

01672  
10



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN HIPODÉRMICA  
DE SELENIO EN LA SALUD DE LA GLÁNDULA  
MAMARIA**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
**MAESTRO EN CIENCIAS**  
P R E S E N T A :  
**EUGENIO ISMAEL OLGUIN PRADO**

Tutor principal: Dr. René Rosiles Martínez  
Comité tutorial: Dr. Juan de Dios Garza Flores  
Dr. Salvador Avila Téllez



México, D. F.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

2002



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## DEDICATORIAS

**La felicidad no llega cuando hacemos lo que nos gusta, sino cuando nos gusta lo que hacemos.**

A mis padres que han apoyado mi formación en todos los aspectos de mi vida, por su ejemplo, en la constancia para lograr los objetivos de la vida.

A mi esposa Adriana y a mis hijos Chelino, Adrianita y Verito, por permitirme seguir superándome y tomar parte de su tiempo.

Así como a mis hermanos Yolanda, Esperanza, Leonardo, Javier, Rosa Delia, Benjamín y a todos mis familiares, por su apoyo.

Que Dios les bendiga a todos

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por proporcionarme la beca para concluir mis estudios de Maestría.

A la Unidad de Posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, por los cursos impartidos, muy en especial al laboratorio de toxicología por el apoyo brindado en este estudio.

Al Dr. René Rosiles Martínez, Dr. Salvador Ávila Téllez y Dr. Juan de Dios Garza Flores, por haber colaborado para la elaboración de un protocolo y la escritura final de esta tesis, brindándome su confianza, apoyo, amistad y su tiempo.

Al Dr. Jorge Tortora Pérez, Dr. Carlos Sosa Ferreira, por sus valiosas sugerencias para la escritura final del presente trabajo, además a todos los catedráticos que apoyaron mi formación.

Al MVZ. José Luis Gallardo Nieto, Coordinador General de Ganadería, por darme la oportunidad y el tiempo para concluir mis estudios de Maestría.

Al M.C. Gregorio Villegas Durán, Director General de COTECOCA por darme la oportunidad, confianza y apoyo, para realizar los estudios de esta Maestría.

A mis compañeros de trabajo en COTECOCA, en especial al Dr. Arturo Bolaños Medina, Director de Agostaderos y Praderas, Rogelio, Adrián, Guillermo, Ramón, Pablo, Rafael y Víctor.

Al Dr. Carlos Vázquez Peláez, Dr. Marcelo Pérez Domínguez, M.C. Abner Josue Gutiérrez Chávez, MVZ Miguel Ángel Castillo, por su desinteresada y gran ayuda en la elaboración de este trabajo experimental.

Al Ing. Fernando León Alfaro y familia, por el apoyo recibido durante la fase experimental del presente trabajo en su rancho, así como a todo el personal que en el labora.

Al Dr. Javier Flores Covarrubias, un pilar sin duda alguna para la Unidad de Posgrado y estudiantes de Maestría.

**Gracias**  
**Eugenio Ismael Olguin Prado**

## DECLARACIÓN

El autor da consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que esta tesis este disponible para cualquier tipo de intercambio bibliotecario.



Eugenio Ismael Olguin Prado

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## ÍNDICE

	Página
<b>RESUMEN</b> .....	<b>IV</b>
<b>ABSTRAC</b> .....	<b>VI</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	<b>X</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>XI</b>
<b>II. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
2.1 ANTECEDENTES .....	1
2.2 REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.2.1 SITUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE LECHE EN MÉXICO .....	4
2.2.2 SITUACIÓN SANITARIA DE LA LECHE EN MÉXICO .....	4
2.2.3:1 Efecto del Se y la vitamina E, en la salud de la glándula mamaria .....	8
2.2.3:2 Deficiencia de Se en el suelo, plantas y animales .....	10
2.2.3:3 Toxicidad del Se.....	12
2.2.3:4 Metabolismo del Se en los rumiantes .....	13
2.2.3:5 El selenio y la glutatión peroxidasa (GSH-Px).....	16
2.2.3:6 Funciones de la GSH-Px y vitamina E .....	17
2.2.4 LAS CÉLULAS SOMÁTICAS .....	19
2.2.4:2 Cuenta somática normal .....	25
2.2.4:3 Cuenta de células somáticas en vacas individuales .....	25
2.2.4:4 Cuenta de células somáticas en vacas sanas .....	26
2.2.4:5 Diferencia entre glándulas mamarias.....	26
2.2.4:6 Vacas primíparas y multíparas.....	26
2.2.4:7 Fase de la lactación .....	26
2.2.4:8 Estación .....	27
2.2.4:9 Variaciones diarias.....	27
2.2.4:10 Tensión .....	27
2.2.4:11 Lesiones en los pezones y en la ubre .....	27
2.2.5 MASTITIS .....	27
2.2.5:1 Clasificación de la mastitis .....	29
2.2.5:2 Disminución de la producción láctea asociada con CCS elevadas .....	31
2.2.5:3 Costos de la mastitis bovina .....	31
2.2.5:4 Efecto de la mastitis en la elaboración de derivados lácteos .....	32
2.3. OBJETIVO GENERAL .....	34
2.3.1 Objetivos específicos .....	34
<b>III. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>35</b>
3.1 UBICACIÓN.....	35

3.2 INTEGRACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS .....	35
3.3 ALIMENTACIÓN .....	36
3.4 TOMA DE MUESTRAS .....	38
3.5 DETERMINACIÓN DE SELENIO EN SANGRE Y EN RACIÓN. ....	39
3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	41
<b>IV. RESULTADOS.....</b>	<b>42</b>
4.1 CONCENTRACIÓN DE SELENIO.....	42
4.2 CUENTA DE CÉLULAS SOMÁTICAS .....	47
4.3 MASTITIS SUBCLÍNICA .....	51
4.4 MASTITIS CLÍNICA .....	51
4.5 CORRELACIÓN ENTRE SELENIO Y CÉLULAS SOMÁTICAS .....	52
<b>V. DISCUSIÓN.....</b>	<b>55</b>
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>62</b>
<b>VII. REFERENCIAS.....</b>	<b>64</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Requisitos químicos, bacteriológicos y de temperatura de leche pasteurizada preferente especial, establecidos en México.....	7
Cuadro 2. Tipos de células en leche normal de bovinos.....	20
Cuadro 3. Pérdidas de leche de vacas individuales y hatos enteros en relación con la cuenta de células somáticas. <sup>111</sup> .....	22
Cuadro 4. Relación entre la cuenta de células somáticas en leche de tanque, porcentaje de glándulas infectadas y porcentaje de pérdida en producción. ....	22
Cuadro 5. Pérdidas económicas por vaca producidas por mastitis clínica .....	32
Cuadro 6. Interpretación de la Prueba de Wisconsin.....	40
Cuadro 7. Cuadrados medios para la variable; Concentración de Se en ng. ....	43
Cuadro 8. La media de los cuadrados y errores estándar de los efectos de tratamiento, número de parto, salud de la ubre y periodo para las variable; selenio expresado en ng. ....	44
Cuadro 9. La media de los cuadrados y errores estándar de los efectos de tratamiento, número de parto, salud de la ubre y periodo para las variables; cuenta de células somáticas transformadas a log <sub>10</sub> (CCS).....	48
Cuadro 10. Cuadrados medios para la variable; Cuenta de células somáticas (CCS) transformadas a log <sub>10</sub> . ....	49



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Concentración de selenio en sangre en vacas Holstein que fueron suplementadas vía hipodérmica a 60 y 30 días preparto (Tratamiento 1), 30 días preparto (Tratamiento 2) y no suplementadas (Testigo) en el Valle del Mezquital, Hgo. ....	45
Figura 2. Concentración de selenio sanguíneo en vacas Holstein suplementadas por vía hipodérmica a 60 y 30 días preparto (Tratamiento 1), 30 días preparto (Tratamiento 2) y no suplementadas (Testigo) por número de parto.....	45
Figura 3. Concentración de selenio en la ración alimenticia de vacas Holstein en el Valle del Mezquital, Hgo. ....	46
Figura 4. Cuenta de células somáticas por tratamiento en las diferentes etapas productivas.....	50
Figura 5. Células somáticas en leche de vacas agrupadas por el número de parto que recibieron selenio vía hipodérmica medidas por la Prueba de Wisconsin, transformadas a $\log_{10}$ .....	50
Figura 6. Correlación entre la CCS y la Concentración de Se sanguíneo de vacas suplementadas con selenito de sodio vía hipodérmica los días 60 y 30 preparto ( $P < 0.01$ ).....	53
Figura 7. Correlación de la concentración sanguínea de selenio y la cuenta de células somáticas en leche al finalizar la lactancia de todos los animales experimentales ( $P < 0.05$ ).....	53
Figura 8. Correlación entre la CCS y Se sanguíneo en vacas con ubres sanas ( $P < 0.05$ ).....	54
Figura 9. Correlación entre la CCS y Se sanguíneo en vacas de segundo parto ( $P > 0.05$ ).....	54

## **EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN HIPODÉRMICA DE SELENIO EN LA SALUD DE LA GLANDULA MAMARIA**

### **RESUMEN**

Con el propósito de estimar la correlación entre la concentración sanguínea de Selenio (Se) aplicado por vía parenteral y el estado de salud de la glándula mamaria, en sus condiciones de: sana, subclínica y enferma, diagnosticada mediante la Prueba de Wisconsin Modificada; se realizó un estudio en 42 vacas de raza Holstein Friesian multíparas ubicadas en el municipio de Atitalaquia, Estado de Hidalgo; todas las vacas contaban con 7 meses de gestación, se observaron sus 4 glándulas mamarias funcionales y al terminar la lactancia todas las glándulas recibieron tratamiento preventivo al infundirles cefapirina benzatínica a dosis de 300 mg/glándula mamaria.

Se formaron tres grupos de 15, 14 y 13 vacas, los cuales se observaron por un periodo de 6 meses, con la finalidad de probar dos tratamientos y se dejó el grupo 3 como testigo sin ningún suplemento. Al grupo 1 se le administró 50 mg de selenito de sodio y 680 U.I. de vitamina E al finalizar la lactación y la dosis se repitió 30 días antes del parto. El grupo 2 solamente recibió 50 mg de Selenito de Sodio y 680 U.I. de vitamina E, 30 días antes del parto; en tanto que el grupo testigo no fue tratado.

En un diseño de bloques al azar fue utilizado el procedimiento de Modelo Lineal Generalizado (GLM, por sus siglas en inglés), asimismo, se analizó la correlación entre el contenido de selenio sanguíneo con los parámetros de respuesta de la glándula mamaria. Se observaron los efectos de los tratamientos en los periodos de aplicación basados en la concentración de Se en la sangre ( $P < 0.01$ ) y la salud de la ubre en los periodos de tratamiento, mismos que mostraron cambios en la cuenta de células somáticas (CCS) ( $P < 0.01$ ). En los grupos tratados no se encontraron efectos significativos sobre la CCS. Por su parte, el grupo 1, demostró una correlación inversa ( $r = -0.46$ ) ( $P < 0.01$ ) entre la concentración sanguínea de

Se y la CCS; por periodo de producción el día 60 preparto se observó ( $r = - 0.35$ ) ( $P < 0.05$ ), por estado de salud las glándulas mamarias sanas ( $r = - 0.22$ ) ( $P < 0.05$ ) y las vacas de segundo parto ( $r = - 0.32$ ) ( $P < 0.05$ ). También se analizó el contenido de Se en las raciones las cuales resultaron deficientes. Las vacas suplementadas presentaron menos casos de mastitis clínica y subclínica, además de menor duración del padecimiento que las vacas del grupo testigo. Con base en los resultados obtenidos, se concluye que no se alcanzaron las concentraciones adecuadas de Se en la sangre, sin embargo, a pesar de no lograr la óptima concentración de Se, se pudo observar que la tendencia en las vacas estudiadas fue de disminuir la CCS y la frecuencia de mastitis clínica y subclínica fue menor, siendo también menor la duración de la infección en la glándula mamaria. Por lo anterior, se requiere estudiar la aplicación parenteral de Se a diversas dosis y de acuerdo a la etapa productiva de las vacas lecheras.

Palabras claves: **SELENIO, GLÁNDULA MAMARIA, CUENTA SOMÁTICA, MASTITIS.**

## EFFECT OF SELENIUM HYPODERMIC SUPPLEMENT IN UDDER HEALTH

### ABSTRAC

In order to find out the effects of parenteral selenium (Se) supplementation in dairy cows suffering of mastitis. An experiment was performed to correlate blood Se concentration versus severity of mastitis. Severity of mastitis was followed during experiment by clinical signs identification in the udder and somatic cells count in milk. Forty two Friesian dairy cows were randomly assigned to 3 groups: 1, control (13 cows ); group 2 (14 cows) receiving 50 mg Se and 681 vitamin "E" /animal (as sodium selenite) at the end of lactation and 30 days before parturition. Group 3 (15 cows), received 50 mg Se and 681 IU vitamin E/cow 30 days before parturition. To evaluate results of this experiment: correlation index between blood Se concentration versus incidence of mastitis were as follows: blood selenium concentration in selenium supplemented cows compared to control group had a  $P < 0.01$ . Milk somatic cells count was not different between selenium treated groups. Correlation index between somatic cells count in milk versus blood selenium concentration was:  $r = -0.46$  and  $P < 0.01$  in group number 1 during experimental period, but groups 2 and 3 had no statistical difference.

