



**Centro de Investigación en Alimentación
y Desarrollo, A.C.**

**PREVALENCIA DE MASTITIS Y SU RELACIÓN CON LOS
NIVELES SÉRICOS DE VITAMINAS E Y A EN GANADO
DOBLE PROPÓSITO DE PEQUEÑOS PRODUCTORES
DE COBACHI, SONORA**

POR:

ROGELIO VALLE VELAZQUEZ

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE NUTRICIÓN

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

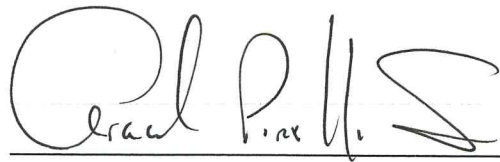
MAESTRÍA EN CIENCIAS

HERMOSILLO SONORA

ENERO 2015

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Rogelio Valle Velazquez, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de maestría en ciencias.



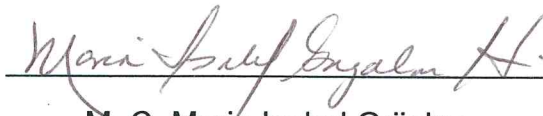
Dr. Araceli Pinelli Saavedra

Director de Tesis



Dra. Eyelia Acedo Félix

Asesora



M. C. María Isabel Grijalva

Asesor



Dr. Humberto González Ríos

Asesor

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.



Dr. Pablo Wong Gonzalez
Director General

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primordialmente a CONACYT ya que su apoyo es muy importante para la formación profesional sobretodo en el financiamiento de este posgrado.

Igualmente muy agradecido con el Centro de Investigacion de Alimentos y Desarrollo (CIAD) por la oportunidad brindada, la facilidad de servicio y atención con que tratan a los estudiantes siempre a la disposición.

Al "Laboratorio de Innovación para la Producción Inocua y Sustentable de Alimentos en Comunidades Rurales" CONACyT 18 8865.

A los productores de los ranchos, que permitieron que el estudio se llevara a cabo, por su disposición con el ganado para tomarles muestras.

A la **Dra. Aracelli Pinelli** por su ayuda y comprensión y haber hecho que se llevara a cabo esta investigación.

Al **M.C. Orlando Tortoleado Ortiz** por su ayuda en técnicas cromatograficas y disposición de su laboratorio.

A la **Q.B.C. Rosalva Perez** por el tiempo brindado para ir al muestreo de campo en la comunidad de Cobachi y el dominio de las técnicas de detección de mastitis.

Al **Dr. Humberto González** por su ayuda en la investigación realizada y consejos en la parte estadística.

A la **Dra. Maria Isabel Grijalva** por haber contribuido en la investigación de tesis y dominio de vitaminas y ayudar con a que fluyera su comunicación en préstamos de laboratorios equipos reactivos.

A la **Dra. Evelia Acedo** que al principio de la investigación fue de gran ayuda sus recomendaciones, aunque en este momento que pasa en su vida se le desea lo mejor y que se recupere.

A los del laboratorio de proximal **Amparo Nieblas y Luis Enrique** por su ayuda en con el trabajo experimental.

Al **M.I.I Alfonso Coronado Sesma** por el apoyo técnico en la edición de mi documento de Tesis.

DEDICATORIA

A mi madre por apoyarme en todo momento y estar siempre a mi disposición.

A mi padre por el apoyo que siempre me dá y estar al pendiente de mí.

A mi hermana que es muy buena persona siempre al tanto de mí y en general a toda mi familia.

A los compas de buitres que hice en Hermosillo: Dario, Jorge y Pablo que sus consejos no sirven de nada pero sirven para olvidar los problemas.

A todos el equipo de futbol de CIAD que jugamos en canchita de futbol rápido, muy buen “jabee” para distraernos, compartimos investigación y practicar futbol (Orlando, Eli, Juan, Mario, Daniel, Aldo, Rocha, Jorge, Jona).

CONTENIDO

	Página
Lista de Figuras.....	viii
Lista de Tablas.....	ix
Resumen.....	x
Abstract.....	xi
Capítulo 1. INTRODUCCIÓN.....	1
Capítulo 2. ANTECEDENTES.....	3
2.1. Mastitis en Ganado Bovino.....	3
2.1.1. Mastitis Clínica.....	4
2.1.2. Mastitis Subclínica.....	4
2.1.3. Morfología de la Glándula Mamaria.....	5
2.2. Respuesta Inmune del Ganado con Mastitis.....	6
2.3. Células Somáticas en la Leche.....	9
2.4. Métodos para Determinar Mastitis por Conteo de Células Somáticas.....	9
2.4.1. Prueba California.....	10
2.4.2. Conducción Eléctrica.....	10
2.4.3. Citometría de Flujo.....	10
2.5. Factores que Contribuyen con la Mastitis.....	11
2.5.1 Higiénicos.....	11
2.5.1.1. Infección Contagiosa.....	12
2.5.1.2. Infección Ambiental.....	13
2.5.2. Sistema de Producción del Ganado en Sonora.....	13
2.5.3. Nutricionales.....	14
2.5.3.1. Función de los Micronutrientes en Ganado con Mastitis....	15
2.5.3.2. Función de Vitamina E y sus Requerimientos en Ganado.....	15
2.5.3.3. Función de Vitamina A y sus Requerimientos en Ganado.....	16
2.5.3.4. Vitaminas y su Relación con la Mastitis.....	18
2.5.4. Época del Año.....	20
Capítulo 3. HIPÓTESIS.....	22

Capítulo 4. OBJETIVOS.....	23
Capítulo 5. MÉTODOS.....	24
5.1 Área de Estudio.....	24
5.2. Recolección de Muestras.....	24
5.3. Análisis de las Muestras.....	25
5.3.1. Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante la Prueba de California (CMT).....	25
5.3.2. Cuantificación de Vitamina E y A en Muestras de Sangre....	26
CONTENIDO (Continuación...)	
5.3.3. Análisis Proximal del Alimento.....	27
5.3.4. Cuantificación de β -caroteno y Vitamina E en el Alimento....	28
5.4. Suplementación de Vitaminas.....	29
5.5. Análisis Estadístico.....	30
Capítulo 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
6.1. Prevalencia de Mastitis.....	31
6.2. Concentración Sérica de Vitamina E.....	35
6.3. Concentración Sérica de Vitamina A.....	40
6.4. Alimento.....	43
6.4.1 Análisis Proximal del Alimento.....	44
6.4.2. Concentración de Vitamina E en el Alimento.....	47
6.4.3 Concentración de β -caroteno en el Alimento.....	52
Capítulo 7. CONCLUSIÓN.....	54
Bibliografía.....	55

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estructura anatómica de la glándula mamaria	6
2	Infección de la glándula mamaria, con respecto a la primera línea de defensa	7
3	Sistema inmune adaptativo del ganado bovino	8
4	Valores de THI registrados durante la temporada de verano (mayo-julio del 2013). Promedios basados durante todo el día. Estrés severo >88, estrés moderado 78-87, estrés leve 73-77 y normal <72	34
5	Valores de THI registrados durante la temporada de invierno (diciembre del 2013, enero-febrero del 2014). Promedios basados durante todo el día. Estrés severo >88, estrés moderado 78-87, estrés leve 73-77 y normal <72.	35
6	Concentración sérica de vitamina E de ganado bovino doble propósito durante verano e invierno	36
7	Relación de deficiencia de vitaminas E con la presencia de mastitis en el ganado bovino. Son deficientes valores <6.96 µM/L y normales valores entre 6.96 a 20.94 µM/L	38
8	Concentración sérica de vitamina A en ganado bovino durante las épocas de verano e invierno.	40
9	Relación de deficiencia de vitamina A y presencia de mastitis. Deficiencia valores <0.872 µM/L y normales de 0.877-2.792 µM/L	42

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Funciones antioxidantes de micronutrientes en el ganado.	15
2	Interpretación de la prueba California para la detección de mastitis subclínica	26
3	Prevalencia de mastitis subclínica en ganado bovino de la comunidad de Cobachi Sonora, durante el verano de 2013	32
4	Prevalencia de mastitis subclínica en ganado bovino de la comunidad de Cobachi Sonora, durante el invierno de 2013-2014	33
5	Concentración sérica de vitamina E ($\mu\text{M/L}$) en vacas sanas y con mastitis y durante las épocas de verano e invierno.	37
6	Concentración sérica de vitamina A ($\mu\text{M/L}$) en vacas sanas y con mastitis durante verano e invierno	41
7	Composición proximal de alimento para ganado y cuantificación de vitamina E y β -caroteno en base seca durante la época de verano	46
8	Composición proximal de alimento para ganado y cuantificación de vitamina E y β -caroteno en base seca durante invierno	49
9	Valores séricos promedio de vitamina E y A ($\mu\text{M/L}$) de los animales en cada rancho y por época del año	51

RESUMEN

La mastitis es una enfermedad prevalente en el ganado lechero, que genera grandes pérdidas económicas para productores. Se caracteriza por la inflamación de la glándula mamaria por microorganismos, provocando cambios químicos negativos en la composición de la leche. Estudios reportan que la prevalencia de mastitis está relacionada con el estatus de las vitaminas E y A en el ganado lechero ya sea por deficiencia de estos micronutrientes en los pastos donde es criado el ganado lechero y/o porque el alimento no cubre con los requerimientos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la prevalencia de mastitis y su relación con los niveles séricos de vitamina E y A en ganado doble propósito (lechero-carne) y evaluar la práctica de suplementación de estas vitaminas que es realizada por los productores en época de invierno en Cobachi, Sonora. Se muestrearon 5 ranchos durante los meses de mayo a julio y posterior a la suplementación en enero y febrero. Se evaluó mastitis en leche usando la prueba de california. En muestras de suero y forraje, se cuantificó el contenido de vitaminas E, A y β -caroteno, mediante técnicas de HPLC. En el verano, se encontró una prevalencia de mastitis del 40%. Para el período de invierno y después de la suplementación se redujo al 20%. Los valores séricos de vitamina E no fueron diferentes entre el verano e invierno ($P>0.05$). No se encontró una asociación ($P>0.05$) entre la presencia de

enfermedad de mastitis con la deficiencia de vitamina E, pero se observó que arriba del 50% del ganado lechero era deficiente en esta vitamina. Para la vitamina A, tampoco hubo diferencias en los valores séricos ($P>0.05$) al comparar ambas épocas del año. No se encontró asociación entre la presencia de mastitis con la deficiencia de vitamina A, sin embargo el 80% del ganado lechero presentó deficiencia en esta vitamina. Existe una prevalencia mastitis mas alta en verano que en invierno, además se encontraron deficiencias de vitaminas E y A en ambas épocas y que la práctica de suplementación no alcanza a cubrir los requerimientos en el ganado de los ranchos evaluados.

Palabras clave: mastitis, ganado lechero, vitamina E, vitamina A, β -caroteno, HPLC.

ABSTRACT

Mastitis is a prevalent disease in dairy cattle that generates large economic losses for producers. It is characterized by inflammation of the mammary gland in response to the damage by microorganisms, which causes negative chemical changes in the milk composition. Studies show that the prevalence of mastitis is related to the state of vitamins E and A in dairy cattle either by the lack of these micronutrients in the pastures where the breeding of cattle and/or because the food does not meet with the requirements. The aim of this study was to assess the prevalence of mastitis and their relationship with serum levels of vitamin E and A dual-purpose cattle (dairy-beef) and evaluate the practice of supplementation of these vitamins by the producers, in the winter time in Cobachi, Sonora. Five ranches were sampled in the months of May to July and post-supplementation. Mastitis prevalence was evaluated in milk using California mastitis test and vitamins E, A and β -carotene were quantified in serum and forages by HPLC method. We found a prevalence of 40 % during summer. For winter after supplementation is reduce at 20% of mastitis. In summer the values of vitamin E in serum there were no differences ($P>0.05$) compared with winter. No was found association ($P>0.05$) enter presence of mastitis with deficienciee of vitamin E, but

above of 50% dairy cattle were deficient for this vitamin. Similar responses was found to vitamin A, there were no differences ($P>0.05$). No was found association ($P>0.05$) enter presence of mastitis with deficienciee of vitamin A, but the 80% of dairy cattle present deficient. There is a high prevalence for mastitis in summer compared with winter, it was found deficiency of those vitamins in both summer and winter. The practice of supplementation no cobbert the requirements need.

Keywords: mastitis, dairy cattle, viamin E, vitamin A, β -carotene, HPLC.

1. INTRODUCCIÓN

La mastitis es una enfermedad de alta prevalencia, varía desde un 32% a un 43% para el ganado lechero (Guizar y cols., 2008; Tongel y Broucek., 2010), que genera grandes pérdidas económicas tanto a pequeños y grandes productores, debido a que se reduce la producción de leche así como también la calidad de la misma, además de los gastos que se generan para sobrellevar dicha enfermedad (Ballou, 2011). La mastitis, se caracteriza por la inflamación de la glándula mamaria en respuesta al daño por infección de microorganismos entre los más comunes reportados son: *Staphilococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus uberis* (Resende, 2010; Sharma y cols., 2011). Esta enfermedad se puede clasificar de acuerdo a reacciones locales y sistémicas en clínica y subclínica siendo esta última de suma importancia ya que puede pasar desapercibida por el productor y además se requiere de pruebas químicas para detectarla (Sharma y cols., 2011).

Existen factores nutricionales, fisiológicos, de higiene y de producción que pueden influir en la enfermedad de la mastitis. Uno de ellos es la nutrición y existen investigaciones que relacionan la deficiencia de vitamina E, vitamina A y selenio con la presencia de mastitis (Puls, 1994; NRC, 2001). Etapas fisiológicas de desarrollo de las vacas como lo es el periodo periparto también ha sido asociado con la presencia de la enfermedad (LeBlanc y cols., 2004; Spears y Weiss, 2008; Politis y cols., 2012) destacando que estos estudios se han realizado en razas de ganado especializado para la producción de leche. La higiene es otro factor importante, ya que si no se tienen buenas prácticas en la ordeña, los microorganismos causantes de la infección de mastitis pueden se

trasmitidos a través de los utensilios de ordeña o también a través de las condiciones que rodean el establo (Resende, 2010).

Por otro lado, la comunidad donde se realizó este estudio mantiene a sus animales bajo el sistema productivo extensivo. En este tipo de sistema de producción, el ganado se alimenta de pasto y la calidad del mismo depende de las condiciones de temperatura, lluvias y suelo en la cual se encuentren (SIAP, 2010). Factor que contribuye para que pueda ocurrir una deficiencia de micronutrientes mencionados anteriormente y que se relacionan con la mastitis: Asimismo en esta región durante las épocas de verano e invierno se registran temperaturas máximas de hasta 45° y 0° respectivamente, periodos en los cuales el alimento principal del ganado es la pastura y éste pierde sus nutrientes esenciales como lo son los β -carotenos y tocoferoles. Aunado a ello, el ganado puede estar sometido a estrés por calor en el verano y es un factor importante que también está relacionado con la prevalencia de mastitis (Thompson y Dahl, 2012; Hammami y cols., 2013) o estrés por frío.

