

Nivel de inmunoglobulinas, incidencia de mastitis y fertilidad de vacas lecheras hipocuprémicas suplementadas con cobre

Level of immunoglobulins, incidence of mastitis and fertility of hypocupremic dairy cows supplemented with copper

Yoelsis Figueredo Rodríguez.MSc¹; Noelia González Cabrera.PhD¹; Julio César Martínez Lemane¹MSc; Ángel. Mollineda²; Idaymi García Gómez¹; Juan Ramón, García. PhD³; Felicia Roller Gutiérrez. PhD²; Rodolfo Pedroso Sosa. PhD.²

¹ Centro de Investigaciones para el Mejoramiento Animal de la Ganadería Tropical MINAG. Cuba

² Universidad Técnica de Manabí

³ Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad de Las Villas. Cuba

* Autor para correspondencia: rpedroso@utm.edu.ec

Resumen

La mastitis es una enfermedad global que afecta la productividad de la vaca lechera. La prevalencia de esta enfermedad está determinada en gran medida por la inmunodepresión que ocurre durante el periodo de transición. La suplementación con cobre estimula el sistema inmunológico. Esta investigación tuvo como objetivo determinar el efecto de la suplementación de cobre en vacas Siboney sobre los niveles de inmunoglobulinas, el riesgo de incidencia de la mastitis y la fertilidad. El cobre fue determinado en suero sanguíneo mediante absorción atómica. El diagnóstico de mastitis fue efectuado a través de la prueba de California. Las inmunoglobulinas fueron determinadas por espectrofotometría empleando un método turbidimétrico. La administración de una solución (SUPER-CU-CIMAGT_2014) en dosis de 2ml conteniendo 50 mg de sulfato de cobre, vía subcutánea, en vacas hipocuprémicas a los ocho meses de gestación y 30 días posterior al parto, permitió aumentar la tasa de inmunoglobulinas, restituyó los valores de cobre en el suero sanguíneo, disminuyó significativamente ($p < 0.05$) el riesgo de contraer mastitis posterior al parto y mejoró la fertilidad del rebaño.

Palabras clave: micro nutriente, inflamación, glándula mamaria, fertilidad La mastitis.

Abstract

Mastitis is a global disease that affects the productivity of the dairy cow. The prevalence of this disease is largely determined by the immunosuppression that occurs during the transition period. Copper supplementation stimulates the immune system. This research aimed to determine the effect of copper supplementation in Siboney cows on immunoglobulin levels, the risk of incidence of mastitis, and fertility. Copper was determined in blood serum by atomic absorption. The diagnosis of mastitis was made through the California test. The immunoglobulins were determined by spectrophotometry using a turbidimetric method. The subcutaneous administration of a solution (SUPER-CU-CIMAGT_2014) in doses of 2 ml containing 50 mg of copper sulphate to hypocupremic dairy cows at eight months gestation and 30 days postpartum permitted an increase in immunoglobulin rates, restored the values of copper in the blood serum, decreased significantly the risk of contracting postpartum mastitis, and improved herd fertility .

Key words: micro nutrient, inflammation, mammary gland, fertility, mastitis.



Recibido: 15 de marzo, 2017
Aceptado: 27 de mayo, 2017

Introducción

En Cuba la deficiencia de cobre afecta a más del 70% de los hatos de ganado bovino (García *et al.* 2010). De igual manera, la mastitis es una enfermedad global que aqueja entre el 10% y 80% de las vacas lecheras (Armenteros Peña, 2001; Pulido & Linares, 2012; Herr, Bosted & Failing, 2010). Esta enfermedad causa una gran disminución de la producción y calidad de la leche (Moussavi, Mesgaran & Gilbert, 2012).

El cobre cumple un importante papel en la producción y la reproducción (Pedroso & Roller, 2009), así como la capacidad de respuesta del sistema inmunológico (Sordillo & Aitken 2009; Jóźwik, *et al.* 2012; Arthington, 2015), por consiguiente, su deficiencia está relacionada con el aumento de la susceptibilidad a la incidencia de mastitis posterior al parto y disminución de la fertilidad de las vacas posterior al parto (Gunay & Gunay, 2008; García *et al.*, 2010; Hudson, Bradley, Breen & Green, 2012).