A negative correlation index was observed when low blood Se concentration correlated to high milk somatic cell count in udder:  $r = -0.22$  and  $P < 0.05$  at the beginning of experiment, (60 days prepartum). A negative correlation index was found when close to adequate blood selenium concentration correlate to low milk somatic cells count. Wherever second parturition was taken in account to correlate blood selenium concentration to milk somatic cells count had an  $r = -0.32$   $P < 0.05$ , indicating an opposed response in these parameters. Se content in cows feed ratio was below standards needs for lactating cows. Cows receiving parenteral selenium presented less incidence, as well as shorter duration of clinically identified mastitis. According to these results, it is concluded that blood selenium concentration in milking cows receiving the above Se supplementation before parturition is not

enough to reach standard blood selenium concentration. The above parenteral selenium supplementation has to be adequate to dairies cow during the lactation period.

**Keywords:SELENIUM, MAMMARY GLAND, SOMATIC CELL COUNT, MASTITIS**

## II. INTRODUCCIÓN

### 2.1 Antecedentes

Una adecuada nutrición es esencial para la salud animal y así obtener óptimos niveles de producción. El aporte mineral junto con los demás nutrimentos se deben incrementar durante la producción láctea, por encima de los empleados cuando las vacas se encuentran en descanso lactacional.

Generalmente el aporte mineral se realiza bajo condiciones naturales, ya que las plantas forrajeras lo extraen del suelo, tal como sucede con el fósforo y en particular el selenio (Se); como es conocido, algunos suelos de la República Mexicana son deficientes en Se, por lo que en la mayoría de los casos los diferentes forrajes no cubren los requerimientos nutricionales y dan paso a la suplementación mineral, la cual se puede aplicar por diversas vías, siendo la más común la oral, mediante la incorporación de los elementos a la ración, o bien por medio de la administración de bolos intrarruminales que contienen uno o varios minerales deseados,<sup>2</sup> asimismo, se utiliza la vía parenteral. Si bien la falta de minerales conduce a un desequilibrio nutricional, el abuso de esta práctica genera un aumento en los costos de producción y pérdida de recursos económicos.<sup>3</sup>

El Selenio ha sido reconocido como un ingrediente esencial en la ración de muchos seres vivos, aunque antes de que se descubriera su metabolismo, se identificaba como un elemento tóxico.<sup>4,5</sup> Desde 1935, se le identificó como el factor dañino del forraje que causaba una enfermedad peculiar del ganado conocida como "Enfermedad del Alkali" o "Ceguera Vacilante".<sup>5</sup>

En el sentido opuesto, cuando la dieta del ganado no satisface los requerimientos de Se, la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos de América (FDA, por sus siglas en inglés) (1979), así como el Consejo Nacional de Investigación (NCR, por sus siglas en inglés) (1987), señalan la conveniencia de suplementar las dietas con 0.3 ppm de Se por kg de materia seca (MS).<sup>6,7,8</sup>

En Bovinos la concentración plasmática de Se se clasifica como deficiente, cuando es menor de 40ng/ml, marginal de 40 a 70, y adecuado con más de 70; asimismo, las concentraciones de Se en el plasma, no deben ser menores a 0.075 ug/ml (0.20 ug/ml para sangre completa).<sup>6</sup>

Otro aspecto importante es la adecuada concentración de Se en la sangre, debido a la correlación con la actividad de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px), que es seleno dependiente y se le atribuyen papeles antioxidantes junto con la vitamina E. La actividad de la GSH-Px y de la vitamina E, es degradar o evitar la formación de los peróxidos y así facilitar la eficiencia de la fagocitosis.<sup>9,14</sup>

La GSH-Px destruye los peróxidos tóxicos o radicales de oxígeno libres dentro del citosol, mientras que la vitamina E actúa como un componente de la membrana celular y evita la formación de los peróxidos tóxicos al proteger a los ácidos grasos.<sup>9,12,14</sup>

Los peróxidos y otras formas de oxígeno reducidas, son sustancias esenciales en el proceso de muerte bacteriana intracelular, posterior a la fagocitosis; sin embargo, el exceso de peróxidos también daña la fagocitosis.<sup>9,14</sup>

Otra de las actividades del Se y de la vitamina E, ha sido denominada como acción antioxidante, porque cuando está presente en concentraciones pequeñas comparada con el sustrato oxidable, significativamente reduce o previene la oxidación de ese sustrato. Los antioxidantes actúan biológicamente como aceptores de oxígeno (O) con diferentes radicales como el ion superóxido (O<sub>2</sub>), peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), hidroxil (OH), tiol (HOCl), ferril, peroxidil, alcoxil, previniendo su formación o reportando el daño causado por los radicales.<sup>141</sup> La actividad de los micronutrientes, dependiendo de su conformación química, actúan como antioxidantes formando parte de las membranas, como aceptores de radicales libres tanto en la cara externa como en la interna de la célula y de los organelos.<sup>142</sup> En el sistema enzimático funcionan como parte de la enzima o como activadores, también ha sido demostrada por la correlación inversa entre la concentración sanguínea de

éstos y el número de células somáticas en leche.<sup>13</sup> El Se y la vitamina E, favorecen la función fagocítica de los neutrófilos, mejorando los mecanismos de defensa de la glándula mamaria.

La cuenta de células somáticas (CCS), es un reflejo de la salud de la glándula mamaria y cuando ésta pasa por encima de las 300,000/ml, sugiere la presencia de mastitis subclínica o clínica, acompañada de un proceso inflamatorio que tiene efectos negativos sobre la producción de leche y por lo tanto, representa pérdidas económicas.<sup>13,94</sup>

Se ha encontrado que las vacas con una CCS en la leche inferior a 300,000/ml, tienen una mayor vida productiva; en contraste, la leche de vacas con una CCS superior a 400,000/ml, además de indicar el proceso inflamatorio de la glándula, se sabe que contiene menos elementos deseables como lactosa, proteína y grasa, y que se eleva la cantidad de componentes indeseables como la enzima plasmática que degrada la proteína láctea y sustancias químicas como histamina, entre otros.<sup>94,121</sup> En consecuencia, cuando la leche con una CCS alta (>400,000/ml de leche) es usada para la elaboración de quesos, el rendimiento y la calidad de estos lácteos disminuye.<sup>1,14,121</sup>

La literatura ratifica el uso de la CCS presentes en la leche como un indicador del estado de salud de la ubre y de la calidad de la leche.<sup>1</sup>

La identificación del estado de salud de la glándula mamaria de las vacas lecheras puede hacerse de varias formas: lo primero para el médico veterinario es la apreciación clínica identificada por los signos de la inflamación y el segundo con la ayuda de los análisis de laboratorio, en las que se incluyen las pruebas de Wisconsin y de California, que se realizan al lado de la vaca para detectar mastitis clínica y la CCS.<sup>140</sup>

Con relación a la serie de puntos antes mencionados, se justifica la necesidad de proveer la suplementación de elementos como el Se a los animales en producción, dado que este elemento participa principalmente en el fortalecimiento de los mecanismos de defensa del organismo, especialmente de la glándula mamaria al inicio de su producción.



## 2.2 Revisión de literatura

### 2.2.1 Situación de la producción de leche en México

Las estadísticas muestran que a pesar del decremento del hato durante la segunda mitad de la década de los años 80, la producción de leche en México registró un incremento acumulado del 88 %, en el período comprendido entre 1970 y 1999<sup>15,16</sup>, a pesar de las adversidades que ha enfrentado.

A pesar del incremento, el sector productivo lechero sigue estando a la zaga con relación a la demanda de leche, ya que la población mexicana aumentó de 48.2 millones de habitantes en 1970 al estimado de 100 millones para el año 2000.<sup>17</sup>

Por ello, el país tiene que importar grandes volúmenes de leche en polvo, utilizados por la industria y los programas gubernamentales de asistencia social; esto convierte a México en el sexto país importador de leche entera en polvo en el mundo, con compras de 45 mil toneladas anuales y primer lugar entre los países importadores de leche descremada en polvo con 110 mil toneladas para el año de 1999.<sup>10,15,143</sup> Si se considera el volumen de producción actual y el censo poblacional, existe una disponibilidad de leche por habitante de solo 236 ml/día, estimándose un consumo *per capita* de lácteos en México de 302 ml/día; ésta cifra es inferior al mínimo recomendado por la FAO de 500 ml/día, mientras que el Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" recomienda 337 ml/día.<sup>10</sup>

### 2.2.2 Situación sanitaria de la leche en México

Para competir en el mercado internacional de la leche, México requiere de un producto de calidad y reducir sus costos de producción, por lo que es necesario controlar las enfermedades del ganado, entre estas la mastitis ya que el hacerlo, da oportunidad a los ganaderos de obtener una mayor plusvalía de su inversión.<sup>18</sup>

De glándulas mamarias sanas se obtiene una mayor y mejor producción de leche de calidad, así la industria de lácteos obtiene mejores rendimientos al procesarla como queso, yogur y mantequilla, y da al consumidor la seguridad

de alimentarse con leche de buen sabor y en los comercios aumentar la vida de anaquel, debido a bajas cuentas de bacterias, células somáticas, no antimicrobianos, antibióticos, contaminantes químicos y adulteración con agua. Pérez (1996),<sup>19</sup> menciona que hasta 1993 las leches de México se encontraban bajo las siguientes condiciones:

1. Detectó la presencia de antibióticos en casi el 100 % de las leches comerciales envasadas en diferentes presentaciones, leche en polvo, pasteurizada y ultrapasteurizada, y en derivados tales como el queso, crema y mantequilla. Prácticamente todos los antibióticos disponibles para el tratamiento de las vacas fueron encontrados en niveles variables.
2. El análisis bacteriológico efectuado a un poco menos del 10% de las leches comerciales con categoría de pasteurizada, que fueron muestreadas, indicó que solamente alrededor del 50% cumplía con el reglamento sanitario, y contenían menos de 30,000 bacterias por ml. En muchas leches los conteos efectuados eran mayores a 100,000 y en ningún caso se encontró leche pasteurizada con menos de 5,000 colonias de bacterias por ml.
3. En el muestreo y análisis de leches de tanque, encontró que el 45% de las leches analizadas presentaba una CCS de más de 1'000,000/ml, el 30% entre 700,000 y 1'000,000/ml, el 20% entre 300,000 y 700,000/ml y sólo el 5% mostró una CCS menor a 300,000/ml.

La leche con CCS elevadas tiene sabor anormal porque las proteasas y lipasas de las células somáticas, desnaturalizan la caseína y dañan la grasa de la leche y le dan un sabor anormal. La degradación de la proteína en la leche se incrementa a medida que la CCS se eleva y ha sido demostrado que la degradación continúa a través del tiempo, a medida que es procesada y almacenada.<sup>18,114,116,117,118</sup>

En el Cuadro 1, se enlistan los requisitos químicos, bacteriológicos y de temperatura de leche pasteurizada preferente especial, establecidos en México (Pérez, 1996).<sup>19</sup>

Una leche de calidad, puede ser definida como la que no tiene sabores extraños, olores objetables, residuos de antibióticos, agua agregada u otros adulterantes, tiene una cuenta bacteriana baja, cuenta psicrófila baja y una cuenta de células somáticas baja.<sup>20</sup>

Es necesario proporcionar a las vacas una buena ración alimenticia que cubra las necesidades nutricias que demandan sus altas producciones, en proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas, minerales, entre estos el selenio, agua limpia y fresca, así como un buen manejo enfocado al confort en los corrales de alojamiento que deben conservarse limpios, con sombra, echaderos que le permitan a la vaca descansar, un equipo de ordeño funcionando en buenas condiciones y con extrema limpieza, el tanque de leche debe estar limpio y funcionando para mantener la leche a una temperatura menor a 5 °C y contar con personal capacitado para manejar correctamente el ganado y ordeñarlo eficientemente.<sup>20</sup>

Cuadro 1. Requisitos químicos, bacteriológicos y de temperatura de leche pasteurizada preferente especial, establecidos en México

Temperatura	La leche envasada deberá mantenerse a menos de 6 °C. El transporte y el expendio se efectuará a una temperatura menor de 9 °C.	
Limites bacterianos	En el establo, menos de 100,000 bacterias por ml. En la planta concentradora, menos de 150,000 bacterias por ml. En la planta pasteurizadora, menos de 300,000 colonias por ml. Como producto envasado menos de 30,000 colonias por ml y menos de 10 coliformes por ml.	
Otros requisitos	Sólidos no grasos Grasa Fosfatasa Densidad Grado de refracción Acidez cloruros Punto crioscópico Prueba de R-OH al 68 %  Prueba de R-OH al 96 % Lactosa Inhibidores Sacarocinta	No menos de 84 g/Lt No menos de 33 g/Lt Negativa No menos de 1.029 a 15 °C No menos de 37 ni mayor a 39 a 20 °C No menos de 1.4 ni mayor de 1.7 g/Lt No menos de 0.85 ni más de 1.2 g/Lt Entre -0.530° y -0.560° negativa positiva 43 a 50 g/Lt negativa - negativa

Pérez, (1996).<sup>19</sup>

Con el uso de correctas prácticas de manejo durante la etapa de producción de leche, es posible aspirar en mantener la calidad de la leche tal y como se obtiene de la vaca, hasta su presencia en los expendios y finalmente ante el consumidor.