Para contrarrestar estas probables deficiencias, los productores de la región regularmente durante la temporada de invierno suplementan con vitaminas al ganado en una sola administración vía intravenosa. Sin embargo, se desconoce si esto sea suficiente para cubrir sus requerimientos. Por lo que en este trabajo se plantea la hipótesis de que existe una alta prevalencia de mastitis en ganado bovino criollo y que se relaciona con los valores séricos de vitaminas E, A y por época de año. Es por ello, que el objetivo de este trabajo es evaluar la prevalencia de mastitis y su relación con los niveles séricos de vitamina E y A en ganado doble propósito (lechero-carne), además de evaluar si la práctica realizada por los productores de Cobachi, Sonora, como es la de suplementar con vitaminas durante la época de invierno, logran disminuir estas deficiencias.

2. ANTECEDENTES

.1. Mastitis en Ganado Bovino

La mastitis es una enfermedad de alta prevalencia en la industria ganadera y provoca grandes pérdidas económicas. Esto es debido a que se reduce la producción de leche al mismo tiempo que se desecha, aumenta la tasa de sacrificio, costos para tratamiento de fármacos e incrementa la labor de los productores (Ballou, 2011).

Estudios realizados en Eslovenia, Kenia y Venezuela reportan altas prevalencias para mastitis de 32%, 34% y 36% respectivamente en ganado lechero (Castillo y cols., 2009; Tongel y Broucek., 2010; Ombiro y cols., 2013). En México, específicamente en el estado de Michoacán, Guízar y cols., (2008), evaluaron el conteo de células somáticas de los cuartos de las ubres de 372 vacas de producción lechera, encontrando una prevalencia de mastitis del 43%. En Sonora hay estudios limitados con respecto a la mastitis salvo uno realizado en la ciudad de Santa Ana y llevado a cabo por Gerlach y cols., (2009), donde encontraron la presencia de mastitis en un 18% del ganado.

La mastitis se caracteriza por la inflamación de la glándula mamaria en respuesta al daño por agentes infecciosos que han entrado a la ubre. La causa más común de mastitis es provocada por bacterias que invaden la ubre y se multiplican en los tejidos secretores de leche, aunque también puede ser por hongos en menor frecuencia (Schroeder, 1997). La mastitis se puede clasificar de acuerdo a reacciones locales y sistémicas las cuales se presentan en forma clínica y subclínica; esta última es de suma importancia ya que puede pasar

desapercibida por el productor ya que se requiere de pruebas químicas para detectarla (Sharma y cols., 2011).

2.1.1 Mastitis Clínica

Es un proceso inflamatorio de la glándula mamaria, que presenta cambios en su anatomía y función. Se observan a simple vista signos clínicos tales como secreción anormal caliente, un cuarto o toda la ubre hinchada, fiebre, pérdida del apetito, deshidratación y la leche con coágulos, grumos, color amarillo. En esta situación la vaca tiene que ser tratada incluso con antibióticos o de lo contrario puede conducir a la muerte del animal (Schroeder, 1997; Arauz, 2011).

2.1.2. Mastitis Subclínica

La mastitis subclínica es un proceso inflamatorio de la glándula mamaria la cual no es apreciable a simple vista por el ordeñador al momento de extraer la leche, además que las propiedades organolépticas de la leche son difícil de percibir, por lo cual en este estado puede evolucionar a condición clínica si no es tratada adecuadamente o si los mecanismos de defensa de animal son deficientes (Arauz, 2011).

Para su detección es necesario realizar pruebas directas, como lo es el conteo de células somáticas en la leche de forma cualitativa o cuantitativa y un cultivo bacteriológico para identificar los microorganismos responsables de tal infección

(Schroeder, 1997). Debido a esto se reduce la producción de leche y los componentes nutricionales de este producto son modificados, proporcionando al consumidor un producto de baja calidad nutricional y que pueden causar problemas para la salud (Arauz, 2011; Sharma y cols., 2011).

Durante el periodo de la mastitis subclínica el disacárido lactosa se ve disminuida al aumentar las células somáticas así como también la cantidad de grasa y la caseína (proteína principal componente de la leche). Esto es porque se reduce la actividad de síntesis por parte de del tejido mamario. Asimismo las proteínas de suero de leche se incrementan debido a que hay paso del torrente sanguíneo a la leche por la infección. Las enzimas presentes en las células somáticas conlleva a cambiar las propiedades organolépticas de la leche y el sabor característico a “rancio” en los quesos (Sharma y cols., 2011).

2.1.3. Morfología de la Glándula Mamaria

La ubre está compuesta por cuatro cuarteros y cada uno está constituido por cisterna del pezón, glándula cisterna, conductos de la leche y tejidos glandulares. Los tejidos glandulares contienen millones de sacos llamados alveolos que se encuentran alineados con las células epiteliales encargadas de la producción de leche. Estos tejidos están vinculados al músculo alrededor de los alveolos que se contraen para liberar la leche en el proceso de ordeña, los nutrientes son transportados a los alveolos a través de los vasos sanguíneos, en ese orden las células epiteliales convierten los nutrientes en leche como se muestra en la Figura 1 (Schroeder, 1997; Van Ryn, 2009).

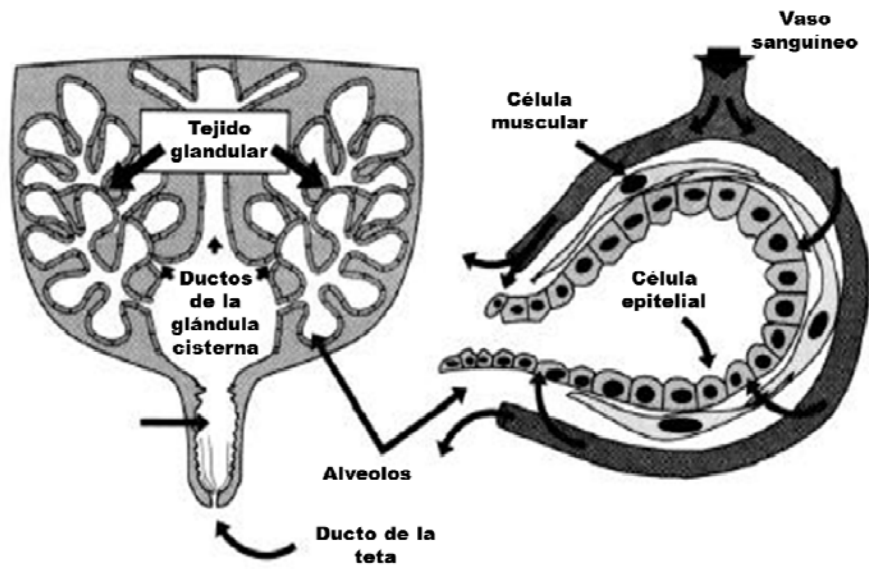


Figura 1. Estructura de la glándula mamaria. Tomada de Schoroeder (1997).

2.2. Respuesta Inmune del Ganado en Mastitis

El sistema inmune innato de las vacas es importante en la prevención de mastitis, aunque también puede contribuir a la patología de esta enfermedad si se encuentra el organismo comprometido. La inmunidad innata o no específica es la primera línea de defensa contra patógenos e incluye barreras físicas como la piel y los extremos cerrados del pezón, células efectoras inmunes tales como fagocitos y células epiteliales mamarias (Figura 2) (Ballou, 2011; Chase, 2012).

Cuando la primera línea de defensa es alcanzada por algún microorganismo (bacteria, virus y hongos) suceden una serie de eventos en los cuales las primeras señales clínicas clásicas son inflamación, hinchazón, enrojecimiento, dolor. Posteriormente se desencadena una respuesta humoral celular iniciada por la llegada de macrófagos, estos van a reconocer patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) a través de sus receptores tipo toll (TLR), para empezar las señales de transducción, y fagocitar al patógeno. También van a secretar citocinas proinflamatorias tales como interleucina 1 beta (IL- β), interleucina 6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α). La secreción de

estas citocinas proinflamatorias son muy importantes ya que reclutará al sitio local de la infección más leucocitos tales como neutrófilos, macrófagos y células dendríticas, para contribuir con la eliminación del patógeno (Figura 3) (Ballou, 2012; Chase, 2012).

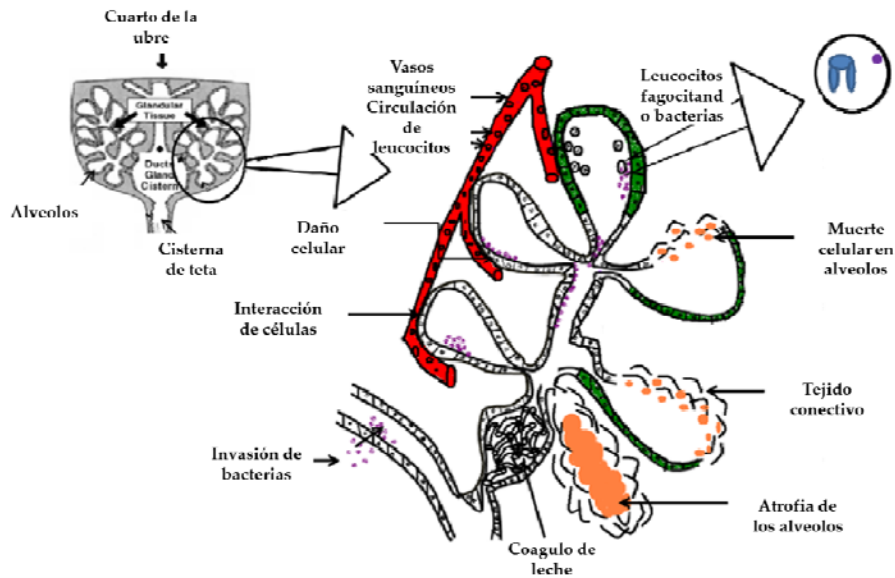


Figura 2. Infección de la glándula mamaria, con respecto a la primera línea de defensa. Tomada de Resende (2010).

La presentación de antígeno por parte de macrófagos y células dendríticas es importante para el sistema inmune de la vaca. Debido a que se une la respuesta inmune innata con la respuesta inmune adaptativa, y ésta es más específica contra ciertos patógenos y crean memoria inmunológica en caso de otra reinfección (Smith y cols., 1997).

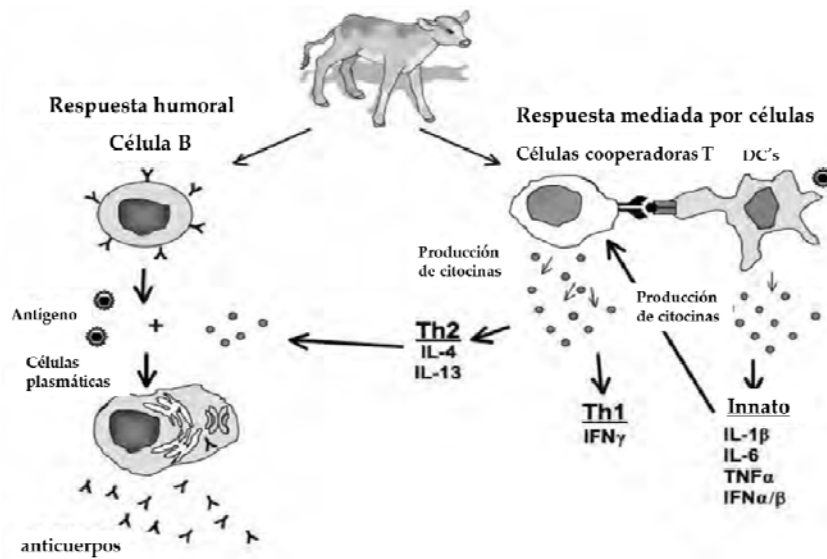


Figura 3. Sistema inmune adaptativo del ganado. Tomada de Chase (2012).

En la respuesta inmune adaptativa participan las células dendríticas y los macrófagos como presentadores del antígeno para linfocitos T. Una vez que se ha detectado la presencia de un patógeno en el tejido, las células presentadoras de antígeno que se encuentran inactivas, lo reconocen y dan la señal de peligro, procesa el antígeno y viajan al nódulo linfático más cercano, para presentárselo como péptidos a través de su complejo mayor de histocompatibilidad al linfocito T virgen. Se lleva a cabo una colisión entre cada linfocito con el cual se encuentre y al que sea afín, y se activará una serie de eventos para la proliferación de más linfocitos T específicos para ese tipo de antígeno.

Una vez que el linfocito T ha sido activado se lleva a cabo una colisión con los linfocitos B. Esto es para reconocer el mismo antígeno que producirá linfocitos B de memoria para contactos futuros contra el mismo antígeno, células plasmáticas que producirán anticuerpos que estarán presentes en la sangre y área de mucosas. Este proceso servirá para que los linfocitos viajen al sitio de infección para eliminar o aminorar los efectos producidos por los patógenos más rápidamente (Figura 3) (Chase, 2012). Durante todo este proceso se presentará un incremento de células somáticas en la leche.

2.3. Células Somáticas en la Leche

Las células somáticas son secretadas en la leche principalmente compuesta por células epiteliales y leucocitos, debido a la infección o daño que se está llevando a cabo en la glándula mamaria. Las células somáticas están compuestas mayormente (75%) de leucocitos (neutrófilos, macrófagos, linfocitos y eritrocitos) y en menor cantidad (25%) de células epiteliales. Durante la infección por mastitis las células somáticas son continuamente regeneradas, de ahí que se encuentren en grandes cantidades en la leche durante la infección (Hernández y Bedolla, 2008; Sharma y cols., 2011).

Principalmente los neutrófilos acuden al sitio para eliminar a los patógenos y se estima que pueden aumentar hasta un 90% en la secreción de leche. La medición de las células somáticas es conocida como el conteo de células somáticas e indica la presencia de una infección. Se considera que la glándula mamaria está sana cuando el conteo está por debajo de 1×10^5 células/mL, y cuando hay una infección por arriba de 1×10^6 células/mL lo cual indica presencia de mastitis (Hernández y Bedolla, 2008; Sharma y cols., 2011).

2.4. Métodos para Determinar Mastitis por Conteo de Células Somáticas

Existen pruebas para detectar células somáticas en la leche y para detectar la enfermedad de mastitis subclínica: prueba de california, prueba de conducción eléctrica de la leche y el conteo de células somáticas por citometría de flujo. Cabe señalar que estas pruebas no se practican en todas las producciones ganaderas, ya sea por desconocimiento o por complejidad de los métodos, tal como es el caso con pequeños productores de ganado lechero (Bedolla, 2008).

2.4.1. Prueba California

La prueba californiana consiste en agregar un detergente a la leche (alquilauril sulfonato de sodio), liberando el ADN y a mayor concentración de células provoca una aglutinación la cual se aprecia con el reactivo de púrpura de bromocresol. Las ventajas de esta prueba es que no es cara y es fácil de realizar, aunque tiene la desventaja que es una prueba semicuantitativa solamente indica una alta o baja presencia de células somáticas, la cual puede ser interpretada de diferente manera según quien la realice.

