



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA**

**“DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE
ZINC EN SANGRE DE PERROS DEL MUNICIPIO
DE TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO.”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

MIGUEL ÁNGEL GONZÁLEZ SÁNCHEZ

ASESORES:

Dr. BENJAMÍN VALLADARES CARRANZA

Dr. CÉSAR ORTEGA SANTANA

Dra. NALLELY RIVERO PÉREZ

Toluca, México, Febrero del 2023.



ÍNDICE

	Pág.
ÍNDICE	i
ÍNDICE DE CUADROS	ii
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
RESUMEN	iii
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
JUSTIFICACIÓN.....	13
HIPÓTESIS.....	14
OBJETIVOS.....	15
MATERIAL.....	16
MÉTODO.....	17
LÍMITE DE ESPACIO.....	19
LÍMITE DE TIEMPO.....	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
CONCLUSIONES.....	28
LITERATURA CITADA.....	29

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Distribución de la concentración sanguínea de zinc en perros del municipio de Toluca, México, de acuerdo a la edad.	23
2	Distribución de la concentración sanguínea de zinc en perros del municipio de Toluca, México, de acuerdo con la dieta y al sexo.	25

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Concentración sanguínea de zinc en perros del municipio de Toluca, México, de acuerdo a la raza.....	22
2	Concentración de zinc sanguíneo en perros del municipio de Toluca, México, de acuerdo a la edad.....	24
3	Concentración sanguínea de zinc en perros del municipio de Toluca, México, de acuerdo a la dieta de consumo.....	26
4	Concentración sanguínea de zinc en perros del municipio de Toluca, México, de acuerdo al sexo.....	27

RESUMEN

Miguel Ángel González Sánchez. "Determinación de la concentración de zinc en sangre de perros del municipio de Toluca, Estado de México". (Bajo la asesoría del: Dr. Benjamín Valladares Carranza, Dr. César Ortega Santana y la Dra. Nallely Rivero Pérez).

El zinc (Zn), es un oligoelemento o mineral traza indispensable para la funcionalidad orgánica, asociado a enzimas y útil en diferentes rutas metabólicas. El objetivo de este trabajo fue determinar la concentración sanguínea de Zn en perros de distinta raza, edad y sexo del municipio de Toluca, Estado de México, para identificar si existe alguna deficiencia o exceso, considerando los rangos de referencia establecidos por otros estudios. Se recolectaron en total 300 muestras de sangre de perros mediante venopunción cefálica en tubos con heparina a través del sistema vacutainer. Las muestras colectadas fueron procesadas a través de digestión ácida (con ácido nítrico y perclórico), para posteriormente realizar la lectura por espectrofotometría de absorción atómica, con lámpara específica del elemento de interés; los resultados se expresan en ppm, utilizando estadística descriptiva a través de cuadros y gráficas. Se obtuvieron muestras de diferente raza, como: Alaska malamute, Bull terrier, French poodle, y Mestizos, entre otras; con una edad de 4 meses a 13 años; por sexo se obtuvieron de 133 machos y 167 hembras. El promedio general de la concentración sanguínea de Zn fue de 25.31 ± 4.73 ppm. El valor mínimo de Zn sanguíneo fue de 16.89 y el máximo de 33.56 ppm. La concentración de Zn mostró una mayor concentración en los perros que son alimentados con dieta casera (26.51 ± 4.23 ppm) a comparación de los alimentados con dieta comercial. Los perros mestizos mostraron una mayor concentración de 28.6 ± 3.58 ppm de Zn, a diferencia de los perros de otra raza. En las hembras se obtuvo un nivel de Zn sanguíneo de 25.17 ± 4.16 ppm. Los cachorros menores de entre seis meses o menos fueron los que mostraron un nivel más bajo de Zn sanguíneo (21.09 ± 2.71 ppm). Al comparar los valores obtenidos con los valores de referencia reportados, se infiere que los perros muestreados se encontraron dentro del rango establecido. La evaluación funcional periódica de elementos como el Zn en los perros resultara en una estrategia para mejorar la calidad de vida de esta especie tan apegada a la vida del hombre.

Palabras clave: Zinc, perros, sangre, deficiencia, intoxicación.

INTRODUCCIÓN

En la alimentación animal, los principales componentes o sustancias son de origen orgánico; compuesto de glúcidos, proteínas y lípidos, mientras que una pequeña cantidad está conformada por la materia inorgánica o cenizas, la cual a su vez contiene a diversos elementos minerales, varios de estos indispensables para el desarrollo, mantenimiento y en general, el buen desarrollo fisiológico de todo organismo (Shimada, 2018).

Los minerales son compuestos inorgánicos indispensables para los organismos vivos, de los cuales en los animales representa aproximadamente 4% del peso corporal. Clásicamente podemos dividir a los minerales en dos grupos: macrominerales y microminerales (Case *et al.*, 2011, Valladares *et al.*, 2022).

Los macrominerales son elementos que podemos encontrar en cantidades considerables en todo el organismo, mientras que los microminerales también llamados minerales traza u oligoelementos son elementos que se encuentran en cantidades significativamente pequeñas; y se requieren en muy pequeñas cantidades en la dieta diaria en perros y gatos a concentraciones menores de 100 ppm, entre ellos se encuentra el hierro, zinc y el cobre entre otros (Faceti y Melani, 2012).

Una alteración en la concentración de algún mineral en el organismo, como un exceso o deficiencia deriva en una modificación el metabolismo de algún otro mineral con el que guarda estrecha relación. Por lo que, una alteración o desajuste mineral puede derivar en defectos en sistemas enzimáticos y hormonales en los animales (Faceti y Melani, 2012; Church, 2012; Valladares *et al.*, 2013 y 2022; Wortinger y Burns, 2015).

Los alimentos que aportan cantidades altas de zinc son los cereales y sus derivados, así como productos proteicos y subproductos de origen animal (Mac Donald *et al.*, 2011; Wu, 2018).

Las alteraciones relacionadas con deficiencias de zinc (Zn), cobran importancia principalmente en perros predispuestos genéticamente o en perros alimentados con dietas deficientes de este mineral, como son comidas caseras “mal preparadas” o alimentos baratos; además, existen síndromes que tienen que ver directamente con el metabolismo del Zn como es la enfermedad denominada “acrodermatitis del bull terrier”. Las intoxicaciones de este mineral en perros están relacionadas a perros con hábitos de indiscreción alimentaria, debido al consumo de diversos objetos o sustancias que están fabricados con este mineral y desarrollan una serie de signos clínicos asociada a la cantidad o forma del mineral en la que se ha consumido (Patel *et al.*, 2010; Wortinger y Burns, 2015; Jubb *et al.*, 2016; Zachary, 2017; Bobadilla, 2022).

Al considerar cual es la mejor forma de conocer el nivel adecuado en un organismo, Faceti y Melani (2012), consideran que los métodos son estimativos y que pueden no ser los adecuados, por lo cual es necesario revisar y considerar alternativas tanto cualitativas, como cuantitativas para determinar el valor real del zinc; por otra parte McDowell en 2003, refiere que para tener un indicador más confiable del nivel de este mineral, depende del tipo de muestra y propone que a partir de la toma de suero sanguíneo se puede estimar de manera adecuada la concentración de Zn, y considerar además la correlación de la concentración de metalotioneína; pero además, Kirchgessner y Roth (1981) citado por McDowell (2003), plantearon que es importante evaluar a la par la concentración sérica de Zn y fosfatasa alcalina para poder tener una evaluación con mayor relevancia y precisión.