### 2.2.3 El selenio

El Se fue descubierto en 1818 por el químico Berselius en Gripsholm, Suecia y durante años mereció poco interés biológico,<sup>21</sup> pero finalmente se identificó en 1935, en USA (Estados Unidos de Norteamérica) como factor tóxico del forraje que provocaba una enfermedad peculiar ampliamente reconocida en el ganado, a la que se le conocía como enfermedad del “álcali” y el “vértigo ciego”,<sup>22</sup> nombres que se aplican a los padecimientos crónicos que presentan los animales mantenidos en pastoreo en ciertas zonas seleníferas de los USA. La importancia del Se en la nutrición como un elemento esencial en la dieta de los animales de granja, se hizo patente en el año de 1957,<sup>23</sup> al comprobarse que la mayoría de las miopatías del ganado vacuno y ovino, así como la diátesis exudativa de los pollos, podrían prevenirse suplementando las raciones con Se o vitamina E.<sup>24</sup>

En 1973 se demostró una función bioquímica del Se, al descubrirse que el elemento forma parte de la GSH-Px, enzima que cataliza la eliminación del peróxido de hidrógeno,<sup>24,25</sup> previniendo la transformación de estos en radicales libres que causan daño a la membrana celular.<sup>26</sup>

El Se ha sido aprobado por la FDA en USA, como un aditivo alimenticio para dietas de vacas lecheras desde 1979, primero adicionando 0.1 mg/kg de materia seca (MS) y desde abril de 1987 a una concentración de 0.3 mg/kg de MS.<sup>6-7</sup>

#### 2.2.3:1 Efecto del Se y la vitamina E, en la salud de la glándula mamaria

Smith *et al.*, (1984), reportaron la influencia del Se y la vitamina E en la mastitis bovina. En sus trabajos utilizaron dietas suplementadas con 0 ó 1,000 UI de vitamina E, que se administraron a vacas multíparas durante el periodo de descanso lactacional, además de Se a razón de 0 a 0.1 mg/kg de peso vivo, mediante inyección parenteral a los 21 días preparto. No suplementaron con vitamina E ni Se durante la lactancia. La incidencia de nuevos casos de mastitis clínica se redujo en un 37%, en el tratamiento que recibió vitamina E,

en comparación con el no suplementado. La reducción de mastitis clínica fue de 12% cuando las vacas recibieron sólo la inyección de Se, y no se suplementaron con vitamina E. Asimismo, reportaron que los casos clínicos de mastitis en las vacas suplementadas con vitamina E e inyectadas con Se, mostraron cuadros de mastitis con una duración finalmente más corta, en comparación con las que se presentaron en otros grupos.<sup>27</sup>

En un estudio de seguimiento con vaquillas Holstein y Jersey de primera lactancia,<sup>28</sup> se dividieron en dos grupos 60 días antes del parto, el grupo 1 recibió suplementación de 2 UI de vitamina E y 2 µg de Se por kg de peso vivo por día antes del parto, adicionalmente, se les aplicó vía subcutánea 0.1 mg de Se por kg de peso corporal 21 días antes del parto y durante la lactancia se les suministró en el alimento 88 U.I. de vitamina E y 0.3 mg de Se por kilogramo de materia seca, el grupo 2 no recibió suplementación alguna. Los resultados de esta investigación señalan una reducción de 42% en la incidencia de infecciones intramamarias, mientras que la duración de las infecciones de la glándula mamaria en el período de lactación se redujeron de 40 a 50%, con respecto a las vaquillas no tratadas; en lo referente a la cuenta promedio de células somáticas en la lactación, resultó mas baja y se redujo hasta un 68% la cantidad de animales con cuentas de células somáticas ligeramente superior a 200,000/ml. Por último los autores indican que en los primeros 4 días de lactación la incidencia de mastitis clínica bajó en 57%, en tanto que la incidencia de este mismo padecimiento a lo largo de la lactancia descendió en 32 %, en contraste con la vaquillas no suplementadas.

Erskine *et al.*, (1987) estudiaron 32 hatos lecheros en Pennsylvania, USA, en 16 de ellos se habían registrado consistentemente cuentas elevadas de células somáticas, mientras que en los hatos restantes la cuenta fue siempre baja. Las vacas de los hatos cuyas CCS eran altas, tuvieron concentraciones significativamente más bajas de Se y GHS-Px, en comparación con las vacas en cuyos hatos las CCS eran bajas. Observaron una correlación significativamente inversa entre el porcentaje de glándulas infectadas y la

concentración promedio del hato de GHS-Px, en muestras de sangre completa.<sup>12</sup>

#### 2.2.3:2 Deficiencia de Se en el suelo, plantas y animales

Los suelos de muchas regiones lecheras del mundo son deficientes en Se y las plantas forrajeras que crecen en estos suelos proveen una cantidad inadecuada de Se.<sup>1,29,30</sup> Las zonas deficientes en Se han sido localizadas básicamente en las costas, donde hay erosión e inundaciones, sin embargo las seleníferas se localizan en los países en zonas mineras, donde se extrae oro, plata y cobre.<sup>31,32</sup>

Se puede asumir una deficiencia de Se en el suelo cuando el contenido es inferior a 450 ppb; en pastos de 20 ppb y en lana inferior a 50 o 60 ppb.<sup>145</sup>

**Deficiencia de Se en las plantas.** El contenido de Se en los forrajes y granos es afectado por varios factores del suelo. Estos incluyen la concentración de Se en el suelo, su forma y disponibilidad; selenito ( $\text{SeO}_3$ ), selenato ( $\text{SeO}_4$ ) y las formas orgánicas que son disponibles y el Se elemental y otras formas que no son disponibles para las plantas.<sup>22,32,33</sup> Uno de los factores más importantes que afectan la absorción de Se por las plantas es el pH del suelo; las plantas que crecen en los suelos alcalinos absorberán más Se que las que crecen en los suelos ácidos,<sup>33</sup> así, las prácticas agronómicas de las granjas pueden influir en el contenido de Se en los forrajes cosechados.<sup>34</sup> Un incremento en el contenido de azufre, descomposición orgánica, irrigación, escurrimientos y exceso de fertilización, pueden también reducir la disponibilidad de Se para la planta.<sup>31,32,35</sup>

Los suelos ricos en óxido de hierro retienen el Se en forma insoluble de selenito ferroso básico, el cual no puede ser asimilado por las plantas.<sup>36</sup>

En forrajes y granos se considera que un contenido de 0.1 ppm es adecuado para satisfacer las necesidades de los ovinos.<sup>32-37</sup>

**Deficiencia de Se en los animales.** La enfermedad del músculo blanco ha sido documentada como una condición de deficiencia de Se y vitamina E en rumiantes desde hace ocho décadas.<sup>38,138</sup> En México se reconoce como “miopatía degenerativa” relacionada con becerros que reciben una dieta artificial “sustituto de leche”, donde las concentraciones séricas de Se fueron de 10 a 16 ng/g medidos fluorométricamente y en hígado, riñón y sangre inferiores a 50 ng/g.<sup>39,40</sup>

La deficiencia de Se es causa de enfermedades como: distrofia muscular nutricional o músculo blanco, malformaciones congénitas que sufren los ovinos, así como reducción de los parámetros reproductivos, retenciones placentarias o distocias al parto.<sup>41,42</sup> La deficiencia puede ser asociada a mastitis subclínicas y clínicas en bovinos, como efectos sobre el sistema inmune o salud de la glándula mamaria.<sup>34</sup> La duración de los signos de la mastitis clínica, la incidencia de mastitis clínica en el periparto y durante toda la lactancia, así como la cuenta somática, han sido reducidas con la suplementación de 6 mg de Se animal<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> (.3 mg/kg MS) y 2 U.I de vitamina E por kilogramo de MS en vaquillas de 1ª lactación y mediante la suplementación vía hipodérmica de Se y vitamina E, 21 días antes del parto.<sup>27,28</sup>

También el Se es necesario para el crecimiento y su deficiencia puede dar origen a una distrofia muscular en los corderos, becerros y conejos y en pollitos causa hemorragias subcutáneas.<sup>43</sup> La necrosis del músculo esquelético y cardíaco está presente y los signos clínicos pueden ser rigidez, laminitis y muerte aguda. Generalmente afecta a los animales de 1 a 4 semanas de edad.<sup>44</sup>

Los valores notificados en el plasma de vacas lecheras sanas fueron 80 ng/ml. Concentraciones de Se en el suero o plasma de 70 a 100 ng/ml son indicadores bastante fiables de adecuadas cantidades de Se. La concentración plasmática refleja la concentración sanguínea que es de 45 a 60 ng/ml.<sup>37,46,47,48,49</sup>



El promedio en la concentración de Se en suero sanguíneo de hatos de vacas Guernsey fue de 123 ng/ml, con base en un consumo de 9 mg animal/día. Tres hatos de vacas Holstein con consumos de Se de 9 a 10 mg animal<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, tuvieron concentraciones adecuadas en el suero de 80 ng/ml.<sup>50</sup> El nivel de Se en sangre de bovinos productores de carne clínicamente sanos fue de 120 a 180 ng/ml.<sup>51</sup>

Consumos de dietas suplementadas con 0.3 mg de Se/kg de MS ó 6 mg de Se por vaca por día, parecen ser necesarios para lograr las concentraciones adecuadas de Se en la mayoría de los casos.<sup>50</sup>

### 2.2.3:3 Toxicidad del Se

La intoxicación por Se ha sido diagnosticada en Canadá, Alemania, Francia, Australia, Sudáfrica, Nueva Zelanda, México y Estados Unidos de América.<sup>31,32,139</sup>

La presencia de este elemento en los alimentos de origen vegetal es muy variable, dependiendo principalmente de las características del suelo en que se producen.

Las concentraciones normales de Se en la planta, oscilan alrededor de 100 µg/kg MS. El contenido de Se en el pasto se considera como: <0.02 bajo, 0.03 – 0.20 normal y alto >0.25 g/kg MS.<sup>24</sup>

El Se inorgánico es un elemento muy tóxico, de modo que los niveles de 5 mg/kg en la materia seca de la ración,<sup>52</sup> ó 500 µg/kg en la leche o agua de bebida, pueden ser potencialmente peligrosos para los animales.<sup>24</sup> El nivel máximo tolerable se ha establecido en 2 ppm.<sup>29</sup>

El National Research Council (NRC), menciona que la toxicidad crónica puede ocurrir cuando el ganado es alimentado con una ración que contenga de 5 a 40 mg de Se/kg por semanas o meses; la toxicidad aguda ocurre cuando el ganado es alimentado con 10 a 20 mg de Se/kg de peso. Una inyección de Se de 0.5 mg/kg a ganado joven (200 kg) resultó en 67 % de mortalidad.<sup>8</sup>

Algunos de los elementos esenciales, como el cobre, selenio y molibdeno, pueden ser tóxicos cuando se encuentran en niveles muy altos en la ración.<sup>43</sup>

Se ha señalado que la harina de linaza tiene acción protectora frente a la intoxicación por Se.<sup>24</sup>

#### 2.2.3:4 Metabolismo del Se en los rumiantes

**Ambiente ruminal.** En un estudio, Van Saun, (1990),<sup>45</sup> notificó que los rumiantes absorben menos eficientemente el Se de la dieta, 27%, que lo absorbido por los monogástricos, 77%. El duodeno es el principal sitio de absorción del elemento.

Se ha observado que las bacterias ruminales son capaces de metabolizar el Se inorgánico e incorporarlo a la proteína microbiana del rumen en forma de selenometionina.<sup>5,21,53</sup> Algunas pruebas sugieren que el Se inorgánico es incorporado exclusivamente al interior de las selenoproteínas en una sustitución de Se por un átomo de azufre en el residuo de cistina de las proteínas.<sup>54</sup>

Sin embargo, el Se orgánico puede estar presente como selenometionina. La selenometionina es incorporada no específicamente al interior de todas las proteínas como un sustituto de metionina, de este modo, el Se orgánico e inorgánico proveen dos fuentes separadas de Se en el organismo.<sup>54</sup>

La forma como se suministra el Se en la dieta tiene un efecto importante sobre su absorción.<sup>5</sup> El Se oxidado (selenito y selenato), es la forma biológicamente activa, mientras que el Se elemental reducido es pobremente absorbido. El rumen provee un ambiente muy firme de reducción que puede convertir el Se consumido en forma reducida e indisponible. Las variaciones en la capacidad de reducción en el ambiente ruminal de granja a granja, se debe a variaciones en la dieta o en el manejo de la alimentación que puede afectar la disponibilidad y absorción del Se. La misma cantidad de Se puede ser absorbida en forma diferente, por ejemplo, dietas altas en almidón y en

concentrado, determinarán un menor pH y mayor capacidad de reducción en el rumen.<sup>45</sup>

Una reducción en la producción de metano y una consecuente baja en el potencial de reducción en el rumen, asociado con la incorporación de monensina,<sup>55</sup> incrementa la absorción de Se.<sup>34</sup>

**Transporte y almacenamiento.** Después de la absorción, el plasma transporta Se en asociación con una proteína plasmática y penetra a todos los tejidos donde se almacena principalmente como selenometionina y selenocistina.<sup>57</sup> El Se es incorporado a las células rojas sanguíneas, leucocitos, mioglobina, nucleoproteínas, miosina y varias enzimas, que incluyen el citocromo C y la aldolasa.

