaluación de actividad de ceruplasmina oxidasa (cobre sérico)

Es una prueba de laboratorio para obtención de resultados. Para la determinación de la actividad de Ceruloplasmina se utilizó un autoanalizador Hitachi 917. (Ubeda Viviana, 2007). El procedimiento se describe a continuación.

El autoanalizador se programó para llevar a cabo el procedimiento analítico de acuerdo a las siguientes especificaciones:

Volumen de muestra: 3  $\mu$ L

Volumen de buffer acetato: 270  $\mu$ L Volumen de sustrato: 58  $\mu$ L Volumen de cromógeno: 23  $\mu$ L

Volumen de EDTA: 3  $\mu$ L

Tipo de calibración: Dos puntos inversa

Actividad del calibrador 1: 0 UI/L

Actividad del calibrador 2: 1.863 UI/L

Longitud de onda primaria: 600 nm

Longitud de onda secundaria: 700 nm

Tiempo de incubación: 3,8 min

Temperatura de incubación: 37 °C

3  $\mu$ L de muestra o calibrador se incubaron con 270  $\mu$ L de buffer acetato durante 1 min. Al cabo de ese tiempo, se agregaron 58  $\mu$ L de sustrato y se incubaron 3,8 minutos a 37 °C. Luego del período de incubación, se hizo reaccionar con 23  $\mu$ L del cromógeno y la absorbancia del complejo azul formado se midió a una longitud de onda de 600 nm. La absorbancia se puede medir en un intervalo de 1 hora ya que el complejo coloreado se mantiene estable durante este período de tiempo según lo establecido por el laboratorio. Se usó una segunda longitud de onda de 700 nm para descontar variaciones de absorbancia inespecíficas.



### **Biometría hemática Completa (BHC-Tinción Gyemsa –conteo)**

1. Se realizó el extendido de sangre sobre al porta objeto.
2. Luego de estar seco se aplicó metanol sobre el extendido y se dejó reposar durante 5 minutos para fijar el frotis.
3. Se lavó con agua a flujo lento.
4. Luego de estar seco se aplicó gyemsa sobre el extendido durante 10 minutos para teñir las células blancas y rojas.
5. Luego se lavó nuevamente con agua a flujo lento.
6. Se le dio un tiempo para que se secara para luego iniciar el conteo en la periferia del frotis (de cabeza a cola) mediante microscopia.
7. Luego se calculó el porcentaje de células blancas según su tipo, respecto al total (Bonilla, 2007).

### **Procesamiento y análisis de los resultados**

Los datos obtenidos de los resultados de laboratorios fueron introducidos en una base de datos para ser procesados en el programa estadístico SPSS versión 20 en la cual se realizó un análisis descriptivo-comparativo, donde se aplicó la prueba t student para muestras relacionadas e independientes antes y después del estudio.

## **3- RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Cobres sérico (ceruplasmina oxidasa)**

El análisis de prueba t student realizado demuestra con 95% de confianza y un 5% de error que existe diferencia significativa respecto a los análisis de ceruplasmina oxidasa antes y después del tratamiento, esto para animales tratados con arete de cobre. Según la prueba t para muestras relacionadas en animales muestran un valor de significancia ( $p > 0.05$ ), reflejado también en las medias notando la diferencia respecto al antes y después del tratamiento.

De acuerdo con Rocha Quiros (2001) que refiere que la concentración de cobre sérico fisiológicos, es de 70-120 mg/dl, estableciendo que la tabla de medias encontradas refiere que los animales mostraban una hipocuprosis transformándose en una normocupremia pos tratamiento con arete de cobre.

### **Linfocitos**

Para esta variable la prueba t en muestras relacionadas refleja que no existe diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) respecto en el análisis antes y después del tratamiento con arete de cobre. (Aillo, 2000) expresa que los valores fisiológicos de linfocitos en bovinos es de es de 45 a 75 % lo cual las medias expresan entre el 70.34 al 71.56%, estando dentro de los valores fisiológicos superiores.

### **Neutrófilos**

En el análisis realizado (prueba t para muestras relacionadas) para la variable neutrófilos expresa que no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre la comparación antes y después del tratamiento. Aillo (2000) expresa que los valores fisiológicos de neutrófilos en bovinos es de es de 15 a 45 % lo cual las medias expresan entre el 15.44 al 12.86%, marcando un cambio mínimo de valores fisiológicos a una neutropenia.