Por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar las concentraciones sanguíneas de zinc de perros del municipio de Toluca, Estado de México, y valorar el estado epizootiológico que guardan en relación a datos de referencia y su condición de vida que les dan los propietarios a esta especie animal a través del suministro en su dieta.

REVISIÓN DE LITERATURA

El interés de estudio por el zinc (Zn), inició en el año de 1955 cuando se determinó una deficiencia de este mineral en la dieta de cerdos, en los cuales se observaba paraqueratitis y se realizaron hallazgos similares en otras especies incluyendo a los humanos, debido a esto se continúan realizando consideraciones sobre el papel fisiológico y de investigación en torno al Zn (McDowell, 2003).

El zinc es un catión divalente, con el número atómico 30 y un peso atómico de 65.37. Es un mineral utilizado recurrentemente en la industria, se usa para la elaboración de cosméticos, plásticos, ungüentos para piel, y jabones; también se utiliza como parte de los pigmentos de pinturas y tintas de impresión (McDowell, 2003).

Este elemento es parte de los llamados minerales traza, oligoelementos o microminerales (elementos indispensables para la vida de todo organismo). Los microminerales son nombrados así debido a que las necesidades de los individuos se encuentran en cantidades muy pequeñas para el funcionamiento normal (<100 mg/Mcal) (Church, 2012; Faceti y Melani 2012). De acuerdo con Church (2012), se reconocen al menos 25 elementos clasificados como oligoelementos.

De acuerdo a McDowell (2003), Church (2012), Shimada (2018), y Wu (2018), el Zn es el micromineral más abundante en el organismo solo antecedido por el hierro que se encuentra en mayor cantidad; la acumulación de Zn en el organismo se da en diferentes tejidos del cuerpo y en diferentes concentraciones, al encontrarse en: Musculo esquelético (47%), hueso (29%), piel (6%), hígado (5%), cerebro (1.5%), riñones (0.7%), y corazón (0.4%); otros sitios donde se acumula son pelo, próstata, fluido seminal en los machos, páncreas, intestino y ojo.

En el estudio realizado por Wu (2018), se señala que la cantidad de Zn en sangre es de 20 a 30 ppm y en plasma de 10 a 20 ppm. Contrastando con los valores obtenidos en el estudio de García (2004), los cuales refiere deben

encontrarse dentro del rango de 6.12 a 24.57 ppm, teniendo como promedio 12.6 ppm.

Funciones

El Zn está involucrado como parte y activador enzimático; existe un número importante de enzimas en las cuales este elemento mineral forma parte de su estructura (McDowell, 2003).

En las observaciones realizadas por Case *et al.* (2011), Faceti y Melani (2012), Church, (2012), y Wortinger y Burns, (2015), se señala la importancia del Zn en el desarrollo de la epitelización, debido a su interacción como cofactor en sistemas enzimáticos como la ARN y ADN polimerasa, participa en el equilibrio electrolítico, producción, conservación y secreción hormonal, ya que forma parte de la insulina. Por lo tanto, contribuye en el metabolismo de los carbohidratos, al igual que en el metabolismo de lípidos, como lo expresan Case *et al.* (2011), debido a que es cofactor de la enzima delta-6-desaturasa esencial en la conversión del ácido linoleico a ácido araquidónico.

De las enzimas que contienen zinc y son las más estudiadas de acuerdo con McDowell (2003), Mac Donald *et al.*, (2011), Case *et al.* (2011), Reece *et al.* (2015), y Wu, (2018), se encuentran a la anhidrasa carbónica, carboxipeptidasa pancreática, aminopeptidasa, lactato deshidrogenasa, alcohol deshidrogenasa, fosfatasa alcalina y timidina quinasa; lo cual denota la importancia y el rol del Zn en las diversas rutas metabólicas y funciones en distintos lugares en función a la participación de este mineral a nivel orgánico.

Además, McDowell (2003), y Wortinger y Burns (2015), el Zn es una parte clave en la producción, almacenamiento y secreción de hormonas e influye sobre la efectividad de los sitios receptores, así como la eficiencia de respuesta de los órganos diana como se ha visto en hormonas que incluyen a la testosterona, insulina, y corticoesteroides adrenales.

Cabe destacar la función elemental del zinc que refiere Reece *et al.* (2015), y Tizard (2019), al participar en la regulación de la inmunidad mediada, ya que es componente de la timosina, hormona producida por el timo y que regula el desarrollo de las células inmunes.

Fuentes de zinc

Entre las fuentes con una cantidad que puede satisfacer en la alimentación los requerimientos de Zn destacan productos, como: mariscos, carne, huevos, harina de pescado, harina de carne, harina de sangre, productos lácteos, legumbres, y cereales (Mac Donald *et al.*, 2011; Wu, 2018). Para los perros las principales fuentes de Zn en la dieta pueden ser los alimentos comerciales, sean secos o húmedos, los cuales bajo un control de calidad y la normatividad de cada país deben evaluar los límites máximos permisibles de este mineral. Sin embargo, debe considerarse que las fuentes vegetales para la inclusión en el alimento de los perros deben evaluarse antes de su inclusión en la dieta del perro, esto, por la baja asimilación que pueden aportar en comparación a la carne y el huevo (Case *et al.*, 2011).

Absorción y metabolismo

De acuerdo con Church (2012), la absorción de Zn se lleva a cabo en el intestino delgado, específicamente en el duodeno, con una absorción del 5% al 40%; seguido las zonas del intestino que tienen la mayor absorción de este elemento mineral de acuerdo con Naveh *et al.* (1988), que son el íleon distal y la sección proximal de yeyuno.

Reece *et al.* (2015), han señalado que el Zn ingresa a las células mediante proteínas transportadoras de Zn ricas en cistina y a través de difusión facilitada, pasando de la luz intestinal al citosol celular de los enterocitos, ingresando desde la región apical.

La absorción por las células intestinales es regulada por la metalotioneína; proteína producida por el hígado cuando se genera un aumento de zinc en el plasma (McDowell, 2003; Church, 2012).

Las metalotioneínas juegan un importante papel en la regulación de la absorción y metabolismo del zinc debido a su alta afinidad por el Zn (Case *et al.*, 2011). Reece *et al.* (2015), han indicado que el Zn unido a la metalotioneína se encontrará unido a ella hasta que el enterocito muera o se desprenda, y de esta manera será excretado por las heces. El aumento o disminución de la cantidad de metalotioneínas que se encuentren en el enterocito afectara la cantidad de Zn dietético que se absorba de esta manera. McDowell (2003), precisa que las metalotioneínas actúan como secuestrantes de iones metálicos (Zn) cuando se encuentran en altas concentraciones dietéticas.

Los quelantes orgánicos (sustancias que tienen la propiedad de fijar los iones metálicos de un determinado complejo molecular), pueden aumentar o disminuir la biodisponibilidad de Zn. Algunos quelantes forman con el Zn compuestos insolubles que interfirieren con su absorción (Reece *et al.*, 2015). Así mismo, dentro de los quelantes que disminuyen la disponibilidad de Zn se encuentran los fitatos (ácido fítico), el cual es quelante de otros minerales como hierro y cobre. El fitato puede ser encontrado en todas las semillas de cereales, legumbres, tubérculos, raíces y frutos secos, y es la principal forma en que las plantas almacenan el fosfato (McDowell, 2003).