Hay grandes diferencias en el metabolismo posabsorción de fuentes de Se orgánico e inorgánico. El Se administrado parenteralmente en forma de selenito, es rápidamente incorporado dentro de proteínas ricas en selenocisteína en el plasma, particularmente en animales seleno deficientes<sup>56</sup> y puede estar disponible para la síntesis de otras seleno proteínas a través de la actividad de enzimas tales como selenocisteína  $\beta$  liasa. Aunque puede ser absorbida y retenida, la selenometionina es lenta para ser convertida a la selenocisteína necesaria para la síntesis de proteínas funcionales.<sup>57</sup>

La mayor parte del Se está presente en los alimentos naturales como selenometionina.<sup>58</sup>

**Excreción.** El Se tisular es relativamente lábil, tal como se demuestra por la pérdida rápida de los tejidos de animales alimentados con dietas bajas en Se, después de consumir dietas ricas en ese mineral. Las pérdidas se efectúan a través de los pulmones, heces y orina. La proporción que se excreta por cada vía depende de la ruta de administración, las concentraciones tisulares y especies animales.<sup>57</sup>

El Se inyectado se acumula particularmente en el hígado y es principalmente secretado por la vía biliar.<sup>59,60</sup>

En las ovejas, el Se inyectado se excreta principalmente por la orina, en una proporción equitativa a la administrada; la pérdida fecal es pequeña, pero constante con la concentración de la dosificación; el Se espiratorio es similar a la pérdida fecal a bajas concentraciones de administración, aunque aumenta con la concentración de dosificación y excede a las pérdidas fecales varias veces en concentraciones elevadas de dosificación.<sup>5</sup>

El Se que se administra por vía oral se excreta en las heces en mayor cantidad con bajas concentraciones de consumo. A medida que el consumo aumenta, las pérdidas fecales permanecen relativamente estables y el Se espiratorio aumenta en forma constante; la pérdida urinaria aumenta con concentraciones moderadas de complementación y luego desciende.<sup>5</sup>

Las pérdidas fecales indican principalmente el Se que no se absorbe, a pesar de que también se excreta a través de la bilis, del conducto pancreático y de las células de la mucosa intestinal. Se sabe que el arsénico (As) reduce la absorción del Se en el aparato digestivo, también aumenta la excreción del Se biliar y urinario cuando éste es inyectado.<sup>5</sup>

La excreción urinaria del selenito de sodio aumenta cuando se administra sulfato por vía parenteral o por vía oral. El efecto del sulfato es menos marcado cuando el Se se administra como selenito en vez de selenato; el sulfato probablemente no tiene efecto alguno sobre la utilización del Se en forma orgánica.<sup>5</sup>

Aquellos elementos que circulan en formas aniónicas como el yodo, molibdeno y selenio, son con frecuencia excretados de manera predominante en la orina y en particular en las especies monogástricas; el control de la excreción urinaria, provee el mecanismo principal para controlar la retención de los elementos.<sup>43</sup>

**Transferencia materna de Se.** Los animales lactantes tienen pérdidas de selenio vía secreción láctea. Las concentraciones de Se en el calostro, así como de vitamina E, son por lo general altas cuatro o cinco veces más que en la leche y ambos reflejan el estado del Se en borregos<sup>61</sup> y en vacas.<sup>62</sup> La transferencia de Se vía leche es más eficiente que la transferencia por vía

placentaria,<sup>63,64</sup> sin embargo, las crías de madres suplementadas durante la gestación contienen hasta el doble de Se al nacimiento, comparadas con las crías de madres no suplementadas.<sup>65</sup> Se ha demostrado que la forma más adecuada en la transferencia placentaria de Se es como selenometionina en comparación a Se inorgánico, esto en la prevención de distrofia muscular en corderos y terneros.<sup>5</sup>

Harrison y Conrad, (1984), reportaron que el contenido de calcio (Ca) en las dietas influenciaba la absorción de Se en ganado lechero. Concentraciones de Ca mayores a 0.8 ó menores a 0.6 % de MS reducen la absorción de Se y sus concentraciones sanguíneas.<sup>119</sup> Harrison y Conrad, (1984), también reportaron que la digestibilidad aparente del Se es reducida cuando las vacas son alimentadas con dietas altas en Ca (1.3 %) o bajas en calcio (0.5 %).<sup>120</sup>

Los minerales que interfieren con la absorción del Se incluyen a la plata, cadmio, telurio, cobre, mercurio, plomo, arsénico, zinc, cobalto, hierro, azufre y estaño, solos o en combinación.<sup>34</sup>

Variaciones en las cantidades presentes de minerales traza en la dieta, pueden resultar en una variabilidad de la absorción de Se. El azufre es de los elementos frecuentemente reportados que interfiere con el consumo de Se<sup>67</sup> y su presencia, es muy variable en dietas de forraje.<sup>34</sup>

**Genética.** La habilidad genética para absorber o retener Se está presente en el ganado, por lo que variaciones en líneas genéticas de diversas granjas puede resultar en diferentes respuestas a la suplementación de Se.<sup>34</sup>

#### 2.2.3:5 El selenio y la glutatión peroxidasa (GSH-Px)

El Se es fisiológicamente importante porque es componente integral de la enzima GSH-Px.<sup>68,69</sup> Las concentraciones tisulares están altamente correlacionadas con la actividad de la GSH-Px y están directamente relacionada con la ingestión de Se.<sup>50</sup>

La función específica de la GSH-Px es la conversión del peróxido de hidrógeno en agua y los hidroperóxidos lipídicos al correspondiente alcohol,<sup>50</sup> dado que estos compuestos son capaces de causar desnaturalización irreversible de proteínas celulares.<sup>26</sup>

El Se es incorporado a la GSH-Px durante la eritropoyesis y es abundante en los eritrocitos.<sup>110</sup> El Se incorporado a la enzima no es intercambiable, la mayor parte del Se mitocondrial se encuentra bajo la forma de GSH-Px que protege a la membrana de los hematíes contra la hemólisis y mantiene la integridad de la hemoglobina impidiendo su descomposición.<sup>26</sup>

Se ha demostrado que la actividad de la GSH-Px en sangre completa y plasma está estrechamente relacionada con la concentración de Se sanguíneo; la concentración de la glutatión peroxidasa oxidada en eritrocitos de animales sanos es de 40 mmol/100 mg de proteína por minuto. En tanto que en animales enfermos es de 18.3 mmol/100 mg de proteína por minuto.<sup>38,44</sup>

El Se está en otras selenoproteínas corporales como la iodotironina 5-deiodinada y es esencial en el comportamiento productivo del animal. La hormona tri-iodotironina (T<sub>3</sub>) que deriva de la tiroxina (T<sub>4</sub>), es la hormona tiroidea metabólicamente activa, misma que esta involucrada en el crecimiento, termogénesis y metabolismo de los nutrimentos. La deiodación periférica de la tiroxina (T<sub>4</sub>) a 3, 5, 3 tri-iodotironina (T<sub>3</sub>) es realizada por las selenoproteínas de los tipos I, II y III desiodinasas.<sup>26</sup>

Rook y Thomas, (1989),<sup>43</sup> mencionan que el fosfato de piridoxal facilita la incorporación del Se de la seleniometionina a la enzima GSH-Px.

#### 2.2.3:6 Funciones de la GSH-Px y vitamina E

La vitamina E es el antioxidante lipídico soluble más importante y la forma más activa biológicamente es el d- $\alpha$ -tocoferol.<sup>70</sup>

La enzima GSH-Px y la vitamina E, son parte integral del sistema antioxidante que existe en las células.<sup>25</sup> Ambos son importantes para el funcionamiento óptimo de las células y tejidos, debido a que ayudan a mantener

concentraciones bajas de moléculas reactivas de oxígeno y de hidroperóxidos lipídicos. Durante el metabolismo de oxígeno dentro de las células son producidas grandes cantidades de superóxidos y peróxido de hidrógeno y estas moléculas reactivas pueden dañar severamente los lípidos en las membranas, ADN, proteínas celulares y enzimas.<sup>71,72</sup>

La vitamina E es altamente eficiente para eliminar tanto al oxígeno reactivo como a los hidroperóxidos lipídicos, convirtiendo a ambos en formas no reactivas.<sup>70</sup>

La vitamina E y la GSH-Px funcionan en dos lugares diferentes dentro de la célula. La GSH-Px funciona en el citosol de la célula, mientras que la vitamina E es uno de los componentes lipídicos de las membranas.<sup>25,67,68,73</sup> La vitamina E protege a los ácidos grasos poliinsaturados, enzimas y proteínas de transporte localizadas en las membranas de las formas reactivas del oxígeno. Estos ácidos grasos poliinsaturados están presentes en todas las membranas celulares, pero su concentración varía dependiendo del tejido de que se trate. Los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas son extremadamente susceptibles al ataque de las formas reactivas del oxígeno y mientras más elevada sea la concentración de estos ácidos, más susceptible será la célula y el tejido al daño producido por la oxidación.<sup>70,74</sup> La vitamina E puede "romper" las reacciones de peroxidación en las membranas y es probablemente el antioxidante local más importante en las membranas celulares.<sup>70</sup>

Las dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados producen grandes cantidades de hidroperóxidos, los cuales pueden dañar las membranas celulares y agravar las deficiencias de Se o de vitamina E.<sup>43</sup>

La glutatión peroxidasa participa directamente en el metabolismo del ácido aráquidónico (AA) y la vitamina E tiene una función de control de la peroxidación del AA o de sus metabolitos inestables.<sup>42</sup>

Los metabolitos del AA son importantes para la función de los polimorfonucleares (PMN) y otras células blancas.<sup>75</sup> La producción de leucotrieno B<sub>4</sub> por macrófagos y PMN, es importante para la iniciación y

amplificación de esta respuesta. La fagocitosis del patógeno invasor, resulta en un estallamiento respiratorio dentro del PMN,<sup>75,76</sup> durante el estallamiento respiratorio se incrementa el metabolismo del oxígeno dentro de la célula e incrementa la producción de moléculas reactivas de oxígeno (ROS). Las moléculas reactivas de oxígeno son producidas para matar a los patógenos fagocitados. Los procesos fagocíticos son acompañados de un incremento intracelular de peróxidos que son necesarios para matar al patógeno pero potencialmente peligrosos para la célula y tejidos involucrados.<sup>42</sup>

La acumulación de peróxido de hidrógeno en los PMN está generalmente asociada con la disminución en la mortalidad intracelular de patógenos. Los PMN de vacas deficientes en Se tienen acumulación de peróxido de hidrógeno, disminuye la viabilidad de los PMN y se reduce la habilidad para matar intracelularmente a los patógenos causantes de mastitis.<sup>42,77</sup>

La velocidad con que los PMN pueden ser movilizados después de la invasión de los patógenos y de la eficiencia de la muerte intracelular, son eventos de importancia crítica para la protección de la glándula mamaria de la infección.<sup>75</sup>

La vitamina E y el Se juegan un papel esencial en estos eventos, y la deficiencia de cualquiera de los dos, es importante para dañar la función de los PMN y consecuentemente se observa el incremento de la incidencia de infecciones intramamarias en vacas lecheras.<sup>11</sup>

Los PMN son muy sensibles al daño oxidativo, debido en parte, a su utilización de "estallamiento oxidativo" en la muerte intracelular.<sup>76</sup> En rumiantes solo se ha establecido el papel bioquímico del Se, el cual forma parte de la enzima GSH-Px, aunque han sido identificadas otras selenoproteínas.<sup>75</sup>

#### 2.2.4 Las células somáticas

Aunque las cuentas de células y leucocitos en leche han sido usadas por más de un siglo en las investigaciones de mastitis,<sup>78</sup> sugirieron el uso del término células "cuerpo" porque las investigaciones en ese tiempo habían establecido que las células en la leche eran desprendimientos de células epiteliales. A



finales de los años sesenta el término cuenta celular "somática" (significa corporal) se volvió común.

Hoy se conoce que la cuenta celular somática está representada principalmente por leucocitos, que incluyen macrófagos, linfocitos y polimorfonucleares. Estudios realizados para identificar los tipos de células presentes en la leche, han mostrado que las células epiteliales en la leche o las células secretoras de leche no son frecuentes en las secreciones de la ubre, incluyendo la glándula en descanso lactacional y en un rango de 0 a 7 % de las células comunes (Cuadro 2, de Lee *et al.*, 1980).<sup>79</sup> Así, incrementos en la CCS al final de la lactancia no son desprendimientos de las células epiteliales.

Los macrófagos son el tipo de células predominantes en leche normal y constituyen entre el 30 y 74 % del total de células en la leche de glándulas no infectadas.<sup>81</sup>

Cuadro 2. Tipos de células en leche normal de bovinos

TIPO DE CÉLULA	% CELULAR
Neutrófilos (PMN)	0 – 11
Macrófagos	66 – 88
Linfocitos	10 – 27
Células epiteliales	0 – 7

Lee *et al.*, (1980)<sup>79</sup>

#### 2.2.4:1 Presencia de las células en la leche

Las células somáticas presentes en la leche son un indicador de un mecanismo de defensa de la glándula mamaria, una reacción que inicia el movimiento inmediato de leucocitos del torrente sanguíneo hacia la leche, con el objetivo de combatir los microorganismos que están causando la infección.

La CCS de la leche tiene tres usos amplios: 1) es usada para determinar la prevalencia de mastitis en los hatos lecheros; 2) como un indicador de la calidad de la leche cruda para los procesadores y 3) como un indicador de las condiciones de higiene de la producción de leche en los establos.<sup>1</sup>

El mejor parámetro para evaluar infecciones de la glándula mamaria es la CCS de la leche, tanto si proviene de una sólo glándula, del total de la ubre o bien de tanques de enfriamiento. En los cuadros 3 y 4 se muestra que el incremento de células somáticas en un tanque de almacenamiento, está correlacionado con un aumento en la prevalencia de infecciones en el hato y una disminución de la producción de leche.<sup>111</sup>

Cuadro 3. Pérdidas de leche de vacas individuales y hatos enteros en relación con la cuenta de células somáticas.<sup>111</sup>

Vacas individuales			Hatos enteros		
Calificación lineal	Cuenta de células somáticas	Pérdidas de leche en litros por lactación	Calificación lineal	Cuenta de células somáticas	Pérdidas de leche en litros por lactación
1	25,000	0	1	69,000	0
2	50,000	0	2	120,000	190
3	100,000	180	3	209,000	380
4	200,000	360	4	363,000	570
5	400,000	540	5	631,000	760
6	800,000	720	6	1'096,000	950
7	1'600,000	900	7	1'905,000	1,140

Eberhart *et al.*, (1982)

Cuadro 4. Relación entre la cuenta de células somáticas en leche de tanque, porcentaje de glándulas infectadas y porcentaje de pérdida en producción.