2.4.2. Conducción Eléctrica

La prueba de conducción eléctrica se realiza con aparato eléctrico Mas D Tec y se basa a la capacidad de las células de conducir la electricidad en presencia de sus electrolitos tales como el sodio y el cloro. Este método arroja parámetros (0-4 negativo; de 5-9 positivo) indicando de la presencia de la enfermedad. La ventaja es que cualquier persona la puede realizar y la desventaja es que puede dar falsos positivos y falsos negativos así como también no indica del total de células presentes en la leche (Bedolla, 2008).

2.4.3. Citometría de Flujo

El conteo de células somáticas por citometría de flujo es un buen parámetro para conocer la calidad de la leche así como también conocer y monitorear las condiciones de la glándula mamaria, es un método sofisticado que identifica que tipo de células están presentes, entre ellas las polimorfonucleares y

cuantifica el total de células. La ventaja es que detecta células somáticas en una baja concentración por lo que sirve para tener monitoreado el ganado lechero. La desventaja es que es un método costoso y no existen muchos lugares disponibles donde hacer estas pruebas, solo las grandes compañías tienen acceso y requiere de interpretación profesional (Dosogne y cols., 2003).

A pesar que se conocen algunos mecanismos que participan en la mastitis y como diagnosticarla, pero debido a que es una enfermedad multifactorial, aun es difícil detectarla a tiempo por lo cual esta enfermedad es recurrente en el ganado lechero.

2.5. Factores que Contribuyen con la Mastitis

Se conoce que existen factores los cuales pueden contribuir con la presencia de la enfermedad de mastitis. Estos pueden ser mal manejo higiénico, nutricionales, sistema de producción y así como también la época de año, todos ellos son importantes a considerar para tratar de disminuir y controlar esta enfermedad en el ganado lechero.

2.5.1. Higiénicos

Así como en otras enfermedades lo principal es la prevención tal es el caso de la mastitis y realizar prácticas higiénicas adecuadas ayudarían a prevenirla. Simplemente una limpieza antes de la ordeña y después de ella asegura que se disminuya el contagio por microorganismos ya que en ese momento es cuando más está expuesta el canal de la teta. Otras medidas básicas es mantener limpios los corrales y no dejar agua encharcada lo cual ayuda a disminuir la transmisión de esta enfermedad (Tongel y Broucek, 2010; Deb y cols., 2013).

Un estudio realizado en granjas ganaderas en Eslovaquia se evaluó la prevalencia de mastitis y su relación con la limpieza de la ubre. Se encontró un coeficiente de correlación elevado entre la higiene de la ubre y la presencia de enfermedad de mastitis. Se concluye que la limpieza de la ubre influye sobre la prevalencia de mastitis (Tongel y Broucek, 2010).

Usando técnicas microbiológicas se han identificado más de 140 especies, subespecies y serotipos de microorganismos en la glándula mamaria. Por ello se han clasificado de acuerdo a su reservorio primario, epidemiológico, fisiopatológico en esta enfermedad de mastitis como infección contagiosa e infección ambiental (Guízar y cols., 2008).

2.5.1.1. Infección contagiosa. Los patógenos más comunes que se encuentran en la infección contagiosa es el *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Mycoplasma spp.* y son transmitidos entre vacas (NMC, 2013). Este contagio puede ser a través de los instrumentos con los que limpian las ubres, el equipo de ordeña, las manos de la persona que tiene contacto con la vaca. Para ello son necesarias buenas prácticas de seguridad de higiene para el manejo de las ubres y de la leche (Schoroeder, 1997; Guízar y cols., 2008; Resende, 2010).

En un estudio hecho por El-Sayed y cols. (2006) en Jalisco, se realizaron 40 cultivos de *Staphylococcus aureus* provenientes de diversos establos, de los cuales 24 fueron muestras aisladas de casos con mastitis clínica y 16 cultivos de mastitis subclínica correspondieron al tipo de infección contagiosa por el tipo de microorganismo. Esto indica que posiblemente fue transmitido a través de equipo de ordeña o de las manos de quien la ordeñó. Con buena higiene este microorganismo se puede evitar y que sea patógeno en la enfermedad.

2.5.1.2. Infección ambiental. Los microorganismos más comunes dentro de la infección ambiental se encuentran *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*. Estos microorganismos son transmitidos a la vaca a través del medio ambiente que la rodea y son considerados oportunistas, ya que invaden la glándula mamaria cuando las barreras inmunológicas se encuentran comprometidas (Ballou y cols., 2011).

Estudios reportan que los microorganismos ambientales más frecuentemente son *Escherichia coli* y *Streptococcus uberis*. Algunos factores favorecen a que invadan a la glándula mamaria, son la carga y diversidad, así como también la inmunosupresión que se pueda encontrar en la vaca (Ballou y cols., 2011).

El manejo de buenas prácticas puede disminuir este tipo de contagio como lo es mantener limpio los corrales y sus alrededores, así como también los procedimientos de limpieza de las tetas de las vacas para prevenir la entrada de estos microorganismos (Schoroeder, 1997; Guízar y cols., 2008; Resende, 2010)

2.5.2. Sistema de Producción del Ganado en Sonora

En Sonora, México, se practican dos tipos de sistemas de producción para ganado lechero: el intensivo y el extensivo. En el intensivo por lo general se tienen razas especializadas para la producción de leche, donde reciben alimentación a base de fórmulas y su estado nutricional se encuentra adecuado cubriendo generalmente con los macronutrientes y micronutrientes. En cambio en el sistema de producción extensivo por lo general es ganado de doble propósito (lechero-carne) donde dependen del tipo de pastura de la región y de los forrajes que les proporcionen por lo que puede ocurrir que haya una mayor deficiencia de macronutrientes y micronutrientes con un estado nutricional pobre siendo más susceptibles a enfermedades (Villamar y Olivera, 2005).

2.5.3. Nutricionales

Se conoce que una alimentación deficiente tanto en macronutrientes y micronutrientes se va a reflejar en la salud del ganado lechero. En cuando a la mastitis existen reportes que relacionan deficiencia de micronutrimientos (específicamente vitaminas E y A) con esta infección.

2.5.3.1. Función de micronutrientes en ganado con mastitis. Cuando la glándula mamaria es infectada, se encuentra una alta concentración de radicales libres producidos por la respuesta inflamatoria, por ello las vacas necesitan tener concentraciones adecuadas de los sistemas antioxidantes. Si hay un balance entre radicales libres y antioxidantes, habrá un medio adecuado para que las células cumplan con sus funciones, algunos micronutrientes son antioxidantes, o están relacionadas con algunas enzimas antioxidantes. Los radicales libres más frecuentes que se encuentran son: superóxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxil y radicales derivados de ácidos grasos, ellos participan en la destrucción a patógenos, aunque también pueden dañar a los componentes celulares del organismo propio (Sordillo, 2012). Es por ello de su importancia en la dieta (Spears y Weiss, 2008; Van Ryn, 2009).

En la tabla 1 se observa la función de algunos micronutrientes con funciones específicas como antioxidantes. Dentro de los micronutrientes se destacan dos vitaminas que frecuentemente se encuentran por debajo de sus valores normales en vacas lecheras, si no se tiene una buena alimentación. Ellas cumplen con funciones importantes en el organismo de las vacas, como lo es la vitamina E y el β -caroteno (precursor de vitamina A).

Tabla 1 Funciones antioxidantes de micronutrientes en el ganado.

Componentes dentro de la célula	Nutrientes involucrados	Función
Superóxido dismutasa (citosol)	Cobre, zinc y manganeso	Enzima que convierte superóxido a peróxido de hidrógeno
Glutación peroxidasa (citosol)	Selenio	Enzima que convierte peróxido de hidrógeno a agua
Catalasa (citosol)	Hierro	Enzima (primordialmente en hígado) convierte peróxido de hidrógeno a agua
α -tocoferol (membranas)	Vitamina E	Rompe la reacción en cadena de la peroxidación lipídica
β -caroteno (membranas)	β -caroteno	Previene la iniciación de la reacción en cadena en la peroxidación lipídica

Tomada de Weiss (2010).

2.5.3.2. Función de la vitamina E y sus requerimientos en ganado. La vitamina E es una vitamina liposoluble y cumple con funciones esenciales dentro del organismo. Participa en el crecimiento, reproducción, sistema inmune y protección de la integridad de tejidos. La vitamina E está vinculada con el selenio, ambas cumplen con la función antioxidante, ya que protegen las membranas celulares de la oxidación provocada por algunos radicales libres, porque son componentes de la enzima antioxidante glutación peroxidasa presente en las células. La glutación peroxidasa trabaja en el citosol mientras que la vitamina E es un componente esencial de membranas lipídicas (McDowell y cols., 1996). Por lo cual una deficiencia puede causar problemas en la salud del ganado debido a que está relacionada con algunas enfermedades como la mastitis, enfermedad del músculo blanco entre otras.

Los requerimientos de vitamina E son importantes y dependen de la alimentación del ganado y de su etapa de desarrollo. Los valores normales de α -*tocoferol* en plasma son de aproximadamente de 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en el periodo periparto basados en una dieta que cumple con requerimientos nutricionales. Los requerimientos de α -*tocoferol* son de 2.6 UI/kg de peso corporal del animal, durante la gestación y etapa de lactancia. El *All-rac* α -*tocoferil* acetato es la forma comercial sintética que se usa para suplementación y 1 mg *All-rac* α -*tocoferil* acetato equivale a 1.49 UI de vitamina E (NRC, 2001).

Existen varios factores que pueden afectar los requerimientos de vitamina E y de ahí que se necesita suplementar. En forrajes frescos la vitamina E se encuentra altamente disponible, sin embargo cuando la planta ha sido cortada y tiene exposición a rayos solares su concentración disminuye, afectando negativamente la concentración de vitamina E en la planta. Por lo cual una dieta alta en forraje seco necesitará suplementación de vitamina E (NRC, 2001).

El selenio trabaja a la par con la vitamina E en su función como antioxidante, por lo tanto una concentración baja de selenio afecta los requerimientos de vitamina E y éstos serán mayores por lo consecuente se requerirá de suplementar dicha vitamina. También se requiere cuando la vaca se encuentra en el periodo periparto, debido a que aumenta la concentración de vitamina E en la leche y porque es en esta etapa en la cual se encuentra inmunosuprimido, asimismo cuando la dieta del ganado lechero contiene gran cantidad de ácidos grasos poliinsaturados. Es por ello que en todos estos casos es necesario suplementar con vitamina E (NRC, 2001; Meglia y cols., 2004).

2.5.3.3. Función de la vitamina A y sus requerimientos en ganado. También llamada retinol, no se encuentra en las plantas pero ellas contienen β -*caroteno* que es un precursor de la vitamina A. Este compuesto es ingerido a través de la dieta por el ganado según su tipo de alimentación, algunos forrajes derivados de granos, forrajes almacenados o forrajes secos contienen bajas

concentraciones de β -caroteno, en cambio los forrajes frescos contienen una adecuada concentración de β -caroteno, aunque puede variar según la especie del forraje y las condiciones climáticas al cual ha sido expuesto (Lindqvist, 2012). El β -caroteno es convertido a retinol por enzimas localizadas en las células mucosas del intestino (NRC, 2001).

La vitamina A cumple con funciones esenciales en el organismo del ganado. Entre las que se encuentran producción de rodopsina un pigmento necesario para la visión en luz baja, para un normal crecimiento y desarrollo incluyendo crecimiento fetal. También cumple con funciones importantes en el mantenimiento de tejido epitelial, participa en la integridad y estabilidad en el área de mucosas, importante antioxidante ya que reduce la producción de superóxido (radical libre) y posee efectos sobre las células inmunes (Quintela y cols., 2008; Heinrichs y cols., 2009).

Los requerimientos de vitamina A según el NRC (2001), dependen de la etapa de desarrollo del ganado y el tipo de alimentación. Para vacas lactando y en periodo de seca es de 110 IU/kg de peso corporal y se debe de suplementar cuando el forraje posea baja concentración de β -caroteno. Las formas sintéticas de suplementación son el *all-trans* acetato de retinil y el *all-trans* palmitato de retinil los cuales pueden ser agregados a la dieta o suplementar en forma de inyección vía intramuscular.

Existen varios factores que pueden influir en los requerimientos de vitamina A, dependiendo de ellos se tiene que llevar a cabo una suplementación. Por ejemplo una dieta baja en forrajes en la dieta del ganado, esto es debido a que en el rumen se lleva a cabo una destrucción considerable de β -caroteno, el forraje en la dieta del ganado es el principal aportador de β -caroteno. Por lo tanto una disminución en su consumo reduce la concentración de vitamina A (NRC, 2001).

Dietas con alto contenido de ensilado de maíz, pequeñas cantidades de heno y un forraje de mala calidad (seco) reducen la concentración de vitamina A. Esto

es porque el maíz y el heno poseen bajas concentraciones de β -caroteno. También el forraje seco pierde sus nutrimentos entre ellos el β -caroteno, debido al tiempo de almacenamiento o el tipo de clima al cual está expuesto (NRC, 2001).

En el periodo periparto de la vaca y cuando están constantemente expuestos a patógenos infecciosos se requiere un mayor consumo de vitamina A, porque se estimula la producción de células inmunes y en este periodo se reducen sus concentraciones por la etapa fisiológica en la que se encuentra el animal (NRC, 2001; Meglia y cols., 2004).

2.5.3.4. Vitaminas y su relación con mastitis. Existen varios reportes que indican que algunas vitaminas están relacionadas con la enfermedad de la mastitis. Por ejemplo en un estudio realizado por Meglia y cols. (2004), evaluaron la concentración en suero de vitamina A, E, zinc y selenio en plasma, un mes antes, un mes después del parto, y en periodo de parto, siendo en este último periodo el que mostró las concentraciones más bajas y concluyeron que se debe de suplementar con micronutrientes en la etapa del periparto, para reducir los riesgos subclínicos que puedan causar posibles deficiencias de micronutrientes.

Otros autores como Leblanc y cols. (2004); Yildiz y cols. (2005), evaluaron concentraciones en suero de vitamina A y E así como también β -caroteno en vacas lecheras en el periodo periparto. Valoraron las concentraciones en suero durante la gestación y después del parto de las vacas y concluyeron que efectivamente en el periodo de parto se observaron las concentraciones más bajas en suero de todos los micronutrientes evaluados. Por ello sugieren que los micronutrientes deben ser agregados en la dieta durante la gestación, para prevenir enfermedades muy frecuentes en las vacas como son mastitis, metritis y retención placentaria.

Algo similar, pero sin presentar diferencias estadísticas reportaron Persson y cols. (2007) en el suroeste de Suecia donde aplicaron un suplemento extra de vitamina E en la dieta en el periodo de parto del ganado lechero. Ellos evaluaron los efectos sobre la salud de la ubre dando un suplemento de *RRR*- α -tocoferil acetato alrededor del periodo de parto. No encontraron efectos significantes ya que dicho suplemento no mejoró la prevalencia de la enfermedad de mastitis. Por otro lado, Bourne y cols. (2008) tampoco encontrarón diferencia estadística entre suplementar dos inyecciones de vitamina E en el periodo periparto con respecto al conteo de células somáticas y sobre el número de vacas afectadas con mastitis.