Recientemente se ha demostrado que existe una asociación significativa entre las deficiencias de cobre y la prevalencia de mastitis (Scaletti & Harmon, 2012). Además, fue comprobado el efecto beneficioso de la suplementación oral o parenteral de este microelemento durante el período de transición (Yang & Li, 2015) en la prevalencia y severidad de esta enfermedad de la glándula mamaria. Pero, los resultados referentes a la reducción de la incidencia de mastitis, utilizando una suplementación de cobre han sido divergentes. Así, Dietz (2015) no encontró efecto alguno en la capacidad funcional de los neutrófilos en vacas Holstein suplementadas con cobre y afectadas con este proceso inflamatorio. En experimentos similares realizados recientemente por Torres *et al.* (2016) no fue posible disminuir la presencia de mastitis subclínica posterior a un tratamiento parenteral de cobre en vacas mestizas Holstein x Cebú con deficiencias de cobre en las condiciones del trópico húmedo, aunque el tratamiento disminuyó significativamente el número de casos clínicos. Es probable que estas divergencias se deban a que la mayoría de estos estudios fueron efectuados en

climas templados y con animales que no mostraron signos de la deficiencia de cobre.

En este contexto, esta investigación tuvo como objetivos: a) evaluar el efecto de la suplementación de cobre en los niveles de inmunoglobulinas como expresión de la respuesta del sistema inmunológico durante el período de transición en vacas hipocuprémicas; b) conocer el riesgo de padecer un proceso inflamatorio de la glándula mamaria, y c) determinar el impacto en los indicadores del comportamiento reproductivo posterior al parto en las condiciones del trópico húmedo.

Materiales y métodos

Localización

La investigación se efectuó en rebaños de vacas lecheras Siboney de Cuba, bajo programas de inseminación artificial en la Empresa Valle del Perú Granja Nazareno, en la zona occidental del país. Las condiciones climáticas se caracterizaron por una temperatura promedio anual de 23,8 °C., el promedio anual de precipitaciones fue de 1 235 mm y una humedad relativa promedio anual de 80,41%.

Sistema de explotación y manejo de los animales

Las vacas estaban bajo el sistema de explotación semiintensivo, doble ordeño mecanizado, y pastoreo rotacional, sobre pasturas de pasto estrella (*Cynodon nlemfluensis*), con suministro de forraje de King Grass (*Pennisetum purpureum*) y concentrado (13% de proteína), 0,5 kg por cada litro posterior al quinto litro. Las vacas pastaban en la mañana (4 h) y en la tarde (5 h). Los rebaños estaban sometidos a vigilancia veterinaria según los programas vigentes del Instituto de Medicina Veterinaria (IMV) y eran libres de enfermedades infectocontagiosas como brucelosis y tuberculosis. La reproducción se llevó a cabo mediante la inseminación artificial con semen congelado proveniente de toros de fertilidad probada. Estos servicios fueron efectuados por técnicos que acreditaron más de ocho años de experiencia.

Método de diagnóstico de la mastitis

El diagnóstico de la mastitis se realizó mediante exploración clínica al 100% de las ubres de las vacas en producción. Para ello se utilizaron los métodos de inspección y palpación a fin de detectar cuartos con mastitis clínica (aguda) y crónica. La detección de mastitis subclínica fue efectuada empleando la Prueba de California realizada cada 15 días (2 veces al mes, durante el ordeño según la metodología de Armenteros *et al.* (2001).

Medio para la valoración del comportamiento reproductivo

El estado reproductivo individual de las vacas objeto de estudio fue determinado mediante la valoración de los registros reproductivos: intervalo parto-primer celo, parto-concepción, número de servicios por gestación e intervalo parto-parto.

Toma de sangre y análisis bioquímico

La toma de muestras de sangre se realizó por punción de la vena yugular. El cobre fue determinado en el suero sanguíneo por espectrofotometría de absorción atómica en un equipo SP-9 de la firma PYE UNICAM, según los procedimientos del fabricante. El método de análisis para la cuantificación de las inmunoglobulinas fue el ensayo de inmuno turbidimetría de punto final, que se basa en la reacción entre cada inmunoglobulina con su anticuerpo específico (Ramos *et al.* 2004). Esta reacción produce un complejo antígeno anticuerpo y la cantidad de inmuno complejos insolubles formados genera una turbidez medible a 360 nm. La cuantificación se efectuó automáticamente utilizando el autoanalizador (INLAB CS-T 240, CIEN-TIFICA TECNOLOGIE BIOMEDICHE, ITALIA).