Tanque de leche, cuenta de células somáticas	Porcentaje de glándulas infectadas	Porcentaje de pérdida en producción
200,000	6	0
500,000	16	6
1'000,000	32	18
1'500,000	48	29

\*Pérdidas calculadas de producción como un porcentaje de producción esperada a 200,000 cel/ml.  
De Eberhart *et al.*, (1982)

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

La presencia de células somáticas en la glándula mamaria, interfiere directamente con los componentes físico-químicos de la leche. La lactosa, la grasa y la caseína disminuyen y las proteínas séricas, cloro, sodio y pH aumentan. La leche con un elevado contenido de células somáticas es perjudicial para la nutrición y salud humana.<sup>1</sup>

Los macrófagos y los PMN son células fagocíticas que engloban y matan a las bacterias.<sup>82</sup>

Los linfocitos incluyen a las células B y T, que juegan un papel clave en las reacciones de inmunidad específica que pueden seguir a la respuesta inicial de la infección.<sup>81</sup>

Una respuesta inflamatoria (mastitis), es iniciada cuando las bacterias entran a la glándula mamaria a través del meato del pezón y se multiplican en la leche.<sup>82</sup> Las bacterias o sus componentes, pueden tener un efecto directo sobre la función del epitelio de la glándula, aunque también hay interacción con las células en la leche, especialmente con los macrófagos y estimula la producción de los mediadores de la inflamación que pueden ser involucrados en la patogénesis de la enfermedad.<sup>81</sup> Estos mediadores incluyen a componentes del complemento, prostaglandinas, leucotrienos, factor de la necrosis tumoral, interferón y otras citoquinas.<sup>83,84,85,86,87,88</sup>

Los signos clásicos de la inflamación incluyen: un incremento de la permeabilidad vascular, vasodilatación, edema, incremento en el flujo sanguíneo, marginación y migración de neutrófilos, decremento de la actividad secretora de la glándula, dolor y fiebre.<sup>81</sup>

Uno de los componentes iniciales de la respuesta inflamatoria, es la afluencia de leucocitos PMN al tejido de la glándula mamaria.<sup>75,89,90,91</sup> Los PMN normalmente fluyen libremente o vuelven a través de los capilares con sólo una adherencia mínima a la pared de las venas. Durante la infección e inflamación, la adhesión de moléculas extrañas es expresada y los PMN marginados, adheridos al endotelio o a vasos sanguíneos pequeños, pasando entre células de revestimiento de las venas.<sup>81</sup>

Los mensajeros químicos o agentes quimiotácticos liberados de los leucocitos en la leche o de los tejidos dañados, atraen PMN a la leche en grandes números.<sup>75</sup> Más del 90% de las células presentes en la leche en el inicio de la inflamación pueden ser PMN.<sup>81</sup>

Los PMN pueden presentarse en grandes números afuera de algunos de los alvéolos.<sup>89,90</sup> En otras áreas, el daño de las células secretoras de leche puede ser aparente y masas de PMN pasan entre las células epiteliales al interior del lumen de los alvéolos. Así, el resultado final de este proceso es un incremento en la CCS en la leche, resultado de la migración de PMN al sitio de la infección. La rapidez de la afluencia de PMN puede ser el factor clave en la resolución de una infección o de la severidad de la enfermedad.<sup>81</sup> Los PMN también pueden infiltrarse al revestimiento del pezón y ductos de las cisternas de la glándula y pezón.<sup>89,90</sup> Estas áreas pueden ser sitios de migración durante la respuesta inicial de invasión.

La infiltración manifiesta de linfocitos mononucleares, puede ser observada en infecciones crónicas.<sup>92</sup> Así, el incremento de la CCS, es resultado de células blancas atraídas a la leche.

La función de los PMN en la leche es fagocitar y digerir a las bacterias invasoras.<sup>91</sup> Cuando los PMN entran en la leche, también fagocitan otras partículas tales como glóbulos de grasa y caseína, lo que decrece su eficiencia, en comparación con los PMN sanguíneos.<sup>81</sup>

Los leucocitos en la leche pueden también liberar sustancias que cambian la permeabilidad de los vasos sanguíneos o atraer más leucocitos al área para luchar contra la infección. En infecciones bacterianas persistentes, los números de leucocitos pueden fluctuar de mas a menos, aunque por lo general, quedan anormalmente altos. Tales números anormales de células somáticas podrían continuar después de que son eliminadas las bacterias hasta que la curación de la glándula ocurre. Harmon, (2001), menciona que puede tomar días o semanas y ya no decrece después que los patógenos han sido eliminados de la glándula.<sup>81</sup>

#### 2.2.4:2 Cuenta somática normal

El principal factor que afecta la CCS es una infección de la glándula mamaria.<sup>97</sup> La CCS normal en la vaca y la glándula mamaria (no infectadas), son generalmente abajo de 200,000, y en vacas de primera lactancia menor a 100,000/ml. Un estudio estimó que el 50% de las vacas no infectadas tienen una CCS por debajo de 100,000 y el 80% menor a las 200,000/ml.<sup>78</sup> Otro estudio en 44 vacas no infectadas en su primera y tercera lactación tuvieron CCS en su media geométrica de 49,400/ml.<sup>94</sup> Un resumen completo reciente de 16 meses de la Universidad de Kentucky, EUA., mostró que 4,213 glándulas bacteriológicamente negativas tuvieron una CCS geométrica de 29,000/ml. Así, una elevación arriba de 200,000 CCS es generalmente considerada anormal y es una indicación de inflamación en la ubre. No existe evidencia que la CCS en una secreción normal de glándulas no infectadas, esté significativamente influenciada (ejemplo, que exceda de 200,000/ml) por parto, etapa de lactación, estrés calórico.<sup>94</sup>

Hay una variación (diurna) normal en la CCS con la fracción de la leche colectada a través del ordeño y durante el tiempo entre ordeños.<sup>97-99</sup> En general, la cuenta celular es más baja inmediatamente antes del ordeño y más alta al final del ordeño. La CCS elevada puede persistir por 4 horas después de la ordeña y declinar gradualmente. Esta diferencia en la CCS baja en el despunte y durante el tiempo de ordeño, y elevada al final del ordeño, puede variar de 4 a 70 veces en glándulas individuales.<sup>99</sup> Las muestras de leche de los primeros chorros o compuesta (balde) en el tiempo de ordeña, pueden ser usadas rutinariamente para coleccionar datos de CCS, porque hay una alta correlación ( $r = 0.86$ ).<sup>97</sup>

#### 2.2.4:3 Cuenta de células somáticas en vacas individuales

Es para detectar vacas con mastitis subclínica, aún cuando una sola glándula mamaria esté infectada. La CCS indica más el estado general de la ubre que la simple presencia o ausencia de mastitis.<sup>1</sup>

#### 2.2.4:4 Cuenta de células somáticas en vacas sanas

La leche de ubres sanas contiene entre 50,000 y 200,000 células/ml, las investigaciones han demostrado que el número de lactación y la fase de lactación, estro, ejercicio ligero, estrés calórico, edad, estación y tensión no son significativos si la glándula no está infectada (bacteriológicamente negativas).<sup>93,94,97,111</sup>

#### 2.2.4:5 Diferencia entre glándulas mamarias

La ubre de la vaca está constituida por cuatro glándulas mamarias, por lo que existe una variación en la cuenta de células somáticas entre éstas, aún en vacas sanas.<sup>66,97,99</sup>

#### 2.2.4:6 Vacas primíparas y multíparas

Las hembras primíparas generalmente tienen cuentas celulares menores (100,000 CCS/ml) que las multíparas (< a 200,000) cuando están sanas,<sup>78,81,94</sup> lo anterior posiblemente se debe a que las multíparas han sido ordeñas más veces y por tanto sujetas a mastitis inducidas por manejo. También puede ser debido a una mayor respuesta celular a la infección o un daño permanente en la ubre después de la infección.<sup>81</sup>

#### 2.2.4:7 Fase de la lactación

La CCS es mas elevada inmediatamente después del parto y después disminuye. Se ha encontrado que las glándulas mamarias no infectadas en el momento del parto tienen una media geométrica de 306,000 células/ml, y disminuyen a 42,000 células/ml en el sexto ordeño. Las células somáticas al final de la lactación son generalmente más altas debido a una mayor prevalencia de infecciones subclínicas. Sin embargo, algunas vacas muestran un incremento en la cuenta de células somáticas al final de la lactación sin tener mastitis, lo cual sucede unos días antes de finalizar la lactancia o cuando la producción láctea es menor de 4 kg/día.<sup>80</sup>

#### 2.2.4:8 Estación

Las cuentas son menores durante el invierno y mayores durante el verano. Las razones de estas variaciones estacionales son desconocidas, se ha especulado que son debidas a los efectos sobre el alojamiento y a los provocados por los cambios de temperatura sobre el estado de infección.<sup>97</sup>

#### 2.2.4:9 Variaciones diarias

Existen diferencias considerables en la CCS de un día de obtención de muestras al siguiente, aún en muestras tomadas en días sucesivos. Esto se ha considerado como una variación fisiológica. Sin embargo, también puede ser debido a estrés, lesiones o infecciones eliminadas antes de ser detectadas.

#### 2.2.4:10 Tensión

El aislamiento, mezcla de grupos de vacas o las molestias causadas por perros incrementan la CCS en ausencia de mastitis.<sup>97</sup>

#### 2.2.4:11 Lesiones en los pezones y en la ubre

Las lesiones severas en ubres o pezones aumentan la CCS. En un estudio se encontró que las lesiones en los pezones aumentaron la CCS en el día de prueba alrededor de 130,000 células/ml de leche. El incremento celular en algunos de esos casos es en respuesta a una mayor prevalencia de mastitis asociada con las lesiones.

### 2.2.5 Mastitis

La mastitis, es definida como inflamación de la glándula mamaria por cambios químicos, físicos y bacteriológicos en la leche, así como cambios patológicos en el tejido glandular, es la enfermedad más común y costosa de la industria lechera del mundo.<sup>95-121</sup>



En EUA, se calcula que la enfermedad produce pérdidas económicas de 185 dólares por vaca por año, cantidad que multiplicada por los 11 millones de vacas lecheras de ese país equivalen aproximadamente a 2,000 millones de dólares al año.<sup>81</sup>

La mayor incidencia de mastitis es observada durante el estado temprano de lactación.

La infección de la ubre es el principal factor causante de incrementos en la CCS en las vacas. En general, los valores menores de 100,000 células/ml indican vacas no infectadas, y mayores de 300,000 vacas infectadas con patógenos, tales como: *Staphylococcus aureus* o *Streptococcus agalactiae*. Las vacas con CCS entre esos valores, pueden estar recuperándose de una infección, tener una lesión o estar infectadas con microorganismos menos importantes como *Corynebacterium bovis*. El riesgo de mastitis clínica aumenta a medida que la CCS se incrementa hasta 400,000 células/ml.

La mastitis causa pérdidas en varias formas: menor producción láctea, costos de tratamientos, leche desechada, desecho prematuro, disminución del avance genético y leche de menor calidad. Aproximadamente un 70 % de las pérdidas totales se deben a una menor producción láctea, atribuida principalmente a mastitis subclínica. Las células somáticas están constituidas por leucocitos polimorfonucleares y macrófagos (98–99%) y células epiteliales (1-2%).<sup>79</sup>

La cantidad de células somáticas en la leche se puede estimar usando las pruebas de California y Wisconsin, la cuenta microscópica directa o el conteo electrónico.<sup>107,140</sup>

La prueba Wisconsin para el diagnóstico de mastitis (WMT, por sus siglas en inglés) se realiza en el laboratorio a partir de muestras de leche tomadas en los tanques de enfriamiento. La prueba es muy similar a la de California, ya que se utiliza el mismo reactivo, sin embargo, la reacción es cuantificada, lo que incrementa la objetividad de la prueba y determina con mayor precisión la

irritación presente en la ubre. El procedimiento requiere de equipo más sofisticado y mayor tiempo que la prueba de California.<sup>107,140</sup>

La WMT es realizada con la misma cantidad de leche y reactivo (3 ml de cada uno), la leche y el reactivo son mezclados por 8 a 10 segundos, la mezcla se drena por un periodo de 15 segundos y se retorna a la posición vertical. Después de reposar por 1 minuto, la cantidad del fluido remanente en el tubo es medido, la calificación es generalmente reportada en milímetros de acuerdo a las tablas de medición.<sup>107,140</sup>

También puede ser realizada individualmente en vacas y así proveer información mas exacta y objetiva en comparación con la prueba de California. Igualmente facilita los resultados de manera más sensible sobre el deterioro de la salud de la glándula mamaria.<sup>107,140</sup>

La WMT además de proporcionar un método conveniente para monitorear la salud de la ubre, cuando los valores de la prueba indican un incremento, favorece el minucioso examen de las vacas, del equipo de ordeño, el procedimiento de ordeña y del medio ambiente externo.<sup>140</sup>

En consecuencia, la meta de cualquier establo debe ser, mantener una lectura de la WMT en la leche del tanque menor a 8 mm, en tanto que muestras con una calificación superior a 19 mm o más, se consideran inaceptables para el consumo humano.<sup>140</sup>