Investigaciones realizadas por Case *et al.* (2011), Church (2012), y Wortinger y Burns (2015), destacan que niveles altos de calcio en la dieta, así como una alta concentración de fitatos, generan una disminución de la absorción de Zn en el intestino. Ya que el fitato al unirse con el zinc forma un compuesto inabsorbible por las células intestinales. Y Reece *et al.* (2015), manifiestan que este efecto tiene mayor importancia en animales monogástricos que en rumiantes.

Algunos de los quelantes mejoran la absorción de Zn por los enterocitos, cabe mencionar que dentro de estos se encuentran los quelantes naturales tales como aminoácidos y péptidos (Reece *et al.*, 2015).

Además, Reece *et al.*, (2015), refieren que después de la absorción por los enterocitos el zinc se libera a la circulación sanguínea y es transportado al hígado mediante unión a proteínas como la albumina y la transferrina, esto debido a su capacidad como agente oxidante fuerte.

Por otra parte, las vías de excreción del Zn ocurren principalmente a través de las heces y solo en pequeñas cantidades en la orina (McDowell, 2003).

De acuerdo con Church (2012), la excreción del Zn endógeno se da dentro del intestino mediante el jugo pancreático, debido a esto el Zn fecal estará conformado por el Zn no absorbido y el excretado. El 75 % de la excreción se realiza a través de secreciones pancreáticas, bilis y células de la mucosa gastrointestinal; el 25 % restante se excreta en orina (Lee *et al.*, 2016).

La excreción de este elemento mineral se ve reducida cuando hay una deficiencia de Zn en la dieta, esto para evitar más pérdidas (Church, 2012). La vida media de Zn en el suero es de 7.6 días y las concentraciones en suero disminuyen en una manera constante (Lee *et al.*, 2016).

Deficiencias

Case *et al.* (2011), y Wortinger y Burns (2015), han señalado que las deficiencias pueden ser derivadas por niveles inadecuados de Zn en la dieta, o como resultado de la presencia de otros nutrientes que dificultan su absorción o metabolismo, en este caso las deficiencias de Zn pueden ser originadas por niveles elevados en la ingesta de calcio.

El efecto antagonista del calcio sobre el zinc es más importante en los carnívoros que en animales rumiantes (Reece *et al.*, 2015).

Case *et al.* (2011), han expuesto que, aunque no es común una deficiencia “natural”, en perros alimentados con comida para perros mal formulada, seca y barata, el efecto carencial se puede presentar en esta especie. Mientras que McDowell (2003), refiere que la deficiencia de zinc puede estar influenciada por factores patológicos como infestaciones parasitarias, así como situaciones donde haya pérdidas considerables de sangre.

Las deficiencias se pueden manifestar de diferentes maneras en los animales domésticos, dentro de lo que destaca: un retraso del crecimiento de animales jóvenes (razas de talla grande y gigante pueden verse mayormente afectadas que otras razas); anorexia; hipogonadismo en órganos reproductores masculinos; retraso en la cicatrización de heridas; lesiones en piel, tales como descamación, eritema, costras en puntos de presión, hiperqueratinización en las células epidérmicas; disminución de la función del sistema inmunológico; conjuntivitis; trastornos gastrointestinales; y falla reproductiva (la deficiencia de Zn altera la síntesis de prostaglandinas), lo cual puede afectar la función lútea (McDowell, 2003; Case *et al.*, 2011; Faceti y Melani, 2012; Church, 2012; Reece *et al.*, 2015; Zachary, 2017).

McDowell (2003), expuso que, en el caso de deficiencias leves de zinc, como de otros elementos minerales los únicos signos observables son pérdida del apetito, aparente deshidratación y en ocasiones diarrea. En deficiencias severas se observan depresión de la función gonadal, anormalidades esqueléticas debido a la disminución de la síntesis de colágeno óseo, y depresión de la respuesta inmune (se muestra una pobre o deficiente respuesta inmunológica celular (Tizard, 2019).

De acuerdo con Case *et al.* (2011), en los perros y gatos los principales signos clínicos observables en las deficiencias de Zn son cambios en la piel y el pelaje. En los perros, son conocidos dos síndromes de deficiencia de zinc, los cuales tienen una presentación en la piel; y un aumento en el zinc de la dieta da unamejoría en los signos clínicos y a los cuales se le ha nombrado dermatosis responsivas a zinc (Case *et al.*, 2011; Faceti y Melani, 2012); aunque se ha

argumentado que estos son trastornos poco comunes e incluso raros que se observen en perros (Jubb *et al.*, 2016).

Síndromes de dermatosis responsivas a zinc

Síndrome I: Proceso que regularmente es reportado y lo presentan perros nórdicos como Alaska malamute, Huskies siberianos, y frecuentemente perros de las razas Doberman y Gran danes. Estas razas presentan una disminución de la capacidad para captar zinc en el intestino. Debido a un defecto en la transferencia de Zn en la mucosa intestinal del intestino delgado (Patel *et al.*, 2010; Case *et al.*, 2011; Faceti y Melani, 2012; Jubb *et al.*, 2016; Zachary, 2017).

La presentación clínica indica costras, alopecia en la región periocular, perioral, y pinal marginal, pudiéndose desarrollar también en los codos y en las almohadillas. Las lesiones inician con eritema y progresan a una leve alopecia seguido de costras con supuración, generalmente se encuentran localizadas cerca del hocico, ojos y orejas (Case *et al.*, 2011; Faceti y Melani 2012; Jubb *et al.*, 2016). Es característica una presentación unilateral y posteriormente lesiones simétricas; esta presentación suele aparecer antes de que los perros cumplan el año de edad (Jubb *et al.*, 2016).

Síndrome II: Este síndrome ocurre en los cachorros de cualquier raza en el periodo de rápido crecimiento y en perros alimentados con productos de origen vegetal como granos o soya, ya que contienen altas concentraciones de fitatos, y en perros suplementados con calcio. Su manifestación clínica presenta costras en los puntos de presión del hocico, pueden presentar hiperqueratosis con fisuras en las almohadillas (Patel *et al.*, 2010; Faceti y Melani, 2012; Jubb *et al.*, 2016; Zachary, 2017).

Y los reportes de casos en donde se han documentado las dermatosis responsivas al zinc están relacionadas a comidas comerciales con niveles marginales del mineral (Jubb *et al.*, 2016).

Existen otros trastornos los cuales se piensa están relacionados con el Zn. Tales como la “acrodermatitis letal de los perros Bull terrier”. Esta es una enfermedad hereditaria autosómica recesiva (Zachary, 2017). Así mismo, Jubb *et al.* (2016), infieren que el síndrome de la “acrodermatitis letal de los perros Bull terrier” puede deberse a una alteración en la absorción en el intestino, así como en el metabolismo de Zn, ya que se han encontrado niveles bajos de Zn en el suero de perros afectados. A su vez, Case *et al.*, (2011), concuerdan en que los Bull terriers son incapaces de absorber el Zn que se encuentra en la dieta.

Se ha resaltado que este síndrome se caracteriza por un retraso en el crecimiento, lesiones de piel, diarrea, anormalidades de comportamiento, bronconeumonía y usualmente mueren alrededor de los 18 meses (Case *et al.*, 2011; Jubb *et al.*, 2016; Zachary, 2017).

Diagnóstico de las deficiencias

Case *et al.*, (2011), han expuesto que es difícil el llegar al diagnóstico, sin embargo, se puede llegar a diagnosticar mediante la historia clínica, examen físico y apoyarse en exámenes de laboratorio, como es una biopsia de piel para descartar otro tipo de alteraciones.