En cambio Johansson y cols. (2014) compararon dos dietas con respecto a concentraciones en sangre y salud de la glándula mamaria. Separaron en dos tratamientos: uno de ellos fue la dieta orgánica que contiene buena disponibilidad de minerales, β -carotenos y α -tocoferol, el otro tratamiento la misma dieta pero suplementada con vitaminas sintéticas (ADE). Evaluaron ambos tratamientos durante el periodo periparto comparando en los dos grupos las concentraciones de retinol, β -caroteno y α -tocoferol en plasma, así como también casos de mastitis y conteo de células somáticas. No se encontró diferencias en cuanto concentraciones de retinol, β -caroteno y α -tocoferol en plasma para ambos grupos pero si hubo un efecto en el grupo suplementado con respecto a su salud ya que el no suplementado presentó más casos de mastitis y mayor conteo de células somáticas. Ambos grupos presentaron bajas concentraciones de vitaminas alrededor del periodo de parto.

Rezamand y cols. (2007) en su investigación concluyeron que las vacas en el periodo periparto con mayor almacenamiento de tejido energético antes del parto y con reducción de proteínas plasmáticas, β -caroteno y α -tocoferol, tienen mayor riesgo a sufrir una infección mamaria en el periodo periparto. Por ello también altas concentraciones en sangre de vitamina E y A en el periodo postparto de la vaca, está asociado con la reducción de niveles de ciertos biomarcadores de estrés oxidativo y también reduce la infección de la glándula

mamaria. De ahí su importancia en la dieta del ganado y su suplementación cuando sea necesaria (Politis y cols., 2012).

Otro factor de estrés que puede contribuir con la patología de mastitis son las diferentes estaciones del año. Por ejemplo las altas o bajas temperaturas, porque el ganado disminuye la ingestión de comida, disminuye la producción de leche y ello conlleva a que su sistema inmune baje sus defensas y sea más susceptible a enfermedades entre ellas la mastitis (Kennedy, 1999).

2.5.4. Época del Año

Durante la época de año hay variaciones de la temperatura. Las altas o bajas tienen efectos adversos sobre las funciones fisiológicas de las vacas (NRC, 2001). Durante el verano ocurre un efecto negativo llamado estrés por calor, ya que disminuye la producción de leche, su calidad, la fertilidad de los animales y el consumo de alimento. Así como también se altera el estado endócrino, reducción de la rumia, absorción de nutrientes, se incrementan los requerimientos para mantenimiento y aumenta la susceptibilidad a enfermedades debido a que bajan sus defensas inmunes (Intini y cols., 2003).

Estudios donde comparan la época del año con respecto a concentración de micronutrientes se mencionan a continuación. Chihuilaf y cols. (2008) en Chile evaluaron las concentraciones de retinol en plasma sanguíneo de vaquillas de pastoreo durante la época de año en invierno y primavera. Ellos encontraron que durante la temporada de invierno las concentraciones de retinol eran más bajas con respecto a la temporada de primavera. Este estudio no reporta las temperaturas a la cual se encontraban durante la época del año en la que se realizó la investigación.

Otro estudio realizado por Van De Weyer y cols. (2010) en ganado de carne, evaluaron la concentración de micronutrientes en suero (cobre, molibdeno,

manganeso selenio, vitamina A y E). El cobre y la vitamina A fueron más elevados en otoño, el molibdeno y selenio más bajos en otoño que en primavera. Entonces se observó claramente que la época del año influyó sobre las concentraciones en sangre de algunas vitaminas y minerales.

Estudios relacionados con otras especies de animales como lo reportado por Finochiaro y cols. (2007) en Valle del Belice, Italia, donde encontraron una relación entre la precipitación, radiación y exposición solar con la incidencia de mastitis en ovejas. También Sejian y cols., (2013) dividieron en tres grupos: grupo control, grupo sometido estrés por calor, y grupo sometido a estrés por calor más suplementación con antioxidantes y minerales. Ellos encontraron que en varios parámetros bioquímicos hubo diferencias significativas entre el grupo sometido a estrés por calor y el grupo suplementado con antioxidantes y minerales, siendo este último grupo capaz de protegerse contra el estrés por calor. Destacando que el estrés por calor está relacionado con la mastitis en ovejas y el estado antioxidante.

Existen pocos estudios relacionados a la cuantificación de vitamina A y E en sangre y en el alimento en vacas de pastoreo que se encuentran en un constante estrés ya sea por calor o por frío. Estas temperaturas hacen que el alimento que consumen sea deficiente en nutrimentos y causen estrés en las vacas, lo cual conlleva a una mayor susceptibilidad a enfermedades siendo una de ellas la mastitis que resulta en una elevada prevalencia en las vacas en todos los tipos de sistemas producción. En Sonora no hay estudios al respecto, por lo que es importante conocer cómo influye la época del año durante verano e invierno con temperaturas de hasta 45 °C y 0 °C respectivamente y cuál es su relación con las concentraciones de vitamina A y E en sistemas de producción extensivo que practican regularmente los pequeños productores y que dependen del pastoreo. Además determinar la prevalencia de mastitis en este tipo de ganado de doble propósito que se practica en Sonora.

3. HIPÓTESIS

La prevalencia de mastitis en ganado bovino criollo está relacionada con los valores séricos de vitamina E, A y la época del año.

4. OBJETIVOS

General

Evaluar la prevalencia de mastitis y su relación con los niveles séricos de vitamina E y A en ganado doble propósito (lechero-carne) de la comunidad de Cobachi, Sonora.

Particulares

Determinar la prevalencia de mastitis en ganado doble propósito durante verano e invierno.

Evaluar los valores séricos de vitamina E y A en ganado doble propósito durante verano e invierno.

Evaluar la práctica de suplementación de vitamina E y A en los valores séricos del ganado doble propósito.

Determinar las concentraciones de vitamina E y carotenos en el alimento durante verano e invierno.

5. MÉTODOS

5.1 Área de Estudio

El estudio se llevó a cabo en la comunidad de Cobachi, Sonora latitud 28.9 y longitud -110.2333 que pertenece al municipio de La Colorada en el estado de Sonora, México, la cual cuenta con productores rurales que pertenecen a una cooperativa formada por un total de 13 ranchos o establos de ganado bovino. De los cuales 5 ranchos fueron muestreados y fueron identificados Rancho A, B, C, D y E. El número de animales a muestrear del total de animales dentro de la cooperativa, fue estimado a través de muestreo aleatorio simple con una confiabilidad del 95% y un sesgo en la estimación del 5%.

5.2 Recolección de Muestras

El muestreo se realizó en la época de verano e invierno (ciclo 2013-2014). Durante los meses de junio, julio y agosto para época del verano y para invierno en los meses de diciembre, enero y febrero. Se tomaron muestras de leche aproximadamente 3 ml para cada cuarto de la ubre con el fin de evaluar mastitis. La muestra de sangre arterial se obtuvo de la vía yugular utilizando tubos sin anticoagulante, durante verano se tomaron 64 muestras y durante invierno 86, posteriormente se centrifugó para obtener el suero el cual fue almacenado a -20 °C. También se recolectaron muestras de alimento durante

las dos épocas de verano e invierno. Las muestras de pastura o forrajes se colocaron en bolsas de plástico y se almacenaron a -20 °C.

5.3. Análisis de las Muestras

Se realizó primeramente la detección de mastitis subclínica en vacas de 5 ranchos de Cobachi, Sonora a partir de muestras de leche mediante la prueba de California.

5.3.1. Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante la Prueba de California (CMT)

La CMT es la prueba más utilizada para detectar mastitis subclínica a nivel de campo en ganado bovino lechero. Es útil ya que es una prueba semicuantitativa, nos da información del total de células somáticas presentes. Esta prueba consiste en adicionar de un detergente a la leche el alquil-aril sulfonato de sodio, causando liberación de ADN de los leucocitos presentes en la leche y en combinación con agentes proteicos de la leche forman aglutinación, por lo cual si hay presencia elevada de células somáticas habrá una mayor aglutinación lo cual indica la presencia de agentes infecciosos en la ubre (Schalm y Noorlander, 1957).

Tabla 2. Interpretación de la prueba California para la detección de mastitis subclínica.

Escala	Rango relativo de células somáticas
Negativo	<200,000
Trazas	150,000 - 500,000
1	400,000 – 1,500,000
2	800,000 – 5,000,000
3	> 5,000,000

Una vez realizado la medición, se calculó la prevalencia de mastitis para esta comunidad con la siguiente ecuación:

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{No. de vacas infectadas}}{\text{No. Animales muestreados}} \times 100$$

Las vacas muestreadas de cada uno de los ranchos, se dividieron en dos grupos representativos. Un grupo de animales sanos (sin mastitis) y un grupo enfermo (con mastitis), a los cuales se les analizó las concentraciones de vitamina E y A en suero mediante el siguiente método:

5.3.2. Cuantificación de Vitamina E y A en Muestras de Sangre

Los niveles séricos de las vitaminas E y A se determinaron como describe Hess y cols. (1991) a 200 μ L de suero se le adicionaron 200 μ L de agua y 500 μ L de etanol con 2,6-diterbutil-4-metilfenol (BHT) al 0.025% y se agitaron en vortex. Después se agregaron 700 μ L de hexano con BHT 0.025%. Posteriormente se centrifugaron a 14000 rpm. La capa superior del sobrenadante fue transferida a un tubo eppendorf ámbar se dejó evaporar por 24 horas a temperatura

ambiente o por secado en plancha a 40 °C con nitrógeno. Las muestras fueron re suspendidas en 200 µL de metanol con BHT 0.025% y agitadas por 10 segundos en vortex después fueron filtradas usando una membrana de 0.2 µm de poro e inyectados en un HPLC para su cuantificación (Thermo Scientific Accela, 100114). Para el control se inyectó un estándar de DL-α- tocoferol 9.16 µM y otro de retinol a 3.16 µM de concentración. La cuantificación de cada compuesto fue realizada por el método de estándar externo.

Una vez analizadas las concentraciones de vitamina A y E en suero se prosiguió a analizar la composición del alimento en cuanto a macronutrientes y vitaminas, mediante el siguiente procedimiento:

5.3.3. Análisis Proximal del Alimento

Se analizaron mediante técnicas AOAC, (2011) tres componentes importantes en el alimento del ganado, como lo son porcentaje de humedad, proteína y grasa en cada uno de los distintos alimentos que consumió el ganado.

Para calcular el porcentaje de humedad se pesaron los platos de aluminio, luego una cantidad de 1.5-2 g de muestra y se colocó en una estufa de conexión forzada durante 8 horas a 100 °C. El cálculo se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ humedad} = \frac{(P_{\text{plato}} + P_{\text{muestra}} - P_{\text{seco}})}{P_{\text{muestra}}} \times 100$$

Se estimó el porcentaje de grasa total, se pesó 1-5 a 2 g de muestra en papel filtro y se colocó en un dedal de celulosa, después se llevó al condensador. En los vasos goldfish de extracción se agregó 40 ml de éter y se ajustó al condensador, posteriormente se colocó la placa de calor para comenzar la extracción y partir del primer goteo del dedal se dejó por 4 horas. Luego se

recuperó el éter. Después se pasó vaso goldfish a secar en estufa durante 1 hora a 100 °C para posteriormente pasar a desecador por 30 minutos y realizar el cálculo de la siguiente manera:

$$\% \text{ de grasa} = \frac{(P_{\text{vaso}} + P_{\text{grasa}}) - P_{\text{vaso}}}{P_{\text{muestra}}} \times 100$$

Para el cálculo el porcentaje de proteína se pesó 0.2 gramos de muestras junto con 1.5-2 gramos de catalizadores y se añadió 3 ml de ácido sulfúrico en un matraz de microkjeldahl, después se colocó en un digestor hasta que la muestra quedo totalmente digerida. Luego se agregaron 10 ml de agua destilada al matraz michokjeldahl para después ser vertida la muestra al destilador kjeldahl y a la salida del destilador se colocó un matraz con 15 ml de ácido bórico al 4% más dos gotas de indicador rojo de metilo modificado, después se agregó hidróxido de sodio al 40% en el receptor del destilador y a partir del viraje de la solución de ácido bórico 4% se tomó un tiempo de 5 minutos para retirar el matraz. Por último se hizo una valoración con HCl (0.1 N) hasta el viraje del color, se registró el volumen consumido y se introdujo en la siguiente ecuación:

$$\% \text{ proteína} = \frac{0.01401 \times N_{\text{HCl}} \times \text{vol. gastado HCl} \times \text{factor proteico}}{P_{\text{muestra}} \text{ (g)}} \times 100$$

5.3.4. Cuantificación de β -caroteno y Vitamina E en el Alimento

Para cuantificar β -caroteno se pesaron aproximadamente de 1 a 10 gramos de muestra de alimento de ganado, se agregaron 25 mililitros de tetrahidrofurano y se colocaron en agitación, se dejaron reposar unos minutos hasta que se separaron el sobrenadante de la muestra para luego ser filtrado (filtro 0.2 μm) e inyectado en equipo HPLC (Thermo scientific Accela 100114). Las condiciones utilizadas fueron: detector UV-Visible (PDA detector), columna C-18 10 cm x 4.6 mm DI, 3 μm , loop 10 μL y longitud de onda de $\lambda=460$ nm, con una fase móvil

58%; 35%; 7% (acetonitrilo-metanol-tetrahidrofurano respectivamente). El cálculo de la concentración se realizó de acuerdo al estándar el área bajo la curva (Mejia y cols., 1988).

Para cuantificar vitamina E se realizó de acuerdo a Hess y cols. (1991) con ligeras modificaciones. Se pesó de 1-3 gramos de alimento de ganado y se agregaron 100 miligramos de hidroxiquinona posteriormente se agregó 3 mililitros de hidróxido de sodio al 50% y 8 mililitros de etanol absoluto para después ser mezclados y colocados a baño maría durante 30 minutos a 70 °C, se dejó enfriar y se agregaron 8 mililitros de éter isopropílico para después ser agitados y se dejaron reposar. El sobrenadante que se formó, se filtró (filtro 0.2 μm) para posteriormente ser inyectado a equipo HPLC (Thermo Scientific Accela 100114). Detector UV-Visible, columna C-18 10 cm x 4.6 mm DI, 3 μm , loop 10 μL y $\lambda=290$ nm, con una fase móvil 98%; 2% (metanol-agua). El cálculo de la concentración se realiza de acuerdo al estándar el área bajo la curva.

5.4. Suplementación de Vitaminas

Se suplementaron a un total de 104 vacas (n=10, 23, 41, 15 y 15 animales de los ranchos A, B, C, D y E, respectivamente) que se encontraban en el periodo de lactancia. Se administró vía intramuscular una dosis de 5 mL del suplemento vitamínico ADE (ADE FORTE FARMATEC S.A. de C.V., Guadalajara, Jalisco), la cual contenía concentraciones de 500,000; 75,000 y 50 UI de vitamina A, D y E, respectivamente. Esta dosis del suplemento vitamínico, es la que regularmente los productores de la comunidad estudiada suplementan durante el invierno.