#### 2.2.5:1 Clasificación de la mastitis

**La mastitis subclínica.** Es la forma predominante y se caracteriza por un proceso inflamatorio leve en el que la glándula y la leche tienen una apariencia normal. Y no puede ser detectada visualmente, no obstante causa las mayores pérdidas económicas.<sup>96,146</sup> Se identifica haciendo pruebas al pie de la vaca que detecten en la leche productos resultantes de la inflamación como el incremento de células somáticas, o bien mediciones de lípidos, proteínas, lactosa, sodio, cloro, potasio, asociados a estos cambios; otros métodos como el conductividad eléctrica y pH de la leche, también detectan algunos de estos

elementos.<sup>100</sup> El agente causal se puede aislar en medios de cultivo para su identificación por género y especie.<sup>95</sup>

En la actualidad los ganaderos organizados, a través de los programas de estímulos económicos por bajas CCS, promovidos por las empresas procesadoras de lácteos, le están dando la importancia que merece por los siguientes motivos: 1) es 15 a 40 veces más frecuente que la mastitis clínica, 2) precede a la mastitis clínica, 3) es de larga duración, 4) es difícil detectarla, 5) reduce la producción láctea y 6) afecta la calidad de la leche.<sup>95</sup>

**Mastitis clínica.** Se caracteriza por una presentación repentina, enrojecimiento, hinchazón, dolor, endurecimiento glandular, leche anormal y reducción de la producción. Estos signos varían según su severidad durante el curso de la enfermedad. En algunos casos, los animales también pueden presentar signos sistémicos. La mastitis clínica puede clasificarse en hiperaguda, aguda, subaguda y crónica.<sup>95-96,146</sup>

La prevalencia de mastitis clínica se encuentra entre el 2 y 4 % de las vacas en producción al mes y no ha disminuido debido a que en algunos de los hatos en los que se ha logrado controlar la mastitis contagiosa, han aumentado los casos debidos a bacterias ambientales.<sup>146</sup>

**Mastitis aguda.** Los casos de mastitis aguda se manifiestan repentinamente con enrojecimiento, hinchazón, dolor y endurecimiento glandular, leche anormal y disminución de la producción láctea. También se puede presentar fiebre y falta de apetito.<sup>95-96,146</sup>

**Mastitis hiperaguda.** Los casos de mastitis hiperaguda son poco comunes e incluyen, además de los signos mencionados anteriormente; depresión, pulso y respiración rápidas, pérdida de coordinación muscular, extremidades frías, falta de reflejos pupilares, deshidratación y diarrea.<sup>95,96,146</sup>

**Mastitis subaguda.** Los signos incluyen alteraciones leves en las glándulas mamarias afectadas (dolor y ligera hinchazón) y leche anormal (grumos, escamas o alteraciones del color).<sup>95,96</sup>

**Mastitis crónica.** Este tipo de mastitis puede ser consecuencia de cualquiera de las formas clínicas o de una mastitis subclínica. Se puede detectar por signos intermitentes de mastitis clínica. La enfermedad se acompaña de la formación de tejido fibroso que cambia el tamaño y forma de la glándula, reducción de la producción láctea e involución hasta la pérdida total de producción láctea de la glándula mamaria.<sup>95,96,146</sup>

**Mastitis inespecífica (aséptica).** En esta forma de la enfermedad no se puede aislar microorganismos de la leche, la mastitis puede ser subclínica o clínica, algunas veces el número de microorganismos causantes de la enfermedad son escasos y no se aíslan y se requiere de un cultivo específico.<sup>146</sup>

#### 2.2.5:2 Disminución de la producción láctea asociada con CCS elevadas

La ventaja de la puntuación de la CCS es que hay una relación entre ella y la pérdida en la producción de leche.<sup>81</sup>

Cada incremento de un punto en la CCS corresponde al doble de la CSS. También cada incremento de un punto en la CCS (por arriba de 50,000) o una puntuación de 2 resulta en un decremento adicional de 181.14 litros por lactancia; por ejemplo, un incremento entre el promedio de lactación de un punto de 4 a 5 (corresponde a la CCS de 200,000 a 400,000) lo que resultará en una pérdida adicional de 181.14 litros de leche de 544.31 litros hasta 363.17 litros de leche por vaca por lactación. En otro sentido, reduciendo el promedio de la CCS en 50 % se puede incrementar la producción en un estimado de 181.14 litros por vaca por lactación.<sup>81</sup>

Se ha encontrado una disminución de la producción láctea de 1.29 kg/día por cada incremento de una unidad en el  $\log_{10}$  (CCS) en vacas en la primera lactación y de 2.04 kg/día en vacas múltiparas.

#### 2.2.5:3 Costos de la mastitis bovina

La mastitis es la enfermedad más costosa de la industria lechera del mundo, la cuál representa aproximadamente el 26 % del costo total de las enfermedades

del ganado lechero, cerca del doble de la ocasionada por problemas reproductivos.<sup>95</sup>

Philpot (1997), reportó que un sólo caso de mastitis clínica puede causar un decremento de la producción de leche de 527 kg en un periodo de lactación. En casos repetidos (3 o más en una lactancia) puede causar una reducción subsecuente en las lactaciones de 381 kg de leche. También, una glándula infectada puede producir cerca de 725 kg menos de leche que una glándula no infectada.

En un estudio reciente en EUA, se encontró que el costo promedio de un caso de mastitis clínica era de \$107 dólares. Aproximadamente, \$90 (84 %) se perdieron debido a una menor producción láctea y leche desechada, como se indica en el Cuadro 5.

**Cuadro 5. Pérdidas económicas por vaca producidas por mastitis clínica**

Concepto	Pérdidas en dólares por vacas	Porcentaje
Menor producción láctea	55.00	51.5
Leche desechada	35.00	32.7
Medicamentos	12.00	11.2
Servicios veterinarios	2.00	1.8
Mano de obra extra	3.00	2.8
<b>Total</b>	<b>107.00</b>	<b>100.0</b>

Modificado de Phipolt WN y Nickerson SC. 1992.

#### 2.2.5:4 Efecto de la mastitis en la elaboración de derivados lácteos

Las pérdidas económicas relacionadas con la mastitis no están sólo asociadas a la granja, las pérdidas son también para el procesador de la leche.<sup>112</sup>

Las infecciones de la glándula mamaria causan grandes alteraciones en la composición de la leche,<sup>113</sup> afectando así su uso en la elaboración de productos lácteos.<sup>112</sup> Las enzimas proteolíticas causan una dependencia de tiempo y temperatura por la descomposición de la caseína, que es la proteína más abundante de la leche. La proteólisis de la caseína resulta en un

decremento de la producción de queso, generalmente se produce 1 kg de queso por cada 10 litros de leche, además, provee un sabor desagradable y decrece la vida de anaquel de los productos.<sup>114,115</sup>

La CCS es usada como un indicador de mastitis. Las investigaciones han documentado que la actividad de las enzimas proteolíticas se incrementa conforme aumenta la CCS. La actividad proteolítica se incrementa inmediatamente después de la iniciación de la respuesta de las células somáticas.<sup>114,116,117,118</sup>

Politis I y NG-Kwai-Hang, (1988), mencionan que un incremento en la CCS de 100,000 a 500,000/ml, se asocia con un decremento de 5 y 11 % en una producción ajustada y eficiencia de producción, respectivamente. Un incremento adicional de la CCS a 1'000,000/ml, resultó en una pérdida total de 8.7 y 13.0 % ajustado a la producción y eficiencia de producción, respectivamente. Además, la leche con mastitis contiene un mayor número de células, así como pH y cloruro de sodio más elevados, esto incrementa el tiempo de coagulación de la caseína y por tanto los costos de mano de obra.<sup>121</sup>

## 2.2. Hipótesis

Existe una mejora de la salud de la glándula mamaria de vacas lecheras, con la suplementación hipodérmica de selenio. Tiene correlación, el contenido de selenio sanguíneo con el estado de salud de la glándula mamaria en vacas lecheras.

## 2.3. Objetivo general

Determinar si la suplementación hipodérmica de selenio mejora la salud de la glándula mamaria de vacas lecheras a través de la correlación del contenido de selenio sanguíneo y la cuenta de células somáticas en la leche.

### 2.3.1 Objetivos específicos

2.3.1:1. Determinar la concentración sanguínea de selenio en vacas en los días -60, -30, 0, 30 y 60 del ciclo de producción.

2.3.1:2. Determinar el estado de salud de la glándula mamaria, mediante la cuantificación del número de células somáticas en leche por la prueba de Wisconsin para mastitis y por medio del examen propedéutico de la ubre.

2.3.1:3. Determinar la influencia de la concentración sanguínea de selenio sobre el estado de salud de las glándulas mamarias, mediante la utilización de un análisis de regresión lineal tomando en cuenta la variable de: número de parto, periodo de producción y tipo de tratamiento.

### III. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1 Ubicación

El estudio se llevó a cabo utilizando los animales de una unidad de producción lechera integrada por 250 vacas del grado genético Holstein Friesian, que se explotan bajo el sistema intensivo, con el uso de inseminación artificial, al inicio de trabajo experimental se encontró con los siguientes parámetros reproductivos: 210 días abiertos, 3.4 servicios por concepción, 15% de las vacas en descanso lactacional, 220 días de gestación para finalizar la lactancia, con una producción promedio al finalizar la lactancia de 10 litros de leche, el promedio de ordeña por vaca es de 5 a 6 minutos, el tiempo desde que salen del corral a la sala de ordeña y regresan a este es menor a 30 minutos, el porcentaje de casos clínicos mensual es menor al 1%, la cuenta promedio de células somáticas en el tanque de leche fue menor a 300,000 cel/ml. Se ubica en el municipio de Atitalaquia, Hgo. Su acceso es por la orilla del canal Tlamaco-Juandho. Se encuentra a 2,200 metros sobre el nivel del mar, se ubica entre los 20°04'15" de latitud norte y los 99°12'14" de longitud oeste del meridiano de Greenwich,<sup>101</sup> el clima dominante es el semiseco templado con lluvias en verano, presenta condición de canícula una pequeña temporada menos lluviosa dentro de la estación de lluvias llamada también sequía de medio verano, cuya fórmula climática según la clasificación de Köppen es BS<sub>1</sub>kw(w), con una precipitación media anual de 600 mm y una temperatura media anual de 18°C.<sup>102,103,104</sup>

#### 3.2 Integración de los tratamientos

Se utilizaron 42 vacas con 7 meses de gestación, de 2, 3, 4 y más de 5 partos, que estuvieran finalizando lactación, las cuales fueron asignadas al azar a tres tratamientos de 15, 14 y 13 vacas cada uno. El grupo 1) administración parenteral de 10 ml de un producto comercial (50 mg de selenito de sodio más



680 UI de vitamina E\*) al finalizar el periodo de lactación (60 días antes del parto) y 30 días antes del parto; grupo 2) administración parenteral de 10 ml del producto comercial, 50 mg de selenito de sodio más 680 UI de vitamina E, a los 30 días previos al parto y, grupo 3) administración de 10 ml de solución salina fisiológica al finalizar el periodo de lactación (60 días antes del parto) y al día 30 antes del parto.

### 3.3 Alimentación

Los animales fueron alimentados con forrajes producidos en la misma unidad de producción y en la región: alfalfa (*Medicago sativa*), ensilaje de maíz (*Zea mays*) y en la época de invierno con rye grass anual (*Lolium multiflorum*); los suplementos proteicos y energéticos fueron traídos de diferentes partes del país. La dieta integral fue elaborada en la unidad de producción, para las diferentes etapas.

#### Ración de vacas lactantes (Base húmeda %)

Ensilado de maíz	35.2
Alfalfa seca	17.0
Pasto rye grass (sarazo)	19.1
Concentrado	28.7

#### Concentrado (%)

Cáscara de cítricos	7.0
Pasta de soya	23.6
Maíz	53.0
Semilla de algodón	13.0
Grano de destilería	1.6
Minerales*	1.8

---

\*© MUSE, Lab. Schering-Plough

\*Composición de la Premezcla mineral

	Lactantes	Secas	Próximas parto
Ca %	7.0	4.0	5.0
P %	17.5	10.0	3.3
Mg %	4.0	8.0	2.0
K %	0.0	0.0	0.0
Na %	2.0	4.0	1.3
Cl %	3.0	6.0	3.0
S %	2.0	2.0	1.0
Co ppm	30	30	9.9
Cu ppm	1,000	700	230
Fe ppm	2,000	2,000	658
I ppm	80	80	26
Mn ppm	7,200	5,500	1,810
Se ppm	24	24	7.9
Zn ppm	7,200	5,000	1,645
Vit. A KIU/kg	325	813	267
Vit. D KIU/kg	65	163	53.6
Vit. E KIU/kg	300	750	502

Ración de vacas en descanso lactacional (Base Húmeda %)

Ensilado de maíz	69.0
Alfalfa verde	5.2
Heno de avena	6.9
Pasto rye grass (sarazo)	6.9
Concentrado	12.0

Ración de preparto (Base Húmeda %)

Ensilado de maíz	31.7
Alfalfa verde	17.1
Alfalfa seca	17.1
Avena picada	2.4
Heno de pasto rye grass (sarazo)	9.8
Concentrado	21.9

### 3.4 Toma de muestras

- 3.4.1 Muestras de sangre. Las muestras de sangre fueron colectadas de la vena coccígea, en tubos vacutainer de 10 ml sin anticoagulante, los días de muestreo fueron: al finalizar la lactancia o 60 días antes del parto (día -60), 30 días antes del parto (día -30), al momento del parto (día 0) y a los 30 días posteriores al parto (día 30). Los tubos con las muestras fueron identificados, una vez que las habían coagulado, fueron congeladas hasta su análisis en el laboratorio.
- 3.4.2 Muestras de la ración integral. Se obtuvieron muestras mensualmente de la ración integral directamente del pesebre del grupo de vacas: en descanso lactacional, preparto y en primer tercio de lactación durante los meses de octubre de 1999 a abril de 2000, para determinar el aporte de Se durante la investigación.
- 3.4.3 Muestras de leche. La colección de muestras de leche para análisis bacteriológico, se realizó en todos los animales de los grupos experimentales al finalizar el periodo de lactación, al momento del parto y a todos aquellos animales que presentaran un cuadro clínico de mastitis.
- Para la toma de las muestras, se prepararon cuidadosamente los pezones de las vacas, lavándolos con agua limpia, se secaron con toallas desechables de papel,<sup>105</sup> y se eliminaron los primeros chorros de leche (despunte).<sup>106</sup> Posteriormente, se desinfectó con una torunda impregnada con alcohol al 70% el ápice y meato del pezón previo a la colección de la leche. El muestreo se realizó durante el ordeño vespertino; se tomaron muestras compuestas, es decir de las cuatro glándulas mamarias en un mismo tubo vacutainer estéril, se identificaron y se mantuvieron en refrigeración (4°C), fueron enviadas inmediatamente al laboratorio, donde se procesaron siguiendo la metodología descrita por National Mastitis Council, (1999),<sup>125</sup> antes de las 48 horas posteriores a la toma de las muestras.