Procedimiento para la suplementación de cobre

Para el desarrollo de este estudio se seleccionaron 70 vacas mestizas Holstein x Cebú (Siboney de Cuba) con deficiencia de cobre ($< 10 \mu\text{mol/ml}$ en suero sanguíneo), según los valores de referencia de García *et al.* (2010). En la investigación se utilizaron animales de edad de primera y

segunda lactancia, con un estado de la condición corporal de 2,5 a 3,5 en escala de 1 a 5 puntos (Mulvani, 1981) con deficiencias de cobre ($< 10 \mu\text{mol/L}$ en suero sanguíneo). Las vacas fueron distribuidas al azar en dos grupos de 35 animales cada uno. El grupo experimental ($n=35$) fue tratado con una formulación de sulfato de cobre etilendinitrotetraacetato (SUPER-CU-CIMAGT, 2014). El grupo control ($n= 35$) fue tratado con un placebo (Solución de EDTA al 0,9% más Glicerol 10%). La primera administración del tratamiento fue a los 8 meses de gestación y se repitió el tratamiento a los 30 días después del parto. El producto fue administrado por vía subcutánea en la región lateral posterior del cuello en dosis 50 mg SO_2Cu (2ml) por animal, efectuando una segunda administración a los 60 días después del parto.

Análisis estadístico

Se calcularon los estadígrafos descriptivos para todas las variables. Se utilizó un Test de Students para comparar los niveles de cobre e inmunoglobulinas entre los animales tratados y el grupo control. Se determinó el riesgo relativo de la prevalencia de mastitis subclínica entre las vacas suplementadas con cobre y el grupo de vacas no tratadas mediante la conformación de una tabla de contingencia 2 x 2 (Thrusfield, 1999) y la aplicación de una prueba de Chicuadrado (χ^2). Para el desarrollo de estos análisis se utilizó el paquete estadístico Statgraphis Centurion Ver.5.1 XV.II (Statistical Graphic Corp., USA), 2006) y el paquete estadístico Epidat 3.1, de la (Organización Panamericana de la Salud/Organización mundial de la salud, OPS/OMS, 2006).

Resultados

Los valores de cobre e inmunoglobulinas del suero sanguíneo determinado antes y después del parto en las vacas que fueron tratadas con 50 mg de (SUPER-CU-CIMAGT-2014) mostraron un aumento significativo del cobre ($p<0,05$) y las fracciones de inmunoglobulinas evaluadas ($p>0.001$), respecto al grupo control. En estos últimos los valores de este micro elemento se mantuvo en el rango crítico de deficiencia (Tabla 1).

Tabla 1. Concentraciones medias de cobre e inmunoglobulinas (Media \pm SD) en suero sanguíneo en vacas Siboney de Cuba antes y después de la suplementación parenteral con (SUPER-CU-CIMAGT-2014)

| Indicadores | Pretratamiento | Grupo control | Grupo tratado | Significación |
|-------------------|-----------------|------------------------------|-------------------------------|---------------|
| Cobre μ mol/L | 8,10 \pm 2,14 | 7,90 \pm 2,08 ^a | 12,16 \pm 2,12 ^b | P<0.05 |
| IgG (g/l) | 9,12 \pm 0,08 | 7,25 \pm 0,04 ^a | 12,83 \pm 0,04 ^b | P<0.001 |
| IgA (g/l) | 0,20 \pm 0,11 | 0,14 \pm 0,08 ^a | 0,26 \pm 0,08 ^b | P<0.001 |
| IgM (g/l) | 1,31 \pm 0,20 | 0,90 \pm 0,05 ^a | 2,05 \pm 0,06 ^b | P<0.001 |

Leyenda: Letras diferentes por líneas difieren entre sí.

La evaluación del riesgo relativo en vacas expuestas al tratamiento con 50 mg de Cu por vía parenteral disminuyó el riesgo absoluto (RAR) en un 25%, lo que indica que es posible reducir la ocurrencia de mastitis en 25 casos entre 100 animales tratados con esta solución de Cu utilizada en la dosis prescrita de 50 mg por la vía parenteral 4 semanas antes y 30 días posterior al parto.

El estudio del riesgo relativo en vacas expuestas al tratamiento con 50 mg de Cu por vía parenteral demostró que el mismo tiene un efecto protector para la mastitis, disminuyendo el riesgo de que los animales suplementados la padezcan. El

índice de riesgo relativo fue de 0,59 ($p < 0,05$), con un IC 95% de 0,35 - 0,97. El riesgo en los tratados fue 0,37 y en los no tratados fue de 0,62 para una diferencia de riesgo de -0,25. Los resultados del cálculo de la reducción del riesgo indican que es posible reducir la mastitis un 25% con un NT de 4.

La suplementación de cobre contribuyó a mejorar los indicadores del comportamiento reproductivo. En el grupo experimental redujo significativamente los intervalos entre partos, el número de servicios por gestación e incrementó la tasa de preñez con respecto al grupo control no tratado (Tabla 3).