5.5. Análisis Estadístico

Las variables de respuesta fueron los niveles de vitaminas E y A en sangre y la presencia de la enfermedad de mastitis durante verano e invierno. Debido a que los valores de la concentración sérica de vitamina E por época del año no mostraron normalidad, se realizó la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney para la comparación de medianas entre épocas o entre grupos sanos y con mastitis dentro de época. Para el caso de los valores de vitamina A, las comparaciones de medias se realizaron por la prueba de T para dos muestras independientes. Se utilizó la prueba de Chi-cuadrada para conocer si existía relación entre la concentración de vitamina E y A con la presencia de mastitis. Las significancias fueron consideradas a una probabilidad en el error de 0.05 ($P < 0.05$). Todos los análisis fueron realizados en el software estadístico NCSS (2007).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Prevalencia de Mastitis

En la tabla 3 se muestran los resultados de prevalencia de mastitis durante el periodo de verano (mayo-julio 2013) y se encontró que 50 vacas resultaron positivas para mastitis, el resto (74 vacas) no presentaron la enfermedad. La prevalencia total de mastitis fue del 40%. En cuanto a la prevalencia por rancho se encontró que el rancho B presentó la prevalencia más alta (62.06%) y el rancho D (29.6%) la más baja, con aproximadamente el mismo número de animales muestreados. Cabe resaltar que el rancho A en el cual se muestrearon más animales presentó una menor prevalencia que el rancho B (31.8% y 62.06% respectivamente). Es importante mencionar que las prevalencias observadas en cada rancho son altas para la enfermedad de mastitis.

En la tabla 4 se muestran los resultados de la prevalencia de mastitis durante la temporada de invierno (enero-febrero 2014). Del total muestreadas, 18 fueron positivas a mastitis el resto 69 de ellas resultaron libres de la enfermedad, reportándose para esta temporada una prevalencia de mastitis de 20.6%. El rancho B fue el que presentó mayor prevalencia de mastitis con 50%, pero también fue el de menor número de vacas muestreadas con solo 6, seguido por el rancho D con un 45.4% de mastitis, el rancho C el cual tuvo el mayor número de vacas muestreadas con 40 presentó un 22.5 % de prevalencia, destacando el rancho E con solo el 10% de prevalencia y el rancho A con cero casos de mastitis.

Tabla 3. Prevalencia de mastitis subclínica en ganado bovino de la comunidad de Cobachi, Sonora, durante el verano de 2013.

Ranchos	n	Mastitis	Negativos	Prevalencia (%)
Rancho A	44	14	30	31.8
Rancho B	29	18	11	62.1
Rancho C	12	6	6	50
Rancho D	27	8	18	29.6
Rancho E	13	4	9	30.7
TOTAL	125	50	75	40

N total = 125

Al comparar la prevalencia de mastitis subclínica por época del año (Tabla 3 y 4), se observa que durante verano se presentó una prevalencia del 40%, mientras que en invierno la prevalencia se redujo a un 20.6%. Esta reducción en el invierno resulta favorable para la salud del ganado lechero explotado en esa época del año. La prevalencia alta durante verano pudo ser debido a que los animales estuvieron sujetos a estrés por calor, ocasionado por las altas temperaturas que se presentaron en esta región de estudio durante el verano (superiores a 42°C). Armstrong, (1994) reporta que el estrés por calor se da cuando la temperatura ambiental y humedad relativa superan un THI (índice de temperatura humedad) ≥ 72 . Esto provoca que el ganado reduzca la ingesta de comida, la producción de leche, la inmunidad, la tasa de concepción y aumenta la mortalidad, la presencia de células somáticas en la leche y mastitis en el ganado lechero (Tanton, 2011). Los valores de THI estimados para la época de verano se muestran en la Figura 4, y hacen constar que durante la mayor parte del tiempo de muestreo durante el verano, los animales estuvieron expuestos a un estrés moderado según los parámetros reportados por Armstrong, (1994).

Tabla 4. Prevalencia de mastitis subclínica en ganado bovino de la comunidad de Cobachi, Sonora, durante el invierno de 2013-2014.

Ranchos	n	Mastitis	Negativos	Prevalencia (%)
Rancho A	20	0	20	0
Rancho B	6	3	3	50
Rancho C	40	9	31	22.5
Rancho D	11	5	6	45.4
Rancho E	10	1	9	10
TOTAL	87	18	69	20.6

N: total= 87

Durante el muestreo de invierno, el THI promedio fue de 69 en un rango de 55-70, lo cual indicó que los animales no se encontraban expuestos a estrés calórico (Figura 5). Estudios anteriores realizados por Morse y cols., (1987) monitorearon los valores de THI durante seis años así como también los casos de mastitis, encontraron que un THI por arriba de 80, aumentaban el número de casos de mastitis clínica a un 6%. Adicionalmente, Akyuz y cols., (2010) en Turquía sugieren que durante los meses de junio, julio y agosto donde los valores de THI superan los 80, monitoreen las condiciones del ganado con el fin de evitar problemas relacionados con la enfermedad de mastitis. Recientemente Thompson y Dahl, 2012, en EUA compararon valores de THI durante verano e invierno contra la enfermedades de mastitis. Para invierno obtuvieron valores de THI de 53-57 y en verano valores de 75-76 considerado este rango como estrés ligero por calor y encontrándose que durante estos meses aumentó el número de casos de mastitis al doble de un 9% en invierno a un 18% en verano. Con una respuesta similar al de nuestro estudio que también aumentó al doble la prevalencia de mastitis durante verano pero con valores mayores de THI para ambas épocas.

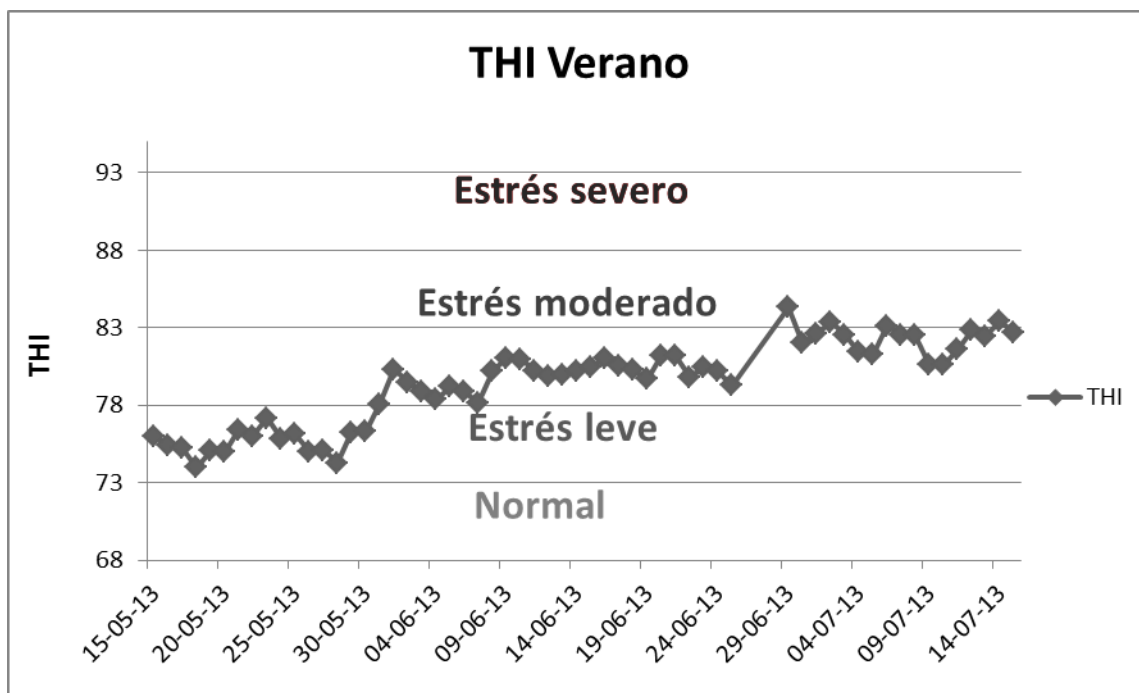


Figura 4. Valores de THI registrados durante la temporada de verano (mayo-julio del 2013). Promedios basados durante todo el día. Estrés severo >88, estrés moderado 78-87, estrés leve 73-77 y normal <72.

Por otro lado, la baja prevalencia obtenida en invierno además que los animales mostraron THI normal, también pudo ser afectado por la práctica que llevan a cabo los productores de suplementación de las vitaminas estudiadas, a través de una inyección intramuscular.

La prevalencia de mastitis del 40% en la época de verano observada en el presente estudio, al contrastarla con estudios realizados en otras regiones se observa que está por debajo a lo encontrado en granjas de Bengaluri, India (Hegde y cols., 2013) que fue de un 62%, en cambio muy similar con otras dos investigaciones hechas en Latinoamérica como lo es en Bogotá Colombia y Mérida Venezuela (Calderon, 2008; Castillo y cols., 2009) con 34.40% y 36.2% respectivamente, destacando que esta enfermedad es de alta prevalencia para la producción lechera. Existen otros estudios que reportan prevalencias de mastitis en México tales como los hecho en Tarímbaro, Michoacán (Guízar y

cols. 2008) con un 43.14% de prevalencia de mastitis muy similar al encontrado en nuestro estudio, cabe señalar que en Sonora existen pocos estudios con respecto a esta enfermedad, destacando un estudio hecho por Gerlach y cols., (2009) en la ciudad de Santa Ana, Sonora donde ellos reportaron una prevalencia de mastitis de 18.2%, la cual es menor que la encontrada en el presente estudio durante verano, enfatizando que ellos reportan sus datos a lo largo de un año de investigación, sin embargo la prevalencia de nuestro estudio en invierno es de 20.6% similar a lo encontrado por estos autores.

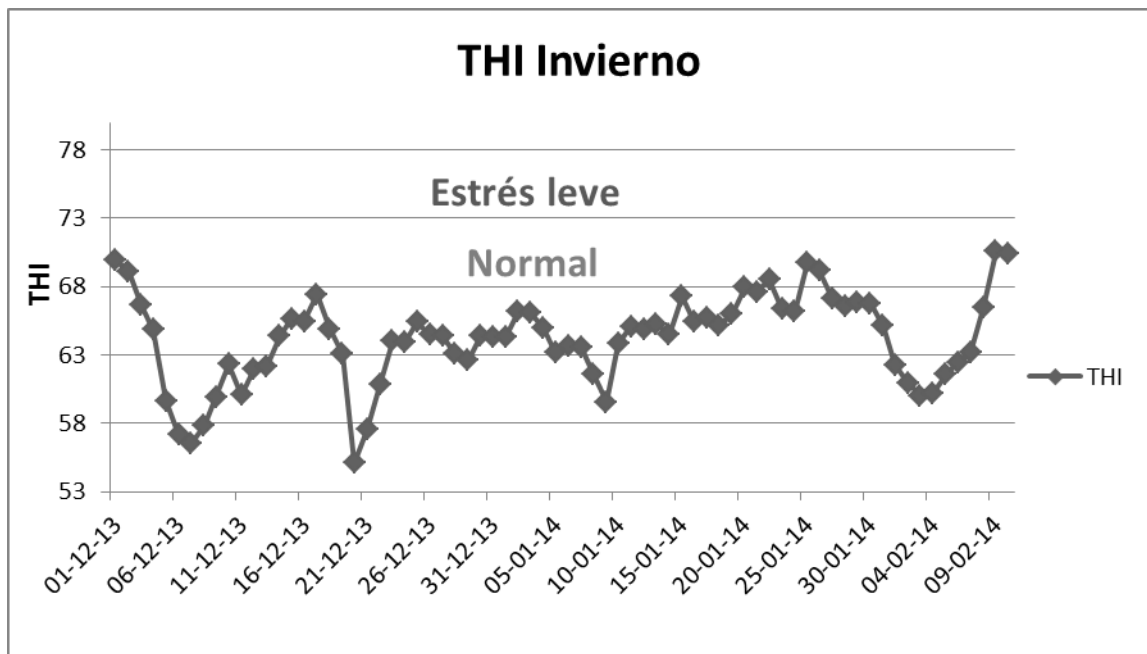


Figura 5. Valores de THI registrados durante la temporada de invierno (diciembre del 2013, enero-febrero del 2014). Promedios basados durante todo el día. Estrés severo >88, estrés moderado 78-87, estrés leve 73-77 y normal <72.

6.2. Concentración Sérica de Vitamina E

Las concentraciones séricas de vitamina E por época del año se muestran en la Figura 6. No se observaron diferencias ($P>0.05$) entre épocas. Los valores fueron de 5.58 y 6.28 $\mu\text{M/L}$ para verano e invierno, respectivamente. Además se observó que los valores para ambas épocas se consideran deficientes, ya que los valores en sangre normal son de 6.96 a 20.94 $\mu\text{M/L}$.

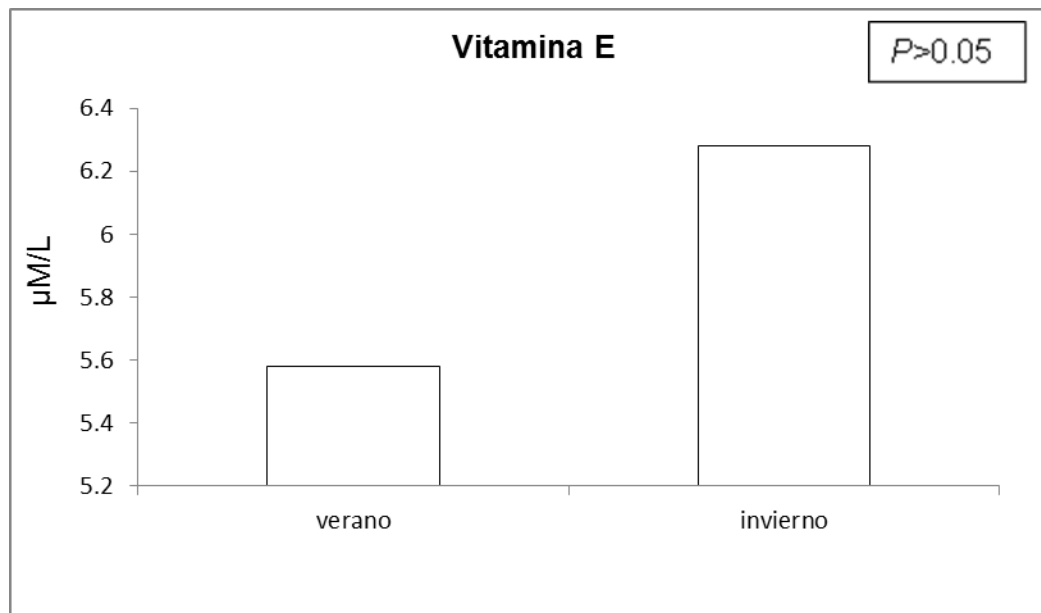


Figura 6. Concentración sérica de vitamina E en ganado bovino doble propósito durante verano e invierno.

Se compararon los valores séricos para vitamina E de los grupos sanos y con mastitis durante la época de verano e invierno. En ambas épocas no se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre animales sanos y con mastitis. En el verano, los valores de vitamina E fueron de $6.12 \pm 0.67 \mu\text{M/L}$ y $6.45 \pm 0.67 \mu\text{M/L}$ para los animales sanos y con mastitis, respectivamente. En la época de invierno el grupo control presentó un promedio de $6.94 \pm 0.59 \mu\text{M/L}$, mientras que el grupo de mastitis presentó un promedio de $8.43 \pm 1.40 \mu\text{M/L}$ (Tabla 5).