3.4.4 Identificación de mastitis. Para determinar el estado subclínico de las glándulas mamarias se realizó la prueba modificada de Wisconsin para mastitis, utilizando la escala, material y métodos descritos por Pérez, (1982) (Cuadro 6).<sup>107</sup> La prueba se realizó al finalizar el periodo de lactación, al momento del parto (en los primeros 5 días), a los 30 y 60 días posparto. La identificación de los cuadros clínicos de mastitis durante el experimento, se llevó a cabo diariamente mediante la prueba de tazón de fondo oscuro y al detectar alguna alteración ya sea en la glándula mamaria y/o secreción láctea, se realizó un examen clínico para el diagnóstico respectivo de la glándula afectada.

### 3.5 Determinación de selenio en sangre y en ración.

Las muestras de sangre y de la ración se digirieron con ácido nítrico, ácido perclórico y calor hasta la liberación total de la materia orgánica. Las lecturas del valor de Se fueron obtenidas utilizando el generador de hidruros acoplado al espectrofotómetro de absorción atómica y siguiendo las especificaciones del fabricante del equipo.<sup>108</sup>

El cálculo final de la concentración de Se se obtuvo refiriendo la concentración inicial, al convertir la absorbancia de la lectura siempre y cuando estuviera en el rango de las concentraciones estandar de la curva. Una vez conocida esta se consideró la alícuota aplicada, el volumen de suspensión y el peso de la muestra para referirlos a nanogramos (ng) de Se por gramo de muestra

Cuadro 6. Interpretación de la Prueba de Wisconsin

Leche ml	CCS		Leche ml	CCS		Leche ml	CCS	
0.1	≤55,922	S	2.1	1,044,965	E	4.1	5,397,146	E
0.2	≤55,922	S	2.2	1,180,237	E	4.2	5,705,758	E
0.3	≤55,922	S	2.3	1,324,177	E	4.3	6,023,038	E
0.4	≤55,922	S	2.4	1,427,678	E	4.4	6,348,985	E
0.5	≤55,922	S	2.5	1,638,056	E	4.5	6,683,599	E
0.6	55,922	S	2.6	1,807,997	E	4.6	7,026,880	E
0.7	61,189	S	2.7	1,986,604	E	4.7	7,378,827	E
0.8	75,123	S	2.8	2,173,879	E	4.8	7,739,442	E
0.9	97,724	S	2.9	2,369,820	E	4.9	8,108,724	E
1.0	128,992	S	3.0	2,574,429	E	5.0	8,486,673	E
1.1	168,927	S	3.1	2,787,704	E	5.1	8,873,289	E
1.2	217,529	S	3.2	3,009,647	E	5.2	9,268,572	E
1.3	274,799	S	3.3	3,240,256	E	5.3	9,672,522	E
1.4	340,735	S	3.4	3,479,533	E	5.4	10,085,139	E
1.5	415,338	S	3.5	3,727,477	E	5.5	10,506,423	E
1.6	498,608	S	3.6	3,984,087	E	5.6	10,936,374	E
1.7	590,546	S	3.7	4,249,365	E	5.7	11,374,992	E
1.8	691,150	So	3.8	4,523,309	E	5.8	11,822,277	E
1.9	800,421	So	3.9	4,805,921	E	5.9	12,278,229	E
2.0	918,359	So	4.0	5,097,200	E	6.0	12,742,848	E

Adaptado de Pérez (1985)<sup>107</sup>

S = sanas

So = sospechosas

E = enfermas

### 3.6 Análisis estadístico

La variable de células somáticas (CCS) se transformó a  $\log_{10}$  para cumplir con los supuestos de normalidad e independencia de los modelos paramétricos. Se utilizó un modelo de regresión lineal,<sup>109</sup> el cual contempla las siguientes variantes:

$$Y_{ijklmo} = \mu + T_i + P_j + TP_{ij} + V(TP)_{(ij)k} + \delta_{(ijk)} + DI + TD_{il} + W_m + E_{(ijkl)o}$$

Donde:  $Y_{ijklmo}$  es la o-ésima observación aleatoria de Se y CCS asociadas a la m-ésima salud de la vaca (Prueba de Wisconsin 1. sana, 2. sospechosa y 3. enferma), l-ésimo periodo (-60, -30, 0, 30 y 60), a la k-ésima vaca, al j-ésimo parto (1, 2, 3 y 4) y al i-ésimo tratamiento (1, 2 y 3),  $\mu$  es la media poblacional;  $\delta_{(ijk)}$  es el error de restricción debido a la aleatorización NID ( $0, \sigma_{\delta}^2$ ) y  $E_{(ijkl)o}$  es el error experimental NID ( $0, \sigma^2$ ).

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Concentración de selenio

La media de la concentración de selenio en sangre, de acuerdo al tratamiento fueron las siguientes: grupo 1 ( $71.72 \pm 4.3$ ), grupo 2 ( $66.87 \pm 4.0$ ) y grupo 3 ( $59.43 \pm 3.9$  ng/ml de selenio); donde los grupos tratados (1 y 2) con respecto al grupo testigo (3) presentaron un incremento del 17 y 11%, respectivamente ( $P < 0.01$ ) (Cuadros 7 y 8).

Cuando se consideraron diferentes periodos dentro del ciclo de producción, se observó que las medias de los cuadrados de las concentraciones sanguíneas de selenio del total de los animales fueron:  $41.64 \pm 3.62$  (día -60),  $60.93 \pm 3.07$  (día -30),  $75.42 \pm 2.52$  (día 0) y  $81.35 \pm 4.31$  (día 30) ng/ml de selenio. De acuerdo a los diferentes niveles de selenio en sangre, se observaron diferencias significativas entre los días 30, 0 y -30 con relación al grupo de vacas en el día -60 ( $P < 0.01$ ) (Cuadros 7 y 8) (Figura 1).

El valor de la media de la concentración sanguínea de selenio de acuerdo al estado de salud de las glándulas mamarias fue:  $71.43 \pm 2.12$ ,  $65.03 \pm 9.01$  y  $61.56 \pm 4.58$  ng/ml de selenio para animales identificados según la interpretación del Cuadro 6 como: sanos, sospechosos y enfermos, respectivamente.<sup>69</sup> Sólo se pudo observar una diferencia significativa en las concentraciones de selenio en sangre entre las vacas enfermas con relación a las vacas sanas ( $P < 0.01$ ) (Cuadro 8).

De acuerdo al número de partos, las medias de las concentraciones sanguíneas de selenio fueron:  $63.08 \pm 4.19$  (2° parto),  $62.16 \pm 4.16$  (3° parto),  $68.03 \pm 4.92$  (4° parto) y  $70.75 \pm 4.57$  (5° parto) ng/ml de selenio, no se encontró diferencia significativa entre el número de partos y la concentración de Se ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 8) (Figura 2).

El aporte promedio de Se por gramo de cada una de las tres diferentes formulaciones integrales fue: vacas en descanso lactacional ( $0.264 \pm 0.1$  ng/g), próximas al parto ( $0.343 \pm 0.11$  ng/g) y recién paridas ( $0.303 \pm 0.14$  ng/g). Todas las dietas se consideraron selenodeficientes y no hubo diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) (Figura 3).

Cuadro 7. Cuadrados medios para la variable; Concentración de Se en ng.

Origen de variación	gl	Se
Tratamiento	2	1797**
Parto	3	610
Tratamiento x Parto	6	376
Vaca (Tratamiento x Parto)	30	551
Salud de la ubre	2	725
Periodo	3	15038**
Tratamiento x Periodo	6	552
Error	117	255

\*\* $P < 0.01$



Cuadro 8. La media de los cuadrados y errores estándar de los efectos de tratamiento, número de parto, salud de la ubre y periodo para las variable; selenio expresado en ng.

Tratamiento	Se
1	71.72 ± 4.3 a
2	66.87 ± 4.0 a
3	59.43 ± 3.9 b
<b>Número de Parto</b>	
2	63.08 ± 4.19 a
3	62.16 ± 4.16 a
4	68.03 ± 4.92 a
5	70.75 ± 4.57 a
<b>Salud de la ubre</b>	
Sanas	71.43 ± 2.12 a
Sospechosas	65.03 ± 9.01 a
Enfermas	61.56 ± 4.58 b
<b>Periodo (días)</b>	
-60	41.24 ± 3.62 a
-30	60.93 ± 3.07 c
0	75.42 ± 2.52 b
30	81.35 ± 4.31 b
60	

a, b, c valores con distinta literal son diferentes P<0.01;  
± Error estándar

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

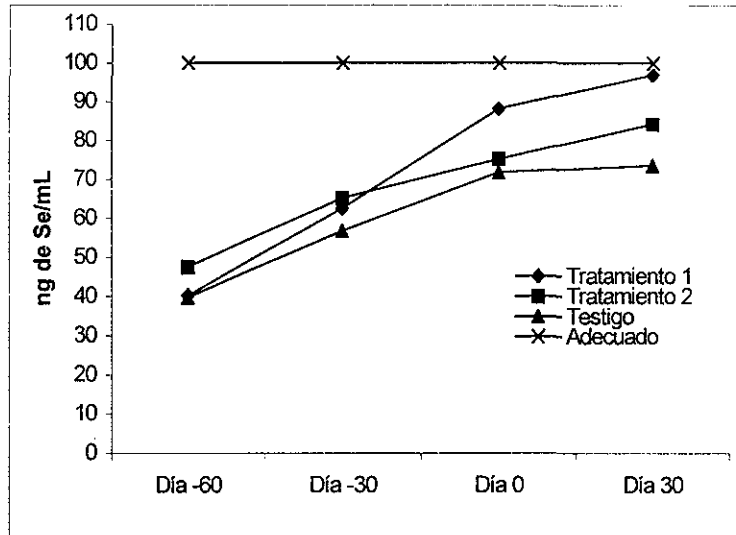


Figura 1. Concentración de selenio en sangre en vacas Holstein que fueron suplementadas vía hipodérmica a 60 y 30 días preparto (Tratamiento 1), 30 días preparto (Tratamiento 2) y no suplementadas (Testigo) en el Valle del Mezquital, Hgo.

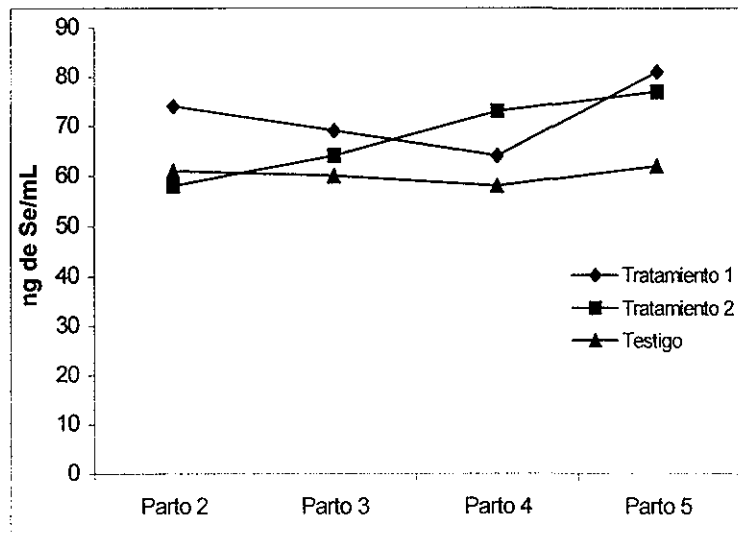


Figura 2. Concentración de selenio sanguíneo en vacas Holstein suplementadas por vía hipodérmica a 60 y 30 días preparto (Tratamiento 1), 30 días preparto (Tratamiento 2) y no suplementadas (Testigo) por número de parto.

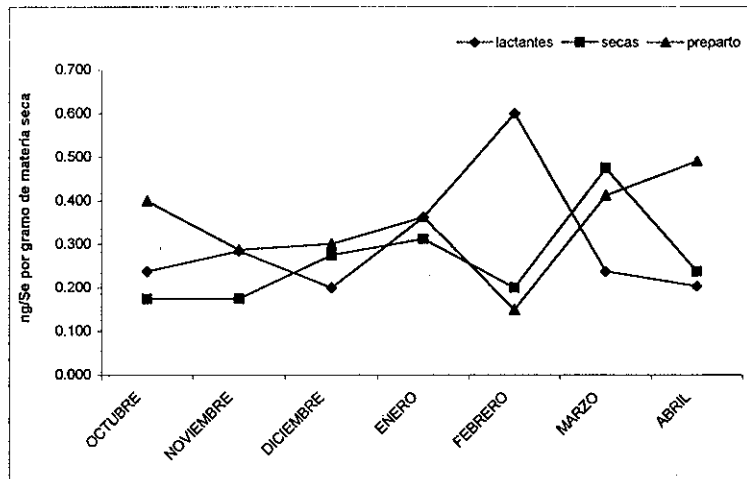


Figura 3. Concentración de selenio en la ración alimenticia de vacas Holstein en el Valle del Mezquital, Hgo.