Para un diagnóstico definitivo, se recomienda administrar dietas con adecuados niveles de Zn a pacientes que tienen deficiencias, y al revalorar a los animales, los signos clínicos desaparecen rápidamente (Case *et al.*, 2011).

Intoxicaciones

En este sentido, McDowell, (2003) ha indicado que en muchas especies animales los signos de toxicosis inician cuando los niveles de Zn en la dieta se encuentran en alrededor de 800 ppm.

Una intoxicación por un exceso en la concentración de Zn en dieta es un evento poco frecuente en la mayoría de los animales debido a su gran tolerancia a

este elemento (Mac Donald *et al.*, 2011); sumado al amplio margen que existe entre la cantidad de Zn necesaria en la dieta (50 mg/kg) y la cantidad necesaria para producir efectos tóxicos (Church, 2012).

Con base a lo señalado por Trigo y Valero (2017), Bischoff *et al.* (2017), Zachary, (2017), Thrall, (2012), Valladares *et al.*, (2021), y Bobadilla, (2022), los casos de intoxicación por Zn suelen ser comunes en perros entre otras, con hábitos de indiscreción alimentaria, en eventos asociados a la ingestión de nueces, al igual que objetos fabricados con materiales que contienen este elemento como: placas de identificación de perros, juguetes, botones, joyería, tuercas, pernos, grapas, clavos y cierres. También se pueden incluir sustancias elaboradas con sales de zinc como: suplementos de Zn y cremas corporales/faciales.

Algunos de los factores que pueden propiciar una intoxicación de Zn son, deficiencias dietéticas de Cu y Se; una baja captación de Ca puede contribuir a este hecho (Church, 2012).

Un alto consumo de Zn en la dieta provoca deficiencias de cobre y una disminución del consumo de alimentos (Mac Donald *et al.*, 2011; Reece *et al.*, 2015). Sumado a esto, elevados niveles de Zn pueden producir anemia la cual puede ser controlada mediante la administración de Cu y Fe en dieta (Church, 2012).

De acuerdo a Trigo y Valero (2017), Schalm *et al.* (2010), así como estudios hechos por Bischoff *et al.* (2017), y reportes de caso elaborados por Foote *et al.* (2020), refieren sobre algunos de los signos clínicos y manifestaciones en pacientes tras la ingestión continua de zinc, como son: anemia hemolítica severa, hipernatremia severa, falla renal aguda (en casos severos), conteo elevado de células blancas, anemia regenerativa, anemia hemolítica con o sin cuerpos de Heinz, pigmenturia, hiperbilirubinemia, hiperlipasemia, leucograma inflamatorio, y dolor abdominal.

Además, Lee *et al.* (2016), Trigo y Valero (2017), y Foote *et al.* (2020), han referido que dentro de las manifestaciones de una intoxicación aguda debido a

ingestión de cuerpos extraños que contienen zinc se puede observar vómitos, diarreas, perros con letargia y anorexia.

El mecanismo que origina la anemia hemolítica aún no está 100% comprendido y se necesitan más estudios al respecto (Foote *et al.*, 2020; Thrall, 2012). Aunque está bien documentado que el Zn causa hemolisis intravascular y cuerpos de Heinz (Nelson y Couto, 2020; Stevens *et al.*, 2012; Thrall, 2012; Trigo y Valero, 2017).

Los hallazgos *post mortem* que presentan perros intoxicados por Zn en los estudios de Bischoff *et al.* (2017), y a reportes de casos elaborados por Foote *et al.* (2020), con perros intoxicados debido a la ingestión de objetos metálicos son: nefrosis, fibrosis y necrosis pancreática, necrosis hepática y fibrosis.

Hallazgos incidentales mediante estudios de ultrasonografía realizados por Lee *et al.* (2016), encontraron que hay alteraciones en vejiga urinaria y vesícula biliar y se asocia a que mediante estos órganos se lleva a cabo la excreción de Zn.

Determinación de zinc en el organismo

Los métodos utilizados más comúnmente para evaluar el estado del mineral se deben correlacionar con los signos clínicos en las diferentes especies animales. Actualmente la evaluación de niveles plasmáticos de Zn es uno de los métodos utilizados en animales y en humanos. Se sugiere una combinación en la determinación de la concentración de Zn y metalotioneinas para determinar el estado completo de este elemento mineral; además, la medición de Zn sérico y la actividad de la fosfatasa alcalina puede ser un buen indicador del estado de Zn (McDowell, 2003).

JUSTIFICACIÓN

Alrededor de todo el mundo una gran variedad de especies animales, incluido el perro consume dietas que no satisfacen sus requerimientos nutricionales, por lo que es factible poder observar una serie de desórdenes o patologías desde un proceso ligero (subclínico), a aquellos que en muchas ocasiones se ven asociados a patologías secundarias con complicaciones graves, que incluso por el tiempo o duración suelen ser agudos o crónicos, ya sea por una deficiencia o intoxicación por zinc (Zn), lo cual conlleva a alteraciones patológicas desde ligeras y transitorias difíciles de diagnosticar con exactitud, manifestándose como una simple disminución de la fertilidad o retraso en el crecimiento.

La ingestión de dietas que son deficientes, desequilibradas o bien, excesivamente ricas en zinc pueden inducir a cambios en la concentración en los que puede aparecer en los tejidos o fluidos corporales de los animales, que puede detectarse ya sea por debajo o sobre el límite de referencia. En tales circunstancias pueden desarrollarse desequilibrios bioquímicos, que a su vez alteran la fisiología, y presentarse alteraciones estructurales que varían con el elemento, la intensidad o duración de la deficiencia o toxicidad dietética, la edad y la raza de los animales.

Por lo que es importante realizar la determinación y evaluación de la concentración de zinc presente en sangre de perros del municipio de Toluca, Estado de México, ya que es un elemento indispensable en las funciones vitales del organismo al cumplir con innumerables funciones, y que pueda llegar a ocasionar procesos patológicos, o en su caso intoxicación, cuando sobrepasa los niveles tolerables al organismo.

HIPÓTESIS

La concentración de zinc sanguíneo en perros del municipio de Toluca, México se encuentra dentro del rango de referencia de 20 a 40 ppm.

OBJETIVOS

General

Determinar las concentraciones de zinc en sangre de perros del municipio de Toluca. México.

Específicos

Establecer valores de referencia de zinc en sangre de perros en el municipio de Toluca, México.

Identificar deficiencias o excesos del mineral en sangre de perros de acuerdo a las razas y edades.

MATERIAL

Material biológico.

300 muestras de sangre completa de perros (de diferente edad, peso, raza y sexo), atendidos en diferentes clínicas veterinarias de la ciudad de Toluca, Estado de México.

Material de campo.

Tubos vacutainer con anticoagulante (heparina).

Agujas vacutainer.

Guantes.

Gradillas.

Bata.

Material de laboratorio.

Ácido nítrico.

Ácido perclórico

Agua desionizada.

Papel Whatman No. 41.

Frascos de plástico.

Equipo de laboratorio.

Balanza analítica. Sartorius NOM-01.

Digestor (LABCONCO-64132).

Espectrofotómetro de absorción atómica. Perkin Elmer No. Serie LR23329C. (Manual Perkin Elmer Co.: Analytical Methods for Absorption Spectrophotometry).

Lámpara de cátodo hueco específica para zinc (Perkin Elmer Co., 1985).

MÉTODO

Obtención de muestras.