Tabla 5. Concentración sérica de vitamina E ($\mu\text{M/L}$) en vacas sanas y con mastitis y durante las épocas de verano e invierno.

	Verano	Invierno
Sanas	6.12 \pm 0.6 ¹	6.94 \pm 0.59 ³
Mastitis	6.45 \pm 0.6 ²	8.43 \pm 1.40 ⁴
Probabilidad	$P > 0.05$	$P > 0.05$

¹25 animales muestreados; ²36 animales; ³65 animales; ⁴15 animales

(\pm): error estándar. Valores de P expresados por columna.

Para conocer si existe dependencia entre el estado de salud de las vacas (sanas o mastitis) con respecto a los valores séricos de las vitaminas E (deficientes o normales), los animales se clasificaron de acuerdo al estado de salud como sanos o mastitis así como también de acuerdo a los concentración en sangre de vitamina E como deficientes o normales. Se consideran valores normales de vitamina E en suero para vacas lecheras según el NRC, (2001) de 6.96 a 20.94 $\mu\text{M/L}$.

De acuerdo a la clasificación antes mencionada el 38% de las vacas muestreadas estaban sanas pero tenían una deficiencia de vitamina E, el 25.3% eran sanas y con valores normales de vitamina E, el 19.3% presentaban la enfermedad de mastitis y eran deficientes en esta vitamina y el 17.3% presentaban la enfermedad y tenían valores normales. Sin embargo, no se encontró una asociación ($P > 0.05$) entre el estado de salud de las vacas con respecto a valores en sangre de vitamina E (Figura 7).

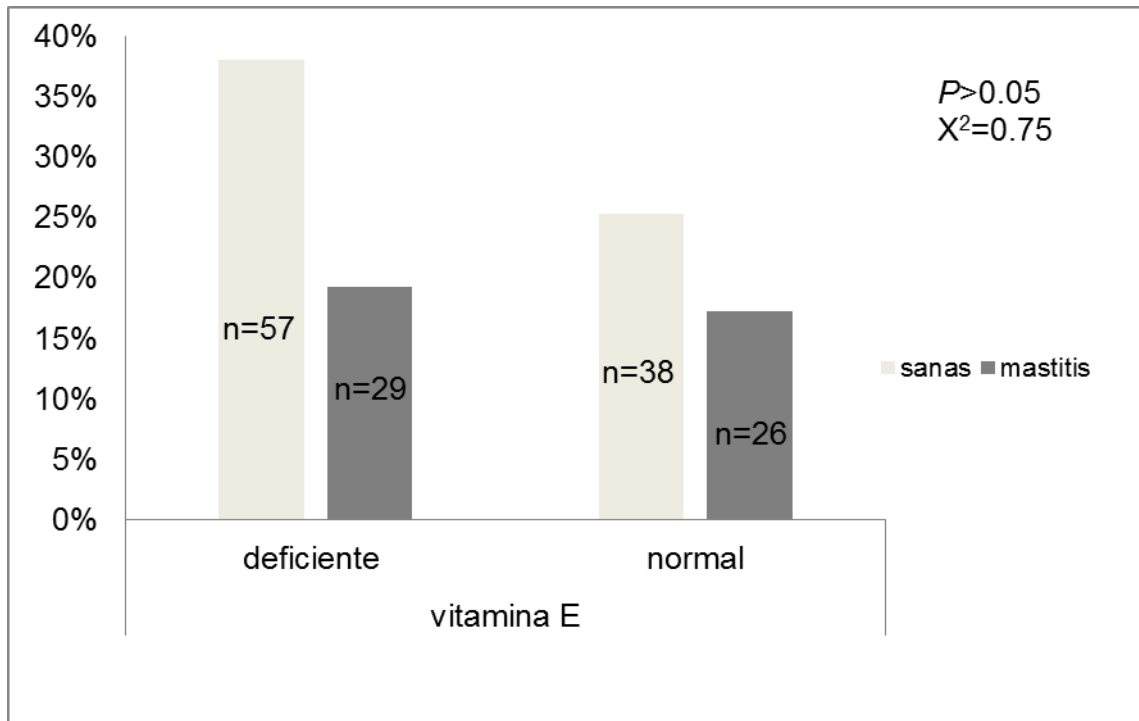


Figura 7. Relación de deficiencia de vitaminas E con la presencia de mastitis en el ganado bovino. Son deficientes valores $<6.96 \mu\text{M/L}$ y normales valores entre 6.96 a $20.94 \mu\text{M/L}$.

Previos reportes en los cuales se suplementó vitamina E en la dietas de vacas lecheras con mastitis a tres concentraciones, encontraron que la dieta con la concentración más alta de vitamina E se disminuyeron los casos de mastitis y los animales mostraron niveles séricos mayores a $6.98 \mu\text{M/L}$ (Weiss y cols., 1997). Por otro lado, Persson y cols. (2007), no encontraron efecto significativo al suplementar $1,610 \text{ mg}$ de acetato *RRR*- α -tocoferil en la dieta ya que no se mejoró la salud de la glándula mamaria ni otras enfermedades relacionadas. Por su parte, Politis (2012) sugiere que a vacas en periodo de seca se le debe suplementar de 1000 a 3000 UI de vitamina E/día y vacas lactando de 500 a 1000 UI de vitamina E/día, además que en establos con problemas de mastitis se debe suplementar hasta 3000 UI de vitamina E/día para alcanzar niveles en sangre mayores a $6.98 \mu\text{M/L}$. Recientemente, Johansson y cols. (2014) formularon una dieta alta en vitaminas y dividieron en dos grupos, uno de ellos sin suplementar y el otro grupo con suplementación de vitaminas de origen

sintético como el acetato de *all-rac-α*-tocoferil, y no encontraron diferencias entre ambos grupos en cuanto a concentraciones en sangre con valores >6.98 μM/L, sin embargo, las no suplementadas con vitaminas sintéticas presentaron mayores casos de mastitis y mayor conteo de células somáticas

Por otro lado, estudios en los cuales la vía de suplementación es la inyección intramuscular se ha reportado lo siguiente: Leblanc y cols. (2002) suplementaron 3000 IU de acetato de *RRR-α*-tocoferil en una sola inyección, reportando una concentración de vitamina E en suero de 6.87 μM/L, la cual es muy cercana a los valores séricos normales (6.96-20.94 μM/L), sin embargo, no encontraron una asociación respecto a la enfermedad de mastitis. La concentración utilizada por estos autores fue muy por arriba a la utilizada por los productores de la región ya que suplementan 50 UI/ml de vitamina E.

Bourne y cols., 2008 administraron dos inyecciones de vitamina E en el período periparto, para conocer los valores en sangre. Administraron 15 mL de acetato dl-α-tocoferil equivalente a 2100 mg cada una de las inyecciones, no encontraron efecto significativo en cuanto a concentraciones en sangre, con valores por debajo de las normales (6.96-20.94 μM/L) y tampoco encontraron una efecto con respecto a la enfermedad de mastitis. Los resultados anteriores son similares a los observados en nuestro estudio, pero ellos suplementaron una concentración superior y con valores deficientes por debajo de los normales al igual que nuestro estudio.

Rezamand y cols. 2007 dividieron en dos grupos de acuerdo a la infección mamaria. Uno de ellos con infección mamaria y el otro sin infección mamaria encontrando que para el grupo con infección mamaria presentaba valores más bajos de vitamina E en sangre que el grupo sin infección durante el periodo periparto.

Como se puede observar según investigaciones los requerimientos de vitamina E para ganado con mastitis y según la etapa fisiológica de la vaca no están bien establecidos tanto en la dieta y vía inyección intramuscular. Por lo que se

requiere hacer más estudios al respecto. Además de controlar los factores que pueden estar interviniendo a que tal deficiencia de vitamina se esté presentando, para así tener valores normales y disminuir la susceptibilidad a enfermedades como la mastitis por estas deficiencias.

6.3. Concentración Sérica de Vitamina A

En la figura 8 se muestran las concentraciones séricas para vitamina A durante la época de verano e invierno. En verano la media general fue de 0.59 ± 0.03 $\mu\text{M/L}$ y para invierno aumentó a 0.65 ± 0.01 $\mu\text{M/L}$ aunque sigue siendo deficiente ya que el rango normal es de $0.872\text{-}2.792$ $\mu\text{M/L}$. No se encontró efecto significativo ($P>0.05$) comparando entre épocas (figura 8).

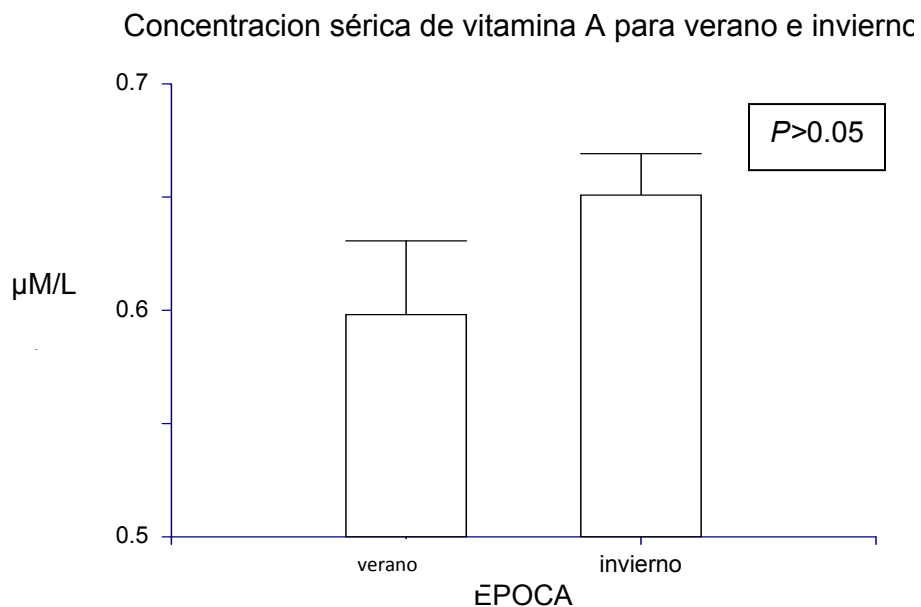


Figura 8. Concentración sérica de vitamina A en ganado bovino durante las épocas de verano e invierno.

Se compararon ambos grupos (sanos contra mastitis) en cuanto a los valores séricos para vitamina A durante la época de verano e invierno. El grupo control o vacas sanas presentaron una media de $0.61 \pm 0.05 \mu\text{M/L}$, mientras grupo de mastitis presentó media de $0.58 \pm 0.03 \mu\text{M/L}$ y en verano no se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$). En la época de invierno el grupo de vacas sanas presentó un promedio de $0.63 \pm 0.02 \mu\text{M/L}$ mientras que el grupo de mastitis presentó un valor promedio mayor que el grupo de sanas con $0.71 \pm 0.03 \mu\text{M/L}$, tampoco se encontraron diferencias significativas (Tabla 6).

Tabla 6. Concentración sérica de vitamina A ($\mu\text{M/L}$) en vacas sanas y con mastitis durante verano e invierno.

	Verano	Invierno
Sanas	0.61 ± 0.05^1	0.63 ± 0.02^3
Mastitis	0.58 ± 0.03^2	0.71 ± 0.04^4
Probabilidad	$P>0.05$	$P>0.05$

¹25 animales muestreados; ²34 animales; ³69 animales; ⁴17 animales. (\pm): error estándar. Valores de P expresados por columna.

Según la clasificación del estado de salud de vacas con respecto a las concentraciones séricas de vitamina A en sangre, se encontró que: el 54.7% de las vacas eran sanas pero con deficiencias de vitamina A, solo el 8.7% eran vacas sanas y poseían valores normales de dicha vitamina. El 29.3% tenían la enfermedad de mastitis y presentaban deficiencia de vitamina A y solo el 7.3% presentaban la enfermedad de mastitis y con valores en sangre normales para dicha vitamina. Sin embargo tampoco se encontró asociación ($P>0.05$) entre el estado de salud del ganado lechero y la concentración de vitamina A (Figura 9).

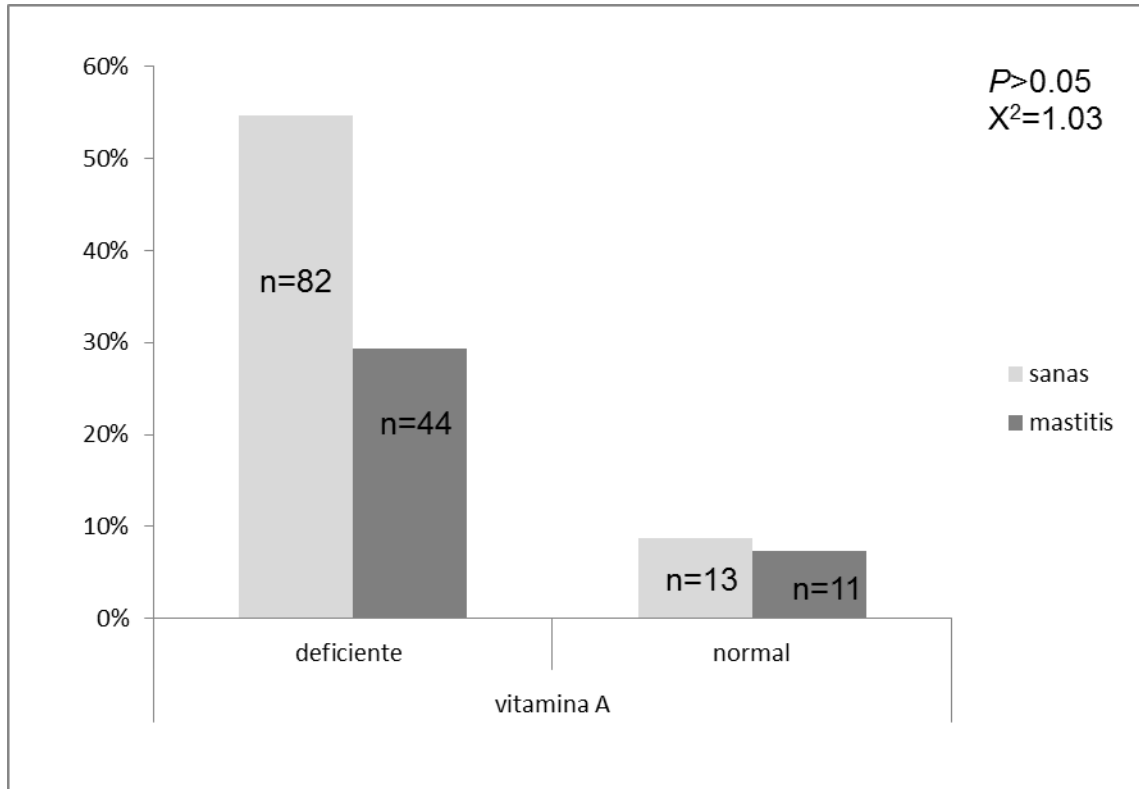


Figura 9. Relación de deficiencia de vitamina A y presencia de mastitis. Deficiencia valores $<0.872 \mu\text{M/L}$ y normales de $0.877-2.792 \mu\text{M/L}$.