Tabla 2. Estimación de índice de riesgo en vacas Siboney tratadas con 50 mg de sulfato de cobre vía parenteral antes y después del parto.

| Riesgo | Estimación | IC (95,0%) | |
|---------------------------------|------------|------------|-------|
| Riesgo en expuestos | 0,37 | - | - |
| Riesgo en no expuestos | 0,62 | - | - |
| Riesgo relativo | 0,59 | 0,35 | 0,97 |
| Diferencia de riesgos | -0,25 | -0,48 | -0,03 |
| Fracción prevenida en expuestos | 0,40 | 0,02 | 0,64 |
| Fracción prevenida poblacional | 0,20 | 0,01 | 0,32 |

Tabla 2. Efecto de la suplementación de cobre parenteral en el comportamiento reproductivo de vacas Siboney de Cuba hipocuprémicas en clima tropical húmedo (Media \pm SD).

| Indicadores | Control | Tratados | Significación |
|---------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------|
| IPPS (días) | 131 \pm 46,7 ^a | 91 \pm 30,8 ^b | P<0.05 |
| IPC(días) | 263 \pm 64,6 ^a | 135 \pm 65,6 ^b | P<0.05 |
| IPP(días) | 549 \pm 63,1 ^a | 425 \pm 62,5 ^b | P<0.05 |
| S/C(número) | 3,1 \pm 0,95 ^a | 2,0 \pm 0,88 ^b | P<0.05 |
| Gestación (%) | 32,2 ^a | 51,5 ^b | P<0.001 |

Letras diferentes por líneas difieren entre sí

Leyenda: IPPS= intervalos parto primer celo; IPC= intervalo parto-concepción, IPP= intervalo parto-parto, SC= servicio por concepción

Discusión

En diversos estudios se ha demostrado la relación existente entre las deficiencias de cobre, la prevalencia de mastitis y el comportamiento reproductivo de las vacas lecheras. Pero, aún era insuficiente el conocimiento del mecanismo fisiopatológico que ocasiona esta interrelación en las condiciones del trópico. Al respecto, Gunay & Gunay (2008), García *et al.* (2010) y Hudson *et al.* (2012) enfatizan que el cobre cumple un importante papel en la producción, la reproducción y la capacidad de respuesta del sistema inmunológico (Sordillo & Aitken 2009; Jóźwik *et al.*, 2012; Arthington, 2015). Por consiguiente, la deficiencia de este microelemento durante el período de transición, cuando las vacas muestran una fase de inmunodepresión, puede contribuir al aumento de la susceptibilidad a la incidencia de mastitis posterior al parto y disminución de la fertilidad posterior al parto.

Los datos obtenidos en la presente investigación demuestran que la suplementación de cobre cuatro semanas antes y después del parto en vacas hipocuprémicas tuvo un efecto positivo y significativo en el restablecimiento de los valores normales de cobre en el suero sanguíneo, mejoró la respuesta del sistema inmunológico expresada en el aumento de los niveles de inmunoglobulinas de la sangre posterior al parto, disminuyó la incidencia de la mastitis subclínica y contribuyó al mejoramiento de los indicadores del comportamiento reproductivo en el rebaño de referencia.

De acuerdo con estos resultados es posible afirmar que este efecto estuvo asociado al papel que cumple el cobre en la diferenciación, maduración y activación de los distintos tipos de células que forman parte del sistema inmunológico (Herr *et al.* 2011) y la función como cofactor de la acción de varias enzimas que forman parte fundamental de la capacidad de homeostasis del sistema antioxidante del organismo (Spears & Weiss, 2008; Yang & Li, 2015). En este sentido, en estudios realizados en vacas Holstein de primera lactancia se demostró que la suplementación con Cu mejoró la resistencia a la acción patóge-

na de *Echerichia coli* y contribuyó a mejorar la severidad de los signos clínicos de los procesos inflamatorios en la glándula mamaria (Scaletti & Harmon, 2012).

Con relación a la mejora de la fertilidad del rebaño estos hallazgos se atribuyen a las funciones que ejerce el cobre en el control de los procesos reproductivos en la hembra bovina (Michaluk & Kochman, 2007; Pedroso & Roller, 2009; Rosa *et al.*, 2015).