Las 300 muestras de sangre fueron recolectadas mediante venopunción cefálica previa asepsia de la zona, tomándose aproximadamente 3-5 mL en tubo de vidrio con heparina como anticoagulante, mediante el sistema vacutainer (STT; Becton-Dickinson, U.S.A.).

Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra se determinó con base en la población de perros existente durante el 2021 (población de 250,000) de la Ciudad de Toluca (CCyBA, 2021), lo cual fue calculado con la siguiente fórmula para tamaño de muestra finita:

$$n = \frac{N * Z\alpha^2 * p * q}{e^2 * (N - 1) + Z\alpha^2 * p * q}$$

En donde:

n = Tamaño de muestra

N = 250,000 población de perros en la ciudad de Toluca

Z= 97% Nivel de confianza =

p = 0.05

q = 0.95

d = 3% error esperado

$$n = \frac{250,000 * 1.96^2 * 0.05 * 0.95}{0.03^2 * (250,000 - 1) + 1.96^2 * 0.05 * 0.95} = 248 \text{ muestras}$$

Procesamiento de muestras.

Cada una de las muestras de sangre (3 mL), fue pesada mediante una balanza analítica en un tubo de vidrio. Después se les agrego 5 mL de ácido nítrico concentrado, se dejaron en reposo durante 1 hora y se colocaron en un digestor, hasta la emisión de gas; posteriormente se les agrego 1 mL de ácido perclórico y

se continuo con la digestión hasta el punto en que cada muestra se aclaró (color amarillo claro), y deajo de desprender gas.

Una vez terminada la digestión de cada una de las muestras, se filtraron con papel Whatman No. 41 y aforaron a 25 mL con agua desionizada, se identificaron y guardaron en frascos de plástico hasta que se realizó su lectura.

La lectura de las muestras se realizó en un espectrofotómetro de absorción atómica con la lámpara específica para el elemento (Zn) de estudio, bajo las condiciones del fabricante. Las cantidades se expresaron en ppm*, de acuerdo con la siguiente formula:

$$\text{ppm} = (\text{lectura} - \text{blanco}) (\text{aforo}) / \text{peso de la muestra}$$

*ppm = partes por millón (o mg/kg) (Perkin Elmer Co., 1985).

Para el reporte de resultados, se empleó el método descriptivo (Cuadros) (Steel y Torrie, 1998; Wayne, 2000), y se compararon con los valores de referencia o reportados en la literatura.

LÍMITE DE ESPACIO

Se realizó la recolección de las muestras de sangre de perros que fueron remitidos a clínicas de servicio médico veterinario, así como de forma personal en visitas casa por casa y por último con el apoyo del centro antirrábico de Toluca, en la ciudad de Toluca, Estado de México.

El procesamiento de las muestras se realizó en el Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México, en el área de Toxicología.

La lectura de las muestras se determinó en el área de Toxicología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria. Ciudad de México.

El municipio de Toluca está ubicado en la región centro Oeste del Estado de México, a los 19° 42' 16" latitud Norte, y 99° 39' 38" longitud Oeste del Meridiano de Greenwich. El clima predominante es templado frío con lluvias en verano, presentando al año más de 37 días con granizada, sobre todo en los meses de julio y agosto.

El municipio de Toluca se encuentra a una altura de sobre el nivel del mar de 2400 metros. En la capital del estado se origina una cadena montañosa que se continúa hacia el Noroeste con altitudes de 2600 a 2800 metros sobre el nivel mar. La temperatura media anual es de 13.6 °C con una máxima de 25 °C y 3 °C como mínima, se presentan más de 140 días con heladas al año y la presentación pluvial anual varía de 800 a 1500 mm³ durante el período de lluvias comprendido de mayo a septiembre, con lluvias aisladas en abril, noviembre y diciembre.

LÍMITE DE TIEMPO

El presente trabajo se realizó del mes de junio del 2022 a diciembre del 2022, el cual inició con la búsqueda, recopilación y análisis de información para la redacción del protocolo de investigación; prosiguiendo con la recolección de muestras sanguíneas para su posterior procesamiento en el laboratorio, como a continuación se detalla.

Cronograma de actividades

	Junio 2022	Julio 2022	Agosto 2022	Septiembre 2022	Octub. 2022	Noviemb. 2022	Diciembre 2022
Recopilación de información y datos.	✓ <input type="checkbox"/>	✓ <input type="checkbox"/>	✓ <input type="checkbox"/>	✓ <input type="checkbox"/>	✓ <input type="checkbox"/>		
Recolección de muestras y procesamiento.			✓ <input type="checkbox"/>	✓ <input type="checkbox"/>	✓ <input type="checkbox"/>		
Lectura e interpretación de resultados					✓ <input type="checkbox"/>	✓ <input type="checkbox"/>	
Redacción e integración del documento final					✓ <input type="checkbox"/>	✓ <input type="checkbox"/>	✓ <input type="checkbox"/>

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente trabajo con el objetivo de determinar la concentración sanguínea de zinc (Zn) en perros del municipio de Toluca, Estado de México, se colectaron un total de 300 muestras, en donde el valor mínimo obtenido fue de 16.89 ppm, y el valor más alto de 33.56 ppm; en relación a los valores que investigadores como García (2004) y Wu (2018) quienes han reportado la concentración de zinc sanguíneo en perros varía de 6.12 a 24.57 ppm y de 20 a 30 ppm, con un promedio de 12.6 y 25 ppm, respectivamente; de acuerdo a estos valores, los obtenidos en el presente estudio se encuentran dentro de los valores normales. En donde también el promedio general obtenido de 25.31 ± 4.73 ppm, puede servir como un referente de la concentración de este mineral en perros de la zona estudiada.

Del trabajo de García (2004), el objetivo o interés de las determinaciones, es que fuera un referente de la concentración de Zn y no establecen si existe o no una deficiencia, o bien un nivel elevado del mineral en cuestión en perros del Distrito Federal, México; e incluso se encuentran por debajo del promedio obtenido en el presente estudio que fue de 25.31 ppm.

Como se ha mencionado, no existe comentario alguno en el trabajo realizado por García (2004), sin embargo, considerando que una deficiencia en los animales domésticos, puede manifestarse de distintas formas, destaca un retardo en el crecimiento, proceso que se asocia a la reducción de la división y proliferación de células cartilaginosas de la placa epifisiaria, derivada de la pobre síntesis de proteínas, ya que el valor obtenido se encuentran por debajo de la concentración obtenida de 25.31 ± 4.73 ppm en el municipio de Toluca, Estado de México.

De acuerdo a las razas de los perros muestreados, la concentración de zinc sanguíneo muestra que los perros mestizos presentan valores relativamente más altos, comparados con los valores de las demás razas (Figura 1). Aunque cabe señalar que, de los animales muestreados, no se tuvo el antecedente de padecer problemas de salud que pudiera asociarse a la deficiencia de zinc. Sin embargo, por

la experiencia clínica, y una valoración más completa en los perros que lleguen a las clínicas veterinarias son necesarias pruebas de gabinete, entre otras, que permitan detectar alguna anomalía en particular, sobre todo la deficiencia o exceso de elementos minerales; ya que, ante los problemas en el pelaje y piel tanto de perros y gatos es posible detectar una deficiencia de Zn, que son poco comunes (Faceti y Melani, 2012).