### **Monocito**

Los análisis realizados en esta variable están obtenidos mediante prueba t para muestras relacionadas, por lo que refiere que no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). Aillo, (2000) expresa que los valores fisiológicos de monocitos en bovinos es de es de 2 a 7% lo cual las medias expresan entre el 13.8 al 24.2 %. (Bonilla, 2007) Refiere que los monocitos incrementan su actividad frente a procesos virales encontrando una monocitosis según la media expresada antes del experimento. El dato de la media obtenido post-tratamiento también expresa una monocitosis marcada por lo cual fisiológicamente expresa una respuesta celular elevada. (Cunningam, 1994)



### **Eosinófilos**

La variable hematológica fue analizada mediante la prueba t para muestras relacionadas no mostró diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). Aillo, (2000), expresa que los valores fisiológicos de eosinófilos en bovinos es de 2-20 % lo cual las medias expresan entre el 0.51- 0.25 %, reflejando una eosinopenia antes y después del tratamiento con arete de cobre.

### **Recidiva**

Se realizó la observación de los animales tratados con arete de cobre equivalente a 9 animales a, las 5 semanas post-tiempo establecido al tratamiento obteniendo resultados positivos ya que no se encontraron verrugas papilomatosas por lo cual no se pudo realizar el análisis estadístico. Tipo de papiloma encontrado según forma (pedunculado, coliflor, arroz)

## **4- CONCLUSIONES**

La determinación del contenido de ceruplasmina oxidasa(cobre sérico) refleja diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) según prueba t para muestras relacionadas lo cual se puede decir que el contenido de cobre en sangre incrementó después de la aplicación del arete cambiando de un estado fisiopatológico hipocuprosis a un estado fisiológico de normocupremia.

Las variables de leucocitos en sangre reflejan que los neutrófilos no muestran diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) pero si en las medias expresan que el % de este tipo de células presentó un cambio de estado fisiológico a un estado de neutropenia. El contenido de linfocitos no mostró diferencia significativa al igual que los monocitos y eosinófilos pero dentro de los datos relevantes de las medias se presenta una monocitopenia leve antes del tratamiento y luego una monocitopenia marcada post tratamiento.

Los animales tratados con arete de cobre no presentan recidiva de verrugas papilomatosas a las 6 semanas post tiempo de aplicación recomendado para el tratamiento.



## 5- BIBLIOGRAFÍA

- Aillo, S. H. (2000). El manual Merck de Viterinaria. Whitehouse station.
- Bonilla, J. L. (2007). Manual de examen clinica UNAN Leon. León. Nicaragua.
- Carter G.R and Wise D.J. (2005). Papilomaviridae. Virginia USA.
- Ceballos, F. C. (1997). Papilomatosis. Mexico.
- Cunningam, J. G. (1994). Fisiologia Veterinaria. Michigan USA.
- De Rosa, G. M. (2002). Metabolismo y deficiencia de cobre en bovinos. La plata. Argentina.
- Franco da Silvaa Luiz Antônio, R. d. (2007). Efecto del etilenodinitrilo tetracetato de calcio y cobre y de lactobionato de cobre parenteral en el tratamiento de la papilomatosis cutánea bovina. Tèc pecu.
- Gelatt, K. (10 de 8 de 2015). Hans Andresen. Obtenido de <http://handresen.perulactea.com/2011/02/02/capitulo-13/>  
Nwaga SK, L. S. (1991). Determinacion del tamaño muestral.
- Polero, G. S., Anchordoquy, J. M., & Anchordoquy, J. P. (2011). Efecto de la suplementación parenteral de cobre al inicio de un protocolo de IATF sobre la tasa de preñez en vacas de cria . Cordoba. Colombia.
- Radostits, O. M. (1999). Examen y diagnostico clinico en veterinaria.
- Rocha Quiros, B. J. (2001). Fisiopatologia de la deficiencia de cobre en rumiantes y su diagnostico. D.F MEXICO.
- Ruiz, P. L. (2011). Efectividad de la superoxido disminutasa en la prevencion de los efectos secundarios tardios en la irradiacion pelvica.
- Sáenz, Z. A. (2007). Tratamientos alternativos potenciales en el control de la papilomatosis bovina en el municipio de Matagalpa. matagalpa.
- Ubeda Viviana, Y. M. (2007). Ceruloplasmina determinacion de su actividad oxidasa. Buenos Aire. Argentina.
- Valencia, P. M. (2013). Valoracion de la eficacia del cobre contra papilomatosis bovina en el departamento del Cauca. Cauca. Colombia.