Conclusión

La estrategia de suplementación de cobre es recomendable en rebaños con deficiencias de este micro elemento. El tratamiento mejora el estado de salud de las ubres y la fertilidad de la hembra bovina posterior al parto en las condiciones climáticas del trópico húmedo

Referencias bibliográficas

- Arthington, J. (2015, febrero). New concepts in Trace Mineral Supplementation of Grazing Cattle Hydroxy source injectable source and pasture application. Florida Ruminant Nutrition Symposium. 26 Annual Meeting. Best Western Gateway Grand Gainseville Florida. 104-117.
- Armenteros, M., Peña, J., Pulido, J.L., & Linares, E. (2001). Caracterización de la situación de la mastitis bovina en rebaños de lechería especializada en Cuba. Arch. Latinoamericano de Producción Animal 9(1) 1172-1176.
- Dietz, A. (2015). Effect of dietary Cu, Zn and Mn on bovine Neutrophil function. (Master Science Thesis) The Ohio State University, EEUU.
- García, J.R., García, López, R., Cuesta, M., Figueredo, J. M., Quiñones, R., Faure, R., Pedroso, R., Mollineda, A. (2010). Blood copper levels and their influence on reproduction indicators of cows in tropical conditions. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 44 (3), 233-239. Recuperado de <http://bit.ly/2rUsM8o>.

- Gunay A., & Gunay. U.(2008). Effect of clinical mastitis on reproduction performance in Holstein cows. *Acta. Vet. Brno.* 77(4):555-560. doi:10.2754/avb200877040555
- Herr M, Bostedt H, Failing K. (2011). IgG and IgM levels in dairy cows during the periparturient period. *Theriogenology* . 75(2):377–385. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.09.009>
- Hudson, C.D., Bradley, A.J., Breen, J.E., & Green, M.J. (2012). Associations between udder health and reproductive performance in United Kingdom dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95(7), 3683–3697. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4629>
- Jóźwik, A., Krzyżewski, J., Strzałkowska, N., Poławska, E., Bagnicka, E., Wierzbicka, A., Niemczuk, K., Lipińska, P., & Horbańczuk, J.O. (2012). Relations between the oxidative status, mastitis, milk quality and disorders of reproductive functions in dairy cows - a review. *Animal Science Papers and Reports*, 30(4): 297-307. Recuperado de <http://bit.ly/2qZSHvr>
- Michaluk, Anna., & Kochmsn, K.(2007). Involvement copper in female reproduction. *Reproductive Biology*, 7(3), 193-205. <http://bit.ly/2r0PGwR>
- Moussavi, H.A., Mesgaran, M.D., & Gilbert, R.O. (2012). Effect of mastitis during the first lactation on production and reproduction performance of Holstein cows. *Trop Anim Health Prod* 44(7): 1567-1573 doi: 10.1007/s11250-012-0107-3
- Mulvany, P. (1981). Dairy cow condition scoring handout No 4468. *Natl. Inst. Res. Dairing-shinfiel*. Reading. UK. 81
- Organización Mundial de la Salud. OPS/OMS.(2006) Paquete estadístico. Epidat.Versión 3.1.
- Pedroso, R; Roller, Felicia.(2009). Efectos de las deficiencias de cobre en la reproducción y eficacia de las nuevas Biotecnologías del ganado bovino en Cuba. *Reseña. Ciencia y Tecnología Ganadera* 3,(3), 101-119. Recuperado de <http://bit.ly/2qmvAsO>
- Ramos, V.A; Rodríguez, A. M; Cisneros, R. L; Cordero, I.G; Rodríguez, O.Z; Pérez, C.H; García, A. M; Rodríguez, E. M; García, G.T(2004). Ensayo turbidimétrico para la cuantificación de IgA, IgC e IgM en suero humano. *Bioquímica*.29(2):45-54
- Scaletti, R.W., & Harmon, R.J. (2012). Effect of dietary copper source on response to coliform mastitis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95(2), 654-662. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4435>
- Spears, J.W., Weiss, W.P. (2008). Antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *The Veterinary Journal* 176 (1), 70–76. doi:10.1016/j.tvjl.2007.12.015
- Sordillo, L.M,Aitken, S,L.(2009). Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.*128 (1-3):104-109. doi:10.1016/j.vetimm.2008.10.305
- Torres, Rosas Gelda ; Páez, R; Azum, J.L; Roller, G. Felicia; González, C. Noelia; Albiol, A. J; Pedroso, S. R.(2016). Uso del sulfato de cobre por vía parenteral en vacas hipocuprémicas con mastitis y su efecto en la fertilidad. *Rev La Técnica*.16 (1): 56-63
- Thrusfiel, M. (1999). *Veterinary epidemiology* 2da.Ed. Blackwell Science, Ltd; London
- Yang, F.L & Li, X.S. (2015). Role of antioxidant vitamins and trace elements in mastitis in dairy cows. *J. Adv. Vet. Anim. Res.* 2 (1), 1-9. DOI: 10.5455/javar.2015.b48