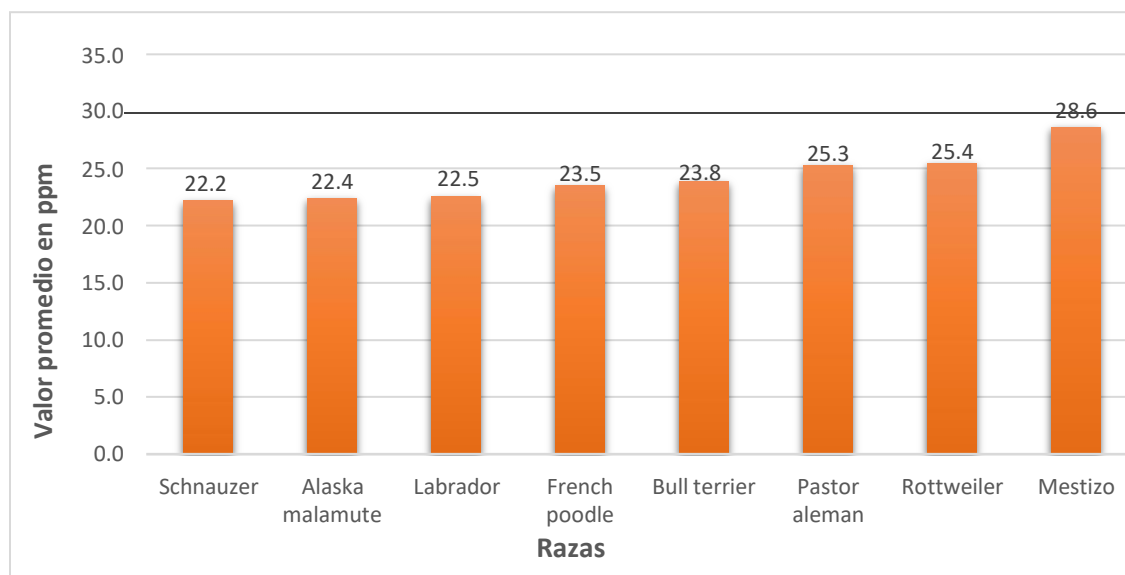


Figura 1. Concentración sanguínea de zinc en perros del municipio de Toluca, México, de acuerdo a la raza.

De acuerdo con el trabajo de Stockman (2005), en la raza de perros Alaska malamute, Husky y cruza de ambos se señala que estas razas requieren una mayor concentración de Zn en la dieta, ya que en la evaluación de un nivel carencial en estos animales se han observado patologías en piel (dermatosis), la cual se manifiesta por una pérdida de pelo y descamación de piel en el área de la cara, cabeza y patas.

Considerando que un bajo nivel de zinc puede afectar de manera más drástica a perros de raza de talla grande y gigante, en comparación a otras razas; la anorexia e hipogonadismo en órganos reproductores del macho, el retraso en la cicatrización, lesiones en piel (descamación, eritema, costras en puntos de presión e hiperqueratinización), inmunodepresión, conjuntivitis, trastornos gastrointestinales y falla reproductiva pueden ser observados (Church, 2012; Faceti y Melani, 2012).

Con respecto a la edad de los perros muestreados se encontró una variabilidad del valor obtenido de las muestras colectadas (Cuadro 1 y Figura 2), sin embargo, los valores más altos se encontraron en los grupos de edad de 3 y 8 años con un valor de 26.78 ± 3.92 y 26.81 ± 4.97 ppm, respectivamente; en contraste con el valor más bajo que correspondió a los animales menores de 6 meses con un valor de 21.09 ± 2.71 ppm.

Cuadro 1. Distribución de la concentración sanguínea de zinc en perros del municipio de Toluca, México, de acuerdo a la edad.

Edad	Número	Porcentaje	Promedio y D.S.
<6 meses	22	7.3	21.09 ± 2.71
7 meses a 1 año	51	17.0	23.29 ± 3.63
2 años	27	9.0	24.59 ± 3.79
3 años	61	20.3	26.78 ± 3.92
4 años	26	8.6	26.57 ± 4.31
5 años	38	12.6	26.22 ± 4.52
6 años	12	4.0	25.28 ± 2.94
7 años	18	6.0	25.84 ± 5.33
8 años	21	7.0	26.81 ± 4.97

>9 años	24	8.0	26.00 ± 4.32
Total	300	100 %	

En el factor edad, los valores más bajos se muestran a edad temprana, en los perros menores a 6 meses, posiblemente a que elementos carenciales con los que puede interrelacionar el zinc se encuentren en bajas concentraciones, para su adecuada detección/concentración, así como la eficiente absorción de todos los nutrientes a nivel intestinal; con base a la absorción de zinc este proceso que puede ocurrir a partir de las células intestinales, y en el que debe considerarse la regulación que realiza la metalotioneína, sobre todo en condiciones requeridas en cada etapa de desarrollo para esta proteína a nivel sanguíneo; además de considerar la interrelación del Zn con el Ca y la concentración de fitatos en la dieta, que pueden limitar su adecuada asimilación orgánica (Case *et al.*, 2011; Church, 2012).

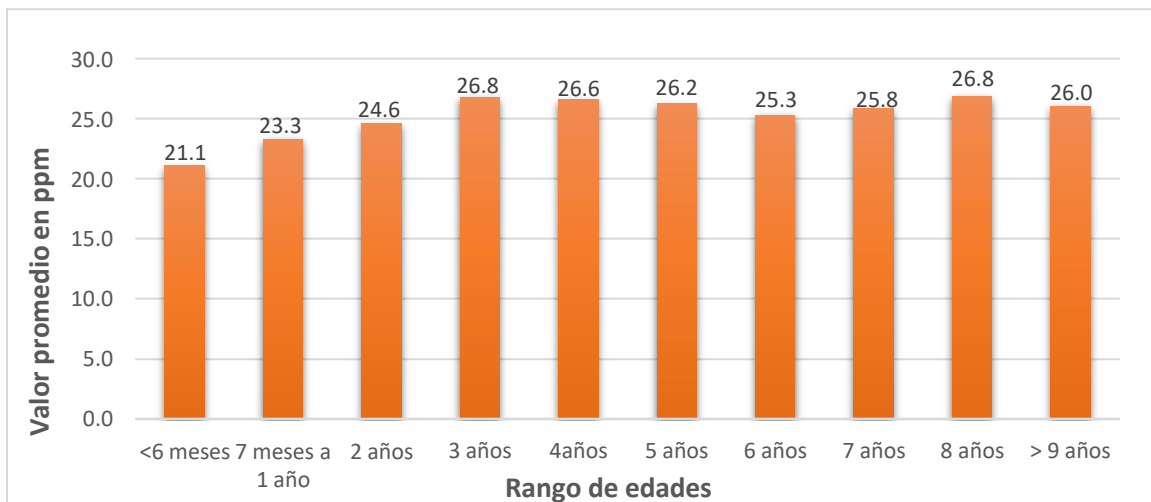


Figura 2. Concentración de zinc sanguíneo en perros del municipio de Toluca, México, de acuerdo a la edad.

En relación con la dieta que consumen los perros muestreados, los valores sanguíneos de zinc que mostraron una mayor concentración correspondieron a los que tienen una dieta casera con 163 muestras a diferencia de los que son mantenidos con dieta a través de alimento comercial con 137 muestras; y en donde los valores más altos encontrados tuvieron una dinámica interesante en el sentido de irse incrementándose progresivamente hasta valores mayores de 32.1 ppm (Cuadro 2 y Figura 3).

Cuadro 2. Distribución de la concentración sanguínea de zinc en perros del municipio de Toluca, México, de acuerdo con la dieta y al sexo.