Oldham y cols., (1991) suplementaron altas dosis vitamina A y betacaroteno en la dieta $50,000 \text{ UI/día}$ y 300 mg/día de β -caroteno respectivamente durante 60 días en el periodo periparto sin embargo estas dosis altas no tuvieron efecto significativo en cuanto al número de casos de mastitis y conteo de células somáticas, comparada con la suplementación que se llevó a cabo en nuestra investigación de $500,000 \text{ UI/mL}$ en una sola dosis de 5 mL , la cual es demasiado alta y sin embargo tampoco tuvo un efecto significativo, posiblemente por que existen otros factores que pudieran estar participando.

LeBlanc y cols. 2004 evaluaron la concentración en sangre de varias vitaminas, entre ellas vitamina A, una semana previa al parto y semana posterior al parto y encontraron que en la semana previa al parto se encontró un valor mas bajo respecto al postparto 149 ng/mL ($0.52 \mu\text{M/L}$) y el otro 191 ng/mL ($0.66 \mu\text{M/L}$) respectivamente y que valores que valores por arriba de los 100 ng/mL (0.34

$\mu\text{M/L}$) se reducía la presencia de mastitis, aunque ambos valores medidos están por debajo de los valores normales de vitamina A (0.87-2.79 $\mu\text{M/L}$). Este patrón de respuesta concuerda con lo que se encontró en nuestro estudio de 0.59 $\mu\text{M/L}$ para verano y de 0.65 $\mu\text{M/L}$ para invierno sin encontrar alguna significancia entre las épocas.

Yildiz y cols. (2005) en Turquía evaluaron las concentraciones en sangre de vitamina A durante el periodo de gestación del ganado lechero y encontraron que en el periodo de parto las concentraciones eran más bajas con respecto a los primeros meses de gestación, obtuvieron un valor de 1.39 $\mu\text{M/L}$ que está dentro de los valores normales (0.877-2.792 $\mu\text{M/L}$) sugiriendo que se debe suplementar durante este periodo con vitaminas agregadas a la dieta del ganado para así poder prevenir enfermedades tales como la mastitis entre otras.

En un estudio similar al nuestro realizado en Chile por Chihuailaf y cols. (2008) en vacas de pastoreo se compararon niveles en sangre de vitamina A en dos temporadas de año invierno y primavera con concentraciones de 1.46 $\mu\text{M/L}$ y 1.74 $\mu\text{M/L}$ respectivamente encontrando diferencias estadísticas con valores mayores en primavera y ambos valores están dentro de los normales (0.87-2.79 $\mu\text{M/L}$) en ese estudio no reportan temperaturas en tales épocas del año. En cambio en nuestro estudio en invierno aumentaron las concentraciones en sangre (0.65 $\mu\text{M/L}$) comparadas con verano pero ambas épocas siguen siendo deficientes.

6.4. Alimento

Se analizó la composición química del alimento que consumió el ganado durante el verano e invierno y de cada uno de los ranchos estudiados. Se determinó el porcentaje de humedad, grasa y proteína, así como también se

cuantificó el contenido de β -caroteno y vitamina E en cada uno de los diferentes alimentos (pasto, concentrado, salvado de trigo, alfalfa, rye grass, sorgo y temporal).

6.4.1 Análisis Proximal del Alimento

Durante la época de verano el pasto de la región de Cobachi tuvo un porcentaje de humedad de 7%, proteína 4% y extracto etéreo del 1%. Se hace notar que todo el ganado de la región pastoreaba y consumía este tipo de pasto. En tres ranchos diferentes (B,D y E) al ganado se les proporcionaba salvado de trigo, muestras que provenían de diferente origen pero presentaron valores proximales muy similares como son: extracto etéreo 2% y proteína de 14%. El concentrado lo suministraron dos ranchos (A y C) y tuvieron valores de 1.5% en extracto etéreo y de proteína 9% (Tabla 7).

Los alimentos que se encontraban frescos verdes fueron sorgo, temporal y alfalfa. El sorgo lo proporcionaba el rancho B con porcentaje de humedad del 70%, extracto etéreo de 0.3% y proteína 0.6%, el temporal lo proporcionaba el rancho D con 54% de humedad, extracto etéreo de 0.6% y proteína del 7%. La alfalfa fue otorgada en el rancho C con 75% de humedad, extracto etéreo de 0.8% y proteína del 4.7% (Tabla 7).

Durante invierno el pasto de la región de Cobachi que se suministró en todos los ranchos presentó casi un 3% de proteína y 1% de extracto etéreo. Al igual que en verano, el salvado de trigo los proporcionaron tres ranchos (B,D y E) durante la ordeña con valores aproximados del 14% de proteína y 3% de extracto etéreo. El concentrado sólo dos ranchos (A y C) lo suministraron durante la ordeña con valores aproximados de 9% de proteína y 1.5 de extracto etéreo (Tabla 8).

Los alimentos que se sembraron en pequeñas milpas que poseen los productores fueron sorgo y rye grass y estos fueron analizados en condiciones húmedas y verdes. Dos ranchos el B y C daban sorgo de diferentes milpas con casi 3% de proteína y 2% de extracto etéreo; en el rancho B, y 1.6% de proteína con 0.05% de extracto etéreo para el rancho C. El rye grass los suministraban los ranchos A y D con valores de 2.7% de proteína y 1% de extracto etéreo (Tabla 8).

Tabla 7. Composición proximal de alimento para ganado y cuantificación de vitamina E y β -caroteno en base seca durante la época de verano.

Ranchos		Alimento verano				
		%humedad	%extracto etéreo	%proteína	tocoferol (mg/100 g)	β -caroteno (mg/100 g)
A B C D E	pasto	7.33	1.27	4.14	0.68	0.08
B	sorgo	70.13	0.36	0.626	8.23	0.36
D	temporal	54.78	0.61	7.404	3.66	7.28
C	alfalfa	75.77	0.82	4.76	5.49	7.08
D	salvado de trigo	7.29	2.37	13.747	1.08	ND
E	salvado de trigo	11.14	2.99	13.207	1.01	ND
A C	concentrado	10.67	1.55	9.739	1.04	0.05
B	salvado de trigo	10.02	2.93	14.478	2.26	ND

Los resultados obtenidos de algunos de los alimentos analizados para ambas épocas, como alfalfa, sorgo, rye grass y salvado de trigo fueron comparados con las recomendaciones dadas por el NRC, (2001) en cuanto a extracto etéreo y proteína y se puede observar que todos los alimentos evaluados en este estudio presentan valores por debajo de los reportados, por ejemplo la alfalfa según NRC, 2001 contiene 19% de proteína y extracto etéreo de 2.5 %, mientras que la alfalfa de los ranchos presentó 4.7% de proteína y 0.8% de extracto etéreo. Por otro lado, el sorgo reportado por la NRC, contiene 10% de proteína y 3.6% de extracto etéreo muy por arriba del evaluado de con muy poco porcentaje que no alcanza el 1% para ambos parámetros de proteína y extracto etéreo. El rye grass reportado posee una elevada cantidad de proteína de 26.5% y 2.7% de extracto etéreo en cambio el evaluado en este estudio tiene bajo porcentaje de proteína que no alcanza el 3% y 1.3% de extracto etéreo. El salvado de trigo es el que mas se aproxima a los reportados con 14% de proteína y 3% de extracto etéreo mientras que el reportado posee 17% de proteína y 4% de extracto etéreo (NRC, 2001).

Dichas variaciones se pueden deber a las condiciones en la cual se desarrolla la planta (temperatura, condiciones del suelo, sequía) o el tratamiento y tiempo de almacenamiento que se les da en el caso de los forrajes (NRC, 2001).

6.4.2. Concentración de Vitamina E en el Alimento

El pasto durante verano tuvo un contenido tocoferol de 1 mg/100 g de muestra, en cambio el sorgo fue el mayor aportador de tocoferol con 8.2 mg/100 g de muestra (este alimento solo lo suministraba el rancho B), le sigue en orden descendente la alfalfa (5.4 mg/100 g) y lo proporcionaba el rancho C, temporal con 3.6 mg/100 g y lo suministraba el rancho D, el salvado de trigo (aprox 2 mg/100 g) y lo daban los ranchos B, D y E, y por último el concentrado (1 mg/100 g) en los ranchos A y C (Tabla 7).

En la Tabla 9, se presentan las concentraciones séricas de vitamina E y A por rancho y por época del año. El rancho A, presentó una mayor concentración en sangre de vitamina E para su ganado lechero con un valor promedio de 9.89 $\mu\text{M/L}$ y aquí se les proporcionaba alimento de pasto y concentrado como aportadores de esta vitamina. El rancho B, tuvo una concentración media de 6.8 $\mu\text{M/L}$ y suministraba alimento de pasto, sorgo y salvado de trigo. El rancho D, mostró un valor de 5.5 $\mu\text{M/L}$ y se proporcionaba pasto, temporal y salvado de trigo. El rancho C, tuvo 4.3 $\mu\text{M/L}$ y se alimentaba con pasto, alfalfa y concentrado. Por último el rancho E fue el que obtuvo menor concentración de vitamina E en sangre con 2.4 $\mu\text{M/L}$ y solo alimentaba con pasto y temporal.

Tabla 8. Composición proximal de alimento para ganado y cuantificación de vitamina E y β -caroteno en base seca durante invierno.

Ranchos		Alimento invierno				
		% humedad	% extracto etéreo	% proteína	Tocoferol (mg/100 g)	β -caroteno (mg/100 g)
E	salvado de trigo	11.14	2.99	13.20	1.01	ND
A y C	concentrado	10.67	1.55	9.73	1.04	0.05
B	sorgo1	57.33	1.80	2.96	5.94	0.19
C	sorgo2	52.36	0.04	1.65	4.15	0.11
B	salvado de trigo	10.02	2.93	14.47	2.26	ND
D	salvado de trigo	7.29	2.37	13.74	1.08	ND
A B C D E	pasto	7.09	1.34	2.98	7.23	0.24
A y D	rye grass	78.10	1.04	2.75	2.04	10.72

Con respecto al contenido de vitamina E en el alimento se observó que el pasto durante invierno tuvo 7 mg/100 g, seguida del sorgo 1 con casi 6 mg/100 g que proporcionaba el rancho B, luego el sorgo 2 con 1.6 mg/100 g que lo daban en el rancho C, a su vez el rye grass tuvo una concentración de 2 mg/100 g y este alimento lo suministraban dos ranchos (A y D), el salvado de trigo contuvo 2 mg/100 g que lo dieron en los ranchos B, D y E, y por último el concentrado que contenía 1 mg/100 g y este se daba en el rancho A y C (Tabla 8).

De los resultados obtenidos se encontró que el ganado del rancho D fueron los que tuvieron la mayor concentración sérica de vitamina E con 12.14 $\mu\text{M/L}$ y también se observó que en este rancho se les alimentaba con pasto, salvado de trigo y rye grass que son buenos aportadores de vitaminas. En el rancho A tuvieron niveles de 8.54 $\mu\text{M/L}$ y se alimentaba con pasto, concentrado y rye grass. Mientras que en el rancho E se encontró una concentración de 8.45 $\mu\text{M/L}$ y solo suministraba como alimento el pasto y salvado de trigo; en el rancho C se tuvieron valores de 6.92 $\mu\text{M/L}$ y se les alimentaba con pasto, alfalfa y concentrado. Por último el rancho B fue el que presentó la mas baja concentración que fue de 5.44 $\mu\text{M/L}$ y solo pasto y salvado de trigo eran las fuentes aportadoras de vitamina E (Tabla 9).

Tabla 9. Valores séricos promedio de vitamina E y A ($\mu\text{M/L}$) de los animales en cada rancho y por época del año.

Verano			Invierno	
Rancho	Vitamina E	Vitamina A	Vitamina E	Vitamina A
Rancho A	9.89	0.78	8.54	0.70
Rancho B	6.82	0.51	5.44	0.71
Rancho C	4.36	0.48	6.92	0.59
Rancho D	5.53	0.59	12.14	0.72
Rancho E	2.40	0.79	8.45	0.65

Aunque se realizaron los análisis para conocer cuáles eran los principales aportadores de vitamina E en los alimentos que consume el ganado de esta región de estudio, no se midió el consumo promedio diario ya que este ganado es de pastoreo y no reciben como tal una dieta formulada con los requerimientos y hacerlo con cada uno de los animales se dificultaba. De acuerdo a las recomendaciones diarias (NRC, 2001) para ganado lechero requiere de 2-6 UI/kg de peso corporal del animal para vitamina E. Algunas concentraciones sugeridas para alfalfa es de 6.6 mg/100 g de vitamina E muy similar a la encontrada en nuestro estudio de 5.4 mg/100 g, otra más para el rye grass de 16.9 mg/100 g muy elevada comparada con la evaluada en este estudio de 2 mg/100 g, el salvado de trigo que posee 1.4 mg/100 g. muy similar a las concentraciones evaluadas este estudio con aproximadamente 1 mg/100 g estas variaciones pueden ser debido a las condiciones del clima y también las condiciones de tratado y almacenamiento de la región donde es producido cada uno de los alimentos (Turner y cols., 2002).

6.4.3. Concentración de β -caroteno en el Alimento.

Durante verano el principal alimento aportador de β -caroteno fue el temporal con 7.2 mg/100 g que se surtía en el rancho D, seguido por la alfalfa con 7 mg/100 g que suministraba en el rancho C. Por otro lado en los alimentos como el pasto, sorgo y concentrado apenas se detectaron valores por debajo de 1 mg/100 g, mientras que en las muestras de salvado de trigo 1 y 2, no se le detectó β -caroteno (Tabla 7).

Durante el invierno el principal alimento aportador de β -carotenos fue el rye grass con 10 mg/100 g y quienes lo suministraban fueron los ranchos A y D. En el resto de los alimentos no se encontraron concentraciones considerables de β -carotenos (Tabla 8).

Por otro lado, para ganado lechero el NRC, (2001) recomienda el consumo de vitamina A en 110 UI/kg de peso corporal del animal, sin embargo no se evaluó el consumo total del alimento, por lo cual no se puede saber cuál fue la ingestión total de dicha vitamina en el ganado de esta región de Cobachi, pero se esperaba que los animales tuvieron bajos consumos por el resultado obtenido de bajas concentraciones séricas de vitamina A tanto en época de verano como en invierno.

Según reportes de Bruhn, (1978) la alfalfa es el principal aportador de β -carotenos con 35.7 mg/100 g muy por encima a la alfalfa evaluada en nuestro estudio que tuvo concentraciones de 7 mg/100 g, por otra parte el salvado de trigo es reportado con concentraciones bajas de 0.26 mg/100 g y coincide con lo obtenido en este estudio ya que no fue detectado, y esto pudiera deberse a que este forraje fue procesado seco o en su caso tenía un tiempo prolongado de almacenamiento.