Rangos de concentración (ppm)							
Variables	<20	20.1-23	23.1-26	26.1-29	29.1-32	>32.1	Total
C. casera	15	27	32	32	46	11	163
C. comercial	36	36	23	24	13	5	137
Hembras	23	41	32	33	32	6	167
Machos	26	24	23	23	27	10	133

Es probable que por los niveles más altos de concentración encontrados en los perros alimentados con dietas casera, se trate de que el aporte de zinc se realice a través de productos y subproductos de origen animal, como: carne, vísceras y huesos, como lo refieren Mac Donald *et al.* (2011), sin descartar aquellos alimentos en los que se pueden encontrar cantidades importantes de este mineral, como la harina de pescado, harina de carne y harina de sangre, que podría pensarse se

encontraran en los alimentos comerciales (tipo Premium), pero que sin embargo, muestra valores más bajos de acuerdo a la dieta que reciben los perros.

En base al valor más alto obtenido que fue de 33.56 ppm habría que tener en cuenta cual es la fuente real para el “abastecimiento” de zinc, y si no existe otro tipo de elementos que condicionen a valores altos, sobre todo considerando el reporte de Wu (2018), quien refiere que tanto el promedio (de 25 ppm), como el valor más alto es de 30 ppm; esto por examinar a la vez que un incremento de cualquier elemento mineral, puede producir un desajuste fisiológico; aunado a que en el estudio realizado por Bobadilla (2022) es factible que con niveles mayores de zinc (≥ 55 ppm), pueda desencadenarse procesos de intoxicación, tras la ingestión de sustancias con elevada cantidad de este elemento, lo que pondría en riesgo la salud de los animales, sobre todo a las pequeñas especies.

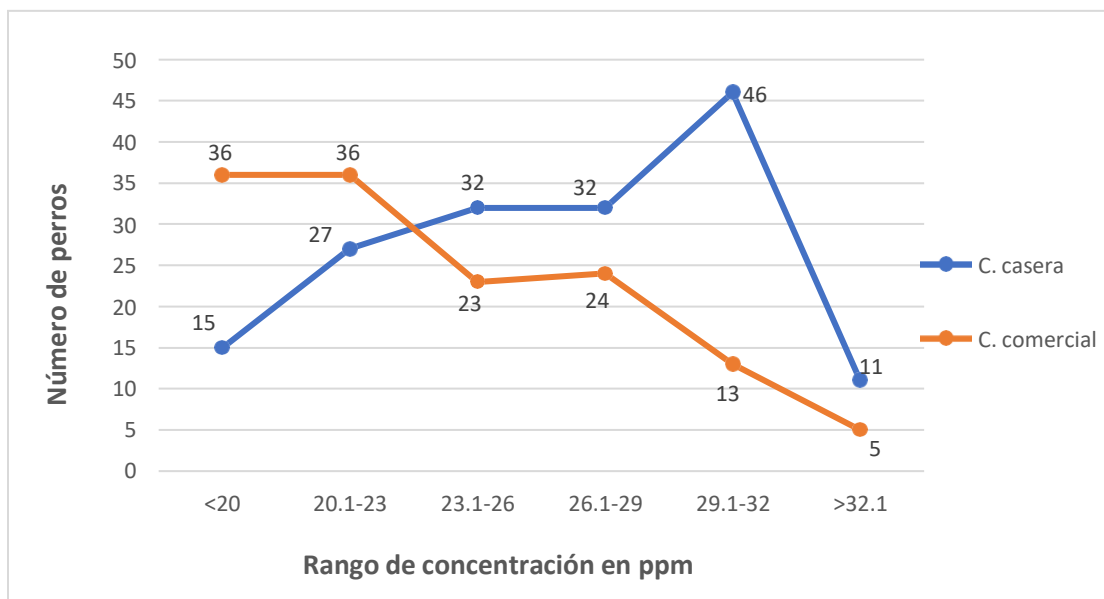


Figura 3. Concentración sanguínea de zinc en perros del municipio de Toluca, México, de acuerdo a la dieta de consumo.

Con respecto a los niveles de concentración sanguínea de zinc en relación al

sexo de los perros muestreados, se observó que en el rango de concentración de 20.1 a 23 ppm un total de 41 muestras en las hembras, que muestran una dinámica de mayor concentración comparativamente a los valores que se detectaron en los machos (Cuadro 2 y Figura 4).

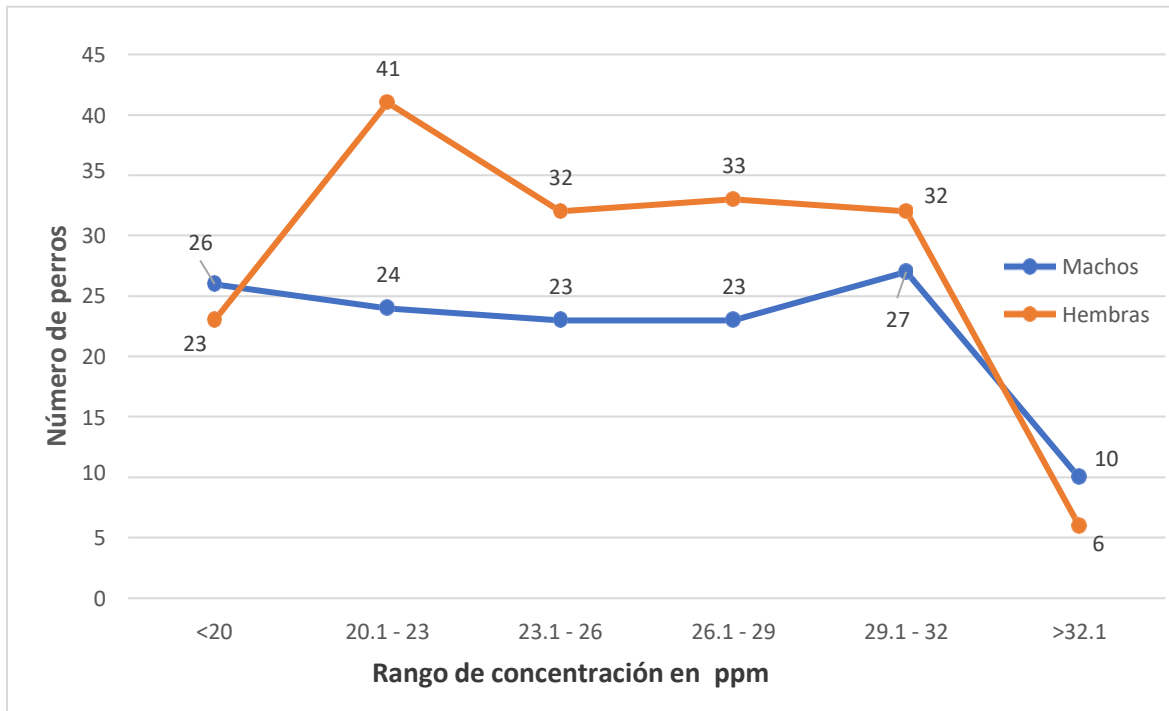


Figura 4. Concentración sanguínea de zinc en perros del municipio de Toluca, México, de acuerdo al sexo.

Considerando que no hubo reporte de datos sobre la presencia de algún tipo de anomalía usual de los perros muestreados; ya que estos frecuentemente acuden al servicio clínico veterinario por cuestiones de medicina preventiva y chequeo en general; tanto para la aplicación de vacunas, desparasitaciones o bien alguna cirugía de tipo reproductivo (cirugías electivas: OVH en las hembras y castración en el caso de los machos), debemos enfocar a garantizar que en pequeñas especies resultara importante el monitoreo del estado de salud a través

de otras pruebas de laboratorio en lo posible para mantener la salud de este tipo de mascotas (Morgan, 2003; Ettinger y Feldeman, 2007).