El cuantificar la vitamina E y A, así como obtener la composición proximal del alimento, nos permitió conocer cuáles de los alimentos y/o pastos proveían

mayor cantidad de vitaminas y proteínas. Sin embargo es importante aclarar que en este estudio no se evaluó el consumo de alimento y así poder tener una correlación objetiva y cuantificable de estas vitaminas con los valores séricos. El propósito de este trabajo fue realizar un diagnóstico de la prevalencia de mastitis y su relación con los nutrimentos evaluados bajo las condiciones de producción (ambientales, nutricionales manejo etc.) sin modificarlas.

7. CONCLUSIÓN

En los ranchos evaluados en la cooperativa de Cobachi, Sonora, se encontró en el verano una prevalencia de mastitis elevada (40%) en el ganado de ordeña, mientras que en invierno la prevalencia de mastitis disminuyó en un 20% respecto al verano.

Un alto porcentaje (> 50%) de los animales muestreados en ambas épocas del año presentaron deficiencias de vitaminas E y A. Sin embargo, no se encontró una relación entre la prevalencia de enfermedad de mastitis con respecto a deficiencias para ambas vitaminas E y A en el ganado de ordeña.

La práctica de suplementar vitaminas ADE mediante una sola inyección intramuscular a los animales en este estudio, no mejoró los niveles séricos de dichas vitaminas.

BIBLIOGRAFÍA

- Akyuz, A., Boyaci, S. y Cayli A. 2010. Determination of critical period for dairy cows using temperature humidity index. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 9 (13): 1824-1827.
- AOAC. 2011. *Official Methods of Analysis of AOAC. Analytical Chemists. 18th Edition.*
- Arauz, E. E. 2011. La mastitis subclínica y su influencia en la producción, calidad economía lechera y medidas de manejo estratégico para su prevención y control apropiado. http://www.engormix.com/MA-ganaderia-leche/sanidad/articulos/mastitis-subclinica-t3590/165_p0.htm. Accesada 1-mayo-2013.
- Armstrong, D. V. 1994. SYMPOSIUM: NUTRITION AND HEAT STRESS. Heat Stress, Interaction with Shade and Cooling. *J Dairy Sci* 77:2044-2050.
- Ballou, M. A. 2011. Growth and development symposium: inflammation: role in the etiology and pathophysiology of clinical mastitis in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 90:1466-1478.
- Bedolla, C. C. 2007. Métodos de detección de la mastitis bovina. *REDVET: 2007, Vol. VIII N° 9.*
- Bourne, N., Wathes, D. C., Lawrence, K. E., McGowan, M. y R.A. Laven, R. A. 2008. The effect of parenteral supplementation of vitamin E with selenium on the health and productivity of dairy cattle in the UK. *Veterinary journal* (London, England : 1997) 177(3):381-387.
- Calderón, A. y Rodríguez, V., C. Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia). *Rev Colomb Cienc Pecu* 2008; 21:582-589.
- Castillo, M., Suniaga, J., Rojas, G., Hernández, J., Caamaño, J., Urbina, A. y Tovar, L. 2009. Estudio de prevalencia de mastitis subclínica en la zona alta del estado Mérida. *Agricultura Andina / volumen 16.*

- Chase C., C., L. 2012. The activation of the immune system – it doesn't get a free ride. Proceedings of the 27th Annual Southwest Nutrition and Management Conference. The University of Arizona Department of Animal Sciences.
- Chihuailaf, R., H., González, S.,C., Wittwer, F. y Contreras A. P. 2008. Plasma retinol concentration in grazing heifers: First data obtained from a dairy herd in the south of Chile. Arch. Med. Vet. 40, 65-68.
- Collier, R., J. Rungruang, S., Zimbleman, R., B. and Hall, L., W. 2012. Metabolic implications of heat stress. Proceedings of the 27th Annual Southwest Nutrition and Management Conference. The University of Arizona Department of Animal Sciences.
- Deb, R., Kumar, A., Chakraborty, S., Kumar Verma, A., Tiwari, R., Dhama, K., Singh, U. y Kumar S. 2013. Trends in diagnosis and control of bovine mastitis: a review. Pakistan journal of biological science 16 (23): 1653-1661.
- Dosogne, H., Vangroenweghe, F., Mehrzad, J., Massart-Leen, A. M. y Burvenich, C. 2003. Differential leukocyte count method for bovine low somatic cell count milk. J. Dairy Sci. 86:828–834.
- El-Sayed, A., Alber, J., Lämmler, C., Jâguer, S., Zschöck, M., Wolter, W. y Castañeda-Vazquez, H. 2006. Estudio comparativo de las características genotípicas de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de casos de mastitis clínica y subclínica en México. Vet. Méx, 37 (2) 165-179.
- Finocchiaro, R., van Kaam, J. B. C. H. M. y Portolano, B. 2007. Effect of weather conditions on somatic cell score in Sicilian Valle del Belice ewes. ITAL.J.ANIM.SCI. VOL. 6 (SUPPL. 1), 130-132.
- Gerlach, B. F. A., Ayala Álvarez, F., Denogean, B. F. G., Moreno Medina, Gerlach B. L. E. 2009. Incidencia y costo de la mastitis en un establo del municipio de Santa Ana, Sonora (parte A). Revista Mexicana de Agronegocios, vol. XIII, núm. 24, enero-junio, 2009, pp. 789-792,
- Guízar, P., Ignacio, J., Cedeño, B., Carlos J., L. Determinación de la prevalencia de mastitis bovina en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, mediante la

prueba de California. Revista electrónica de Veterinaria 1695-7504, Volumen IX Número, 10 1-34.

- Hammami, H., J. Bormann, J., M'hamdi, N., Montaldo, H.H. y Gengler, N. 2013. Evaluation of heat stress effects on production traits and somatic cell score of Holsteins in a temperate environment. *J. Dairy Sci.* 96: 1844–1855.
- Hegde, R., Isloor, S., Prabhu, K. N., B. Shome, B. R., Rathnamma, Suryanarayana, D. V. V. S., Yatiraj, S., Renuka Prasad, C., Krishnaveni, N., Sundareshan, S., Akhila, D. S., Gomes, Nagendra, A. R. y Hegde, R. 2013. Incidence of subclinical mastitis and prevalence of major mastitis pathogens in organized farms and unorganized sectors. *Indian J Microbiol* (July–Sept 2013) 53(3):315–320.
- Heinrichs, A., J., Costello, S., S. y Jones, C., M. 2009. Control of heifer mastitis by nutrition *Vet. Micro.* 134 (2009) 172–176.
- Hernández, J., M. y Bedolla, J., L. 2008. Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. *Revista electrónica veterinaria*. Vol. IX num. 9: 1695-7504.
- Hess, D., Keller, H., E., Oberlin, B., Bonfanti, R. y Schüep, W. 1991. Simultaneous determination of retinol, tocopherols, carotenes, and lycopene in plasma by means of high-performance liquid chromatography on reversed phase. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* 61: 232-238.
- Intini, M., Calamari, L., Ferrari, A. y Stefanini, L. 2003. Effects of the availability of an external area on dairy cows welfare during summer period. *Ital. J. Anim. Sci.* Vol. 2, 308-310.
- Johansson, B., Persson Waller, K., Jensen, S. K., Lindqvist, H. y Hadesu, E. 2014. Vitamin E and β -caroteno status and health in organic dairy cows fed a diet without synthetic vitamins. *J. Dairy Sci.* 97: 1-11.
- Kennedy, B., S. 1999. Thermoregulation and effects of heat stress on dairy cattle. Mississippi State University College of Veterinary Medicine production medicine graduate program.

- LeBlanc, S. J. Duffield, T. F., Leslie, K. E. Bateman, K. G. TenHag, J., Walton, J. S. y Johnson, W. H. 2002. The effect of prepartum injection of vitamin E on health in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:1416–1426.
- LeBlanc, S., J., Herdt, T., H., Seymour, W M., Duffield, T., F. y Leslie, K., E. 2004. Peripartum serum vitamin E, retinol, and Beta-carotene in dairy cattle and their associations with disease. *J. Dairy Sci.* 87:609–619.
- Lindqvist, H. 2012. α -Tocopherol and β -Carotene in forages and their utilization by dairy cows in organic production. Doctoral thesis Swedish University of Agricultural Sciences Skara.
- McDowell, L., R., Williams, S., Hidioglou, N., N., Njeru, C., A., Hill, G., M., Ochoa, L., Wilkinson, N., S. 1996. Vitamin E supplementation for the ruminant. *Animal Feed Science and Technology* Volume 60, Issues 3–4, 273–296
- Meglia, G., E., Holtenius, K., Petersson, L., Öhagen P. and Waller, K., P. 2004. Prediction of vitamin A, vitamin E, selenium and zinc status of periparturient dairy cows using blood sampling during the mid-dry period. *Acta Vet. Scand.*, 45, 119-128.
- Mejía, L. A., Hudson, E., González de Mejía y Vázquez, F. 1988. Carotenoid content and vitamin A activity of some common cultivars of mexican peppers (*Capsicum annum*) as determined by HPLC. *Journal of Food Science.*, 53 (5):1448-1451.
- Morse, D., Delorenzo, M. A. Natzke, R.P. y Bray, D. R. 1987. Factors affecting days of discarded milk due to clinical mastitis and subsequent cost of discarded milk. *J Dairy Sci* 70:2411-2418.
- Mukherjee, R. 2008. Selenium and vitamin E increases polymorphonuclearcell phagocytosis and antioxidant levels during acute mastitis in riverine buffaloes. *Vet. Res. Commun.* 32: 305–313.
- Mukherjee, R., Jadhav, R., K. Ujjwal K. 2010. Expression of L selectinmolecul on peripheral leukocyte in response to nisin treatment during acute bovine mastitis. *Veterinaski Arhiv.* 80 (3), 355-364.

NMC (National Mastitis Council) (2013). <http://nmconline.org/contmast.htm>.
Accesado el 1-mayo-2013.

Nutrient Requirements of Dairy Cattle (NRC). Seventh Revised Edition, 2001.

Oldham, E. R. Eberhart, J. y Muller L. D. 1991. Effects of supplemental vitamin a or β -carotene during the dry period and early lactation on udder health. Journal of Dairy Science Vol. 74, No. 11.

Ombiro, O. J., Ogore, P. B., Shakala, E. K. y Kaburu, G. M. 2013. Prevalence of bovine mastitis, its therapeutics and control in Tatton Agriculture Park, Egerton University, Njoro District of Kenya. Basic Research Journal of Agricultural Science and Review ISSN 2315-6880 Vol. 2(1) pp. 15-20.

Persson Waller, K., Halle'n Sandgren, C., Emanuelson, U. y Jensen, S. K. 2007. supplementation of *RRR*- α -tocopheryl acetate to periparturient dairy cows in commercial herds with high mastitis incidence. J. Dairy Sci. 90:3640-3646.

Politis, G., Theodorou, A., D., Lampidonis, A., Kominakis, A. 2012. Short communication: oxidative status and incidence of mastitis relative to blood α -tocopherol concentrations in the postpartum period in dairy cows. Journal of Dairy Science, 95, 12: 7331-7335.

Puls R., 1994. Serum vitamin levels. In: Vitamin levels in animal health. Edited by PULS R., Canada, Sherpa International Publishing House. Pp. 11-33.

Quintela, L., A., Díaz, C., Becerra, J., J., Alonso, G., Gracia, S. y P.G. Herradón, P., G. 2008. Papel del β -caroteno y la vitamina a en la reproducción en el ganado vacuno: revisión. Información Técnica Económica Agraria, 104, 3: 399-410.

Resende, D. 2010. Mastitis, mammary gland immunity, and nutrition mid-south ruminant nutrition conference Arlington, Texas.

Rezamand, P., Hoagland, T. A., Moyes, K. M., Silbart, L. K. y Andrew S. M. 2007. Energy status, lipid-soluble vitamins, and acute phase proteins in periparturient holstein and jersey dairy cows with or without subclinical mastitis. J. Dairy Sci. 90:5097-5107.

- Schalm, O. W. y Noorlander, D., O. 1957. Experiments and observations leading to the development of the California mastitis test. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 130: 199.
- Schroeder, J. W. 1997. Bovine mastitis and milking management. *NDSU Extension Service AS-1129*, 1-12.
- Schüep, W. 1997. Análisis de vitaminas en alimentos. <http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/AH833S19.htm>. Accesada el 1-junio-2013.
- Sejian, V., Singh A., K., Sahoo, A. y Naqvi, S., M., K. 2013. Effect of mineral mixture and antioxidant supplementation on growth, reproductive performance and adaptive capability of Malpura ewes subjected to heat stress. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 1-12.
- Sharma, N. Singh, N. N. K. y Bhadwal, M. S. 2011. Relationship of somatic cell count and mastitis: an overview. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 24, 3: 429 – 438.
- Smith, K., L., Hogan, J., S. y Weiss, W., P. 1997. Dietary vitamin E and selenium affect mastitis and milk quality. *J. Anim. Sci.* 1997, 75:1659-1665.
- Sordillo, L., M. 2012. Oxidative stress, trace mineral, and mastitis in dairy cows. *Proceedings of the 27th Annual Southwest Nutrition and Management Conference*. The University of Arizona Department of Animal Sciences.
- Spears, J., W. y Weiss, W., P. 2008. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *The Veterinary Journal* 176, 70–76.
- Van De Weyer, L., M., Hendrick, S. y Waldner, C., L. 2010. Serum micronutrient concentrations in beef cows before and after the summer grazing season. *Can. J. Anim. Sci.*, 90: 563-574.
- Van Ryn, M. 2009. Relationship of copper, zinc and selenium status with udder health and mastitis incidence in the cal poly holstein herd. *Dairy Science Department College of Agriculture, Food and Environmental Sciences California Polytechnic State University San Luis Obispo*.

- Villamar, L. y Olivera E. Situación actual y perspectiva de la producción de leche de bovino en México 2005, Coordinación General de Ganadería SAGARPA. México 2005, Pág.4.
- Tanton, M. 2011. Heat stress and the dairy cow. Technical Sales Executive Hydor Ltd. 1-8.
- Tongel, Broucek, J. 2010. Influence of hygienic condition on prevalence of mastitis and lameness in dairy cows. Slovak J. Anim. Sci., 43, 2010 (2): 95–99.
- Thompson, I. M. y Dahl, G. E. 2012. Dry-period seasonal effects on the subsequent lactation. The Professional Animal Scientist 28: 628–631.
- Turner, K. E. McClure, K. E. Weiss, W. P. Borton, R. J. y Foster, J. G. 2002. Alpha-tocopherol concentrations and case life of lamb muscle as influenced by concentrate or pasture finishing. J. Anim. Sci. 80:2513–2521.
- Weiss, W., P. 2010. Department of Animal Sciences Ohio Agricultural Research and Development Center. <http://www.extension.org/pages/23382/antioxidant-nutrients-and-milk-quality>. Accesada el 30-abril-2013.
- Yildiz, H., Kaygusuzoğlu, E. y Kizil, Ö. 2005. Concentrations of serum vitamins A, E and C and β -carotene during pregnancy in cows. Bull Vet. Inst. Pulawy. 49, 199-202.