CONCLUSIONES

El promedio general de la concentración sanguínea de zinc en perros fue de 25.31 ± 4.73 ppm.

El valor de concentración mínimo de Zn fue de 16.89 y el máximo de 33.56 ppm en las muestras sanguíneas de perros del municipio de Toluca, Estado de México.

Los perros que son alimentados con dieta casera mostraron una mayor concentración sanguínea de Zn con un promedio de 26.51 ± 4.23 ppm, comparados con perros alimentados con una dieta comercial.

Los perros mestizos mostraron una mejor concentración sanguínea de zinc (28.6 ± 3.58 ppm), a diferencia de las demás razas.

En las hembras se determinaron niveles más altos de zinc sanguíneo (25.17 ± 4.16 ppm) comparados con machos.

Los cachorros menores de entre seis meses o menos fueron los que mostraron un nivel más bajo de zinc sanguíneo (21.09 ± 2.71 ppm) comparados con las demás edades.

LITERATURA CITADA

- Bischoff, K., Chiapella, A., Weisman, J., Crofton, L. M., Hillebrandt, J. (2017). Zinc Toxicosis in a Boxer Dog Secondary to Ingestion of Holiday Garland. *Journal of medical toxicology: official journal of the American College of Medical Toxicology*, 13(3): 263–266.
- Bobadilla, S.A.F. (2022). Toxicopatología en intoxicación por fosforo de zinc. Tesis de Licenciatura. FMVZ. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México.
- Case, L., Hayek, M., Daristitle, L., Raasch, M. (2011). *Canine and Feline Nutrition: A Resource for Companion Animal Professionals*. 3rd ed. Maryland Heights, Missouri. Mosby.
- CCyBA (Centro de control y bienestar animal) (2021). <https://www2.toluca.gob.mx/tag/centro-de-control-y-bienestar-anim/> (Consultado 27 de octubre del 2022).
- Ettinger, S.J. y Feldeman, E.C. (2007). *Tratado de Medicina Interna Veterinaria. Enfermedades del perro y el gato*. 6ª ed. Elsevier, Madrid, España.
- Fascetti, A., Delaney, S. (2012). *Applied veterinary clinical nutrition*. 1st ed. Iowa, USA: Wiley-Blackwell.
- Foote, K., Gilroy, C., Burton, S., Horney, B., López, A., Savidge, C., Goff, T. (2020). Zinc toxicosis - Associated hemolytic anemia and pancreatic disease in 2 dogs. *The Canadian Veterinary Journal (La revue veterinaire canadienne)*. 61(2): 147–152.
- García. Y.I. (2004). Frecuencia de diferencias de Zinc y Cobre en perros del Distrito Federal México. Tesis de licenciatura. FMVZ. Universidad Autónoma Nacional de México, Distrito Federal, México.
- ISEM. (2007). *Jurisdicción Sanitaria Toluca Proyecciones de Población 2007*. Jubb, K., Kennedy, P., Palmer, N. (2016). *Pathology of domestic animals*. 6ª ed. Elsevier. San Luis, Misuri. USA.

- Lee, Y. R., Kang, M. H., Park, H. M. (2016). Treatment of zinc toxicosis in a dog with chelation using d-penicillamine. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 26(6): 825–830.
- Mac Donald, P., Edwards, R., Greenhalgh, J., Morgan, C., Sinclair, L., Wilkinson, R. (2011). *Animal nutrition*. 7th ed. Harlow, England: Pearson Prentice Hall.
- McDowell., L. (2003). *Minerals in Animal and Human Nutrition*. 2nd ed. Elsevier. Amsterdam, The Netherlands.
- Morgan, R.V. (2003). *Clínica de pequeñas especies*. 4ª ed. Elsevier, España. pp. 515-518.
- Naveh, Y., Bentur, L., Diamond, E. (1988). Site of Zinc Absorption in Dog Small Intestine. *The Journal of Nutrition*, 118(1): 61–64.
- Nelson, R., Couto, G. (2020). *Small animal internal medicine*. 6ª ed. Elsevier. San Luis, Misuri. USA.
- Patel, A., Forsythe, P., Smith, S. (2010). *Dermatología de pequeños animales*. Elsevier. España.
- Perkin Elmer. Co. (1982). *Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry*. Perkin Elmer Co. Connecticut, USA.
- Pond, W., Church, D., Pond, K. (2012). *Fundamentos de nutrición y alimentación de animales*. 2ª ed. Limusa. México.
- Reece, W., Erickson, H., Goff, J., Uemura, E. (2015). *Dukes' Physiology of Domestic Animals*. 13ª ed. Wiley Blackwell. Ames, Iowa. USA.
- Schalm, O., Wardrop, K.,y Weiss, D. (2010). *Schalm's veterinary hematology*. 6ta ed. Wiley-Blackwell. Ames, Iowa, USA.
- Shimada, A. (2018). *Nutrición animal*. 4ª ed. Trillas. Ciudad de México, México.
- Stevens, A., Lowe, J., Scott, I. (2012). *Veterinary hematology*. 1a ed. Saunders. Florida. USA.
- Steel, R. G. B., Torrie, J. H. (1998). *Bioestadística principios y procedimientos*. 2ª ed. Mc Graw Hill. Colombia.

- Stockman, T. (2005). Alaska malamute. Hispano Europea, España. pp. 40-45.
- Thrall, M. (2012). Veterinary hematology and clinical chemistry. 2nd ed. Wiley-Blackwell. Ames, Iowa. USA.
- Tizard, I. (2019). Inmunología veterinaria. 10a ed. Elsevier, España.
- Trigo, F., Valero, G. (2015). Patología sistémica veterinaria. 6ª ed. McGraw-Hill. México, D.F.
- Trigo, F., Valero, G. (2017). Patología general veterinaria. 6a ed. México, D.F. UNAM.
- Valladares, C.B., Zamora, E.J.L., Velázquez, O.V., Díaz, Z.S., Ortega, S.C., Peña, B.S.D. (2013). Selenium Supplementation and the Immune Response of Sheep. In: Salem AFZM. (ed). Nutritional Strategies of Animal Feed Additives. Nova Science Publishers, Inc. New York. pp: 121-130.
- Valladares, C.B., Delgadillo, R.L., Zaragoza, B.A., Rivero, P.N., Ortega, S.C., Velázquez, O.V. (2021). Diagnóstico de warfarina en muestras remitidas al CIESA durante el período 2015-2018. Una problemática recurrente. *Journal of the Selva Andina Animal Science*, 8(1): 12-21.
- Valladares, C.B., Velázquez, O.V., Ortega, S.C., Bedolla, C.C., Zaragoza, B.A., Rivero, P.N. (2022). Selenium. An essential micronutrient in sheep production. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 5(2): 1496-1516.
- Wayne, W.D. (2000). Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. U. T. E. H. A., Noriega Editores. México.
- Wortinger, A., Burns, K. (2015). Nutrition and disease management for veterinary technicians and nurses. 2nd ed. John Wiley & Sons. Ames, Iowa. USA.
- Wu, G. (2018). Principles of animal nutrition. 1st ed. CRC Press. Boca Raton. USA.
- Zachary, J. (2017). Pathologic basis of veterinary disease. 6ª ed. Elsevier, San. Louis Misuri. USA.