#### 4.2 Cuenta de células somáticas

La media de los cuadrados de células somáticas (expresado en  $\text{Log}_{10}$ ) registrado de acuerdo al tipo de tratamiento aplicado fue:  $5.77 \pm 0.06$  (grupo 1),  $5.83 \pm 0.06$  (grupo 2) y  $5.84 \pm 0.05$  (grupo 3) cel/ml de leche, donde las diferencias entre los grupos no fueron significativas ( $P > 0.05$ ) (Cuadros 9 y 10). La media de la cuenta de células somáticas que se determinó en los diferentes periodos fueron:  $5.93 \pm 0.05$  (día -60),  $5.79 \pm 0.06$  (día 0),  $5.70 \pm 0.06$  (día 30) y  $5.84 \pm 0.06$  (día 60) cel/ml de leche. Se observó una disminución del número de células somáticas en leche del 2.4% para el día 0 y del 3.9% para el día 30 con respecto al día -60 ( $P > 0.01$ ) (Cuadro 9) (Figura 4).

De acuerdo al estado de salud de las glándulas mamarias, la cantidad de células somáticas presentes en las muestras de leche fue:  $5.21 \pm 0.02$  (sanas),  $5.88 \pm 0.12$  (sospechosas) y  $6.36 \pm 4.58$  (enfermas) cel/ml de leche. Se observó un incremento en la cantidad de células somáticas del 13% para el grupo de sospechosas y del 22% para el grupo de enfermas con relación al grupo de sanas, diferencias que fueron significativas ( $P < 0.01$ ) (Cuadros 9 y 10).

Con relación al número de parto, la cuenta de células somáticas fue:  $5.79 \pm 0.06$  (2° parto),  $5.86 \pm 0.06$  (3° parto),  $5.84 \pm 0.07$  (4° parto) y  $5.76 \pm 0.06$  (5° parto) cel/ml de leche. La diferencia registrada entre la cuenta más baja y la más alta fue sólo del 1.7%, resultando no ser significativa ( $P > 0.05$ ) (Cuadros 9 y 10) (Figura 5).

Cuadro 9. La media de los cuadrados y errores estándar de los efectos de tratamiento, número de parto, salud de la ubre y periodo para las variables; cuenta de células somáticas transformadas a  $\log_{10}$  (CCS).

Tratamiento	CCS
1	5.77 ± 0.06 a
2	5.83 ± 0.06 a
3	5.84 ± 0.05 a
<b>Número de Parto</b>	
2	5.79 ± 0.06 a
3	5.86 ± 0.06 a
4	5.84 ± 0.07 a
5	5.76 ± 0.06 a
<b>Salud de la ubre</b>	
Sanas	5.21 ± 0.02 a
Sospechosas	5.88 ± 0.12 b
Enfermas	6.36 ± 0.07 c
<b>Periodo (días)</b>	
-60	5.93 ± 0.05 a
-30	
0	5.79 ± 0.06 bc
30	5.70 ± 0.06 c
60	5.84 ± 0.06 ab

a, b, c valores con distinta literal son diferentes  $P < 0.01$ ;  
 ± Error estándar

Cuadro 10. Cuadrados medios para la variable; Cuenta de células somáticas (CCS) transformadas a  $\log_{10}$ .

ORIGEN DE VARIACIÓN	gl	CCS
Tratamiento	2	2.17
Parto	3	2.37
Tratamiento x Parto	6	0.76
Vaca (Tratamiento x Parto)	30	3.37
Salud de la ubre	2	39**
Periodo	3	5.35**
Tratamiento x Periodo	6	2.90*
Error	117	1.05

\*\*P<0.01

\*P<0.05

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

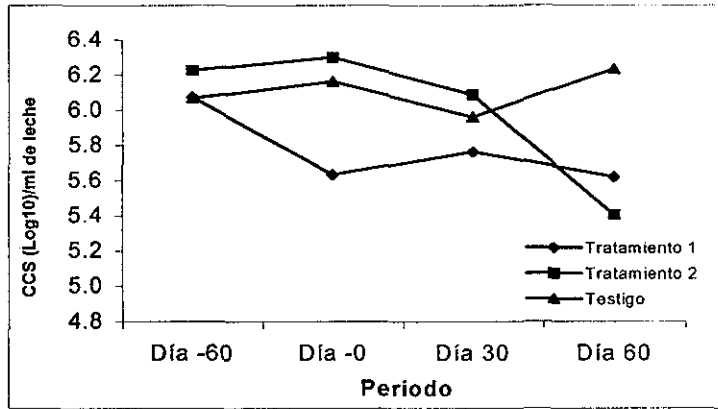


Figura 4. Cuenta de células somáticas por tratamiento en las diferentes etapas productivas.

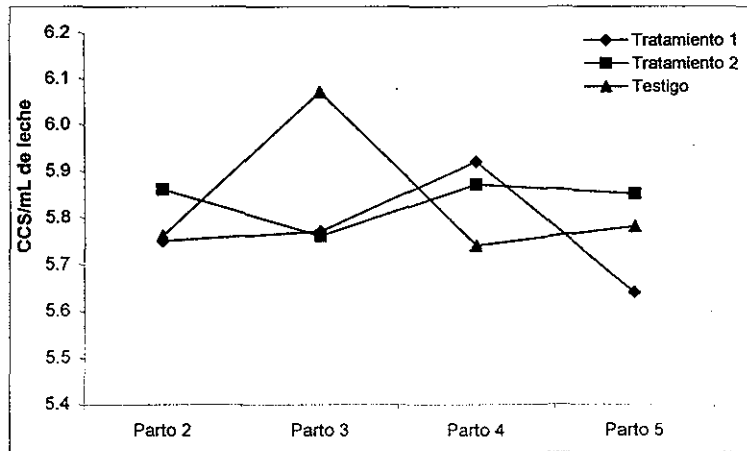


Figura 5. Células somáticas en leche de vacas agrupadas por el número de parto que recibieron selenio vía hipodérmica medidas por la Prueba de Wisconsin, transformadas a  $\log_{10}$ .

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### 4.3 Mastitis subclínica

El porcentaje promedio de la condición subclínica de las glándulas mamarias según el tipo de tratamiento fueron: 11.7% (grupo 1), 21.6% (grupo 2) y 22.5% (grupo 3), no encontrándose diferencias significativas entre los grupos de tratamiento ( $P>0.05$ ).

Cuando se consideraron los diferentes periodos del ciclo de producción se registró lo siguiente: 38% (16/42 vacas) para el día -60, 21.4% (9/42) para el día 0, 14.3% (6/42) en el día 30 y 9.5% (4/42) para el día 60 de mastitis subclínica por vaca.

Con respecto al número de parto, los porcentajes promedio de mastitis subclínica fueron: 17.75% (2° parto), 12.4% (3° parto), 16.5% (4° parto) y 43.9% (5° parto).

#### 4.4 Mastitis clínica

La presentación de cuadros clínicos de mastitis de acuerdo al tipo de tratamiento recibido fue: ningún caso clínico en el grupo 1, 15% (2/13) para el grupo 2, donde los microorganismos identificados fueron *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus dysgalactiae* y para el grupo 3 o testigo 20% (3/15), con la identificación de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en dos ocasiones.

La duración de la mastitis clínica en las vacas suplementadas una vez, fue menor a 30 días. De las vacas no suplementadas el 60 % de sus mastitis clínicas tuvieron una duración menor a 30 días y el 40 % de sus mastitis clínicas se convirtieron en crónicas, la bacteria aislada en éstas fue *Staphylococcus aureus*.

Los resultados del cultivo bacteriológico de las muestras de leche al finalizar la lactancia (día -60) con relación al momento del parto (día 0), para el grupo 1, se observó un crecimiento de 23% de sus muestras, las bacterias aisladas fueron *Escherichia coli* en 2 muestras y *Staphylococcus aureus* en 1 muestra,



con relación al momento del parto (día 0) el grupo 1, se observó un crecimiento de 15.4%, se aisló *Staphylococcus aureus* en 2 muestras; en el grupo 2, se observó un crecimiento de 29 % de sus muestras, las bacterias aisladas fueron *Escherichia coli* en 2 muestras y *Staphylococcus aureus* en 1 muestra, *Enterobacter* y *Staphylococcus coag-* 1, con relación al momento del parto (día 0) el grupo 2, se observó un crecimiento de 36%, se aisló *Escherichia coli* en 1 muestra, *Staphylococcus aureus* en 3 muestras y *Enterobacter* en 1 muestra; en el grupo 3, se observó un crecimiento de 33% en las muestras, las bacterias aisladas fueron *Escherichia coli* en 1 muestra y *Staphylococcus aureus* en 2 muestras, *Streptococcus uberis* en 2 muestras y *Staphylococcus coag-* 1 en muestra, con relación al momento del parto (día 0) el grupo 3, se observó un crecimiento de 53%, se aisló *Staphylococcus aureus* en 5 muestras, *Streptococcus uberis* en 2 muestras y *Staphylococcus coag-* 1 en muestra.

#### 4.5 Correlación entre selenio y células somáticas

Las correlaciones que se obtuvieron entre la concentración sanguínea de Se y el número de células somáticas en leche determinadas mediante WMT modificada fueron: a) tratamiento, el grupo 1 registró una correlación inversa  $r = -0.46$  ( $P < 0.01$ ) (Figura 6); b) periodo de producción, el día -60 se observó una correlación inversa  $r = -0.35$  ( $P < 0.05$ ) (Figura 7); c) estado de salud de la ubre, se registró una correlación inversa  $r = -0.22$  para glándulas sanas ( $P < 0.05$ ) (Figura 8); y d) número de parto, se observó que las vacas de segundo parto tuvieron una correlación inversa  $r = -0.32$  ( $P < 0.05$ ) (Figura 9). El resto de las diferentes combinaciones no presentaron una correlación significativa (Cuadro 8 y 9).

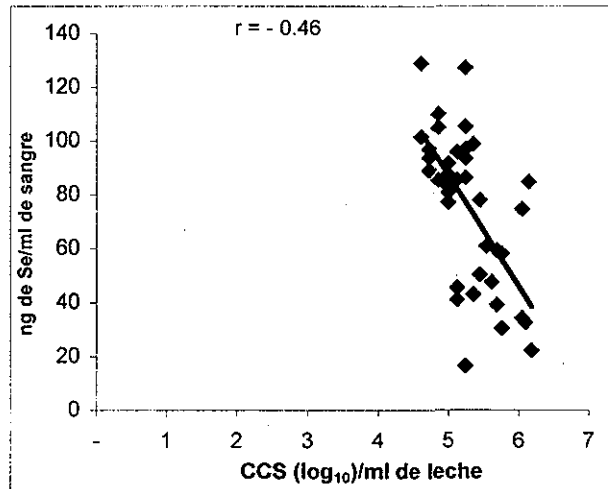


Figura 6. Correlación entre la CCS y la Concentración de Se sanguíneo de vacas suplementadas con selenito de sodio vía hipodérmica los días 60 y 30 preparto ( $P < 0.01$ ).

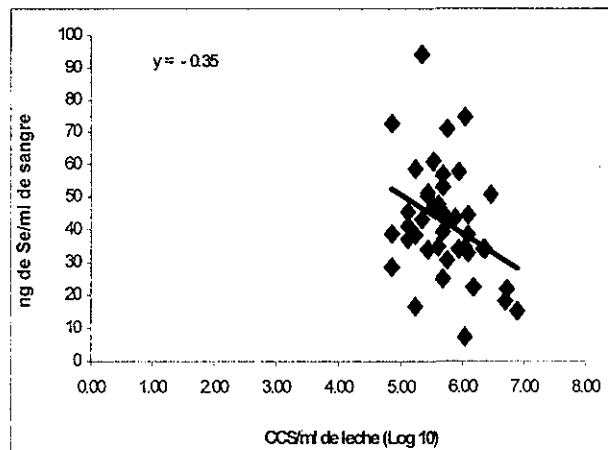


Figura 7. Correlación de la concentración sanguínea de selenio y la cuenta de células somáticas en leche al finalizar la lactancia de todos los animales experimentales ( $P < 0.05$ ).

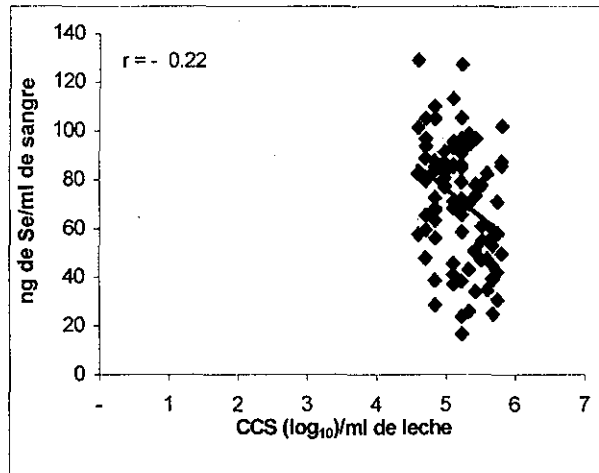


Figura 8. Correlación entre la CCS y Se sanguíneo en vacas con ubres sanas ( $P < 0.05$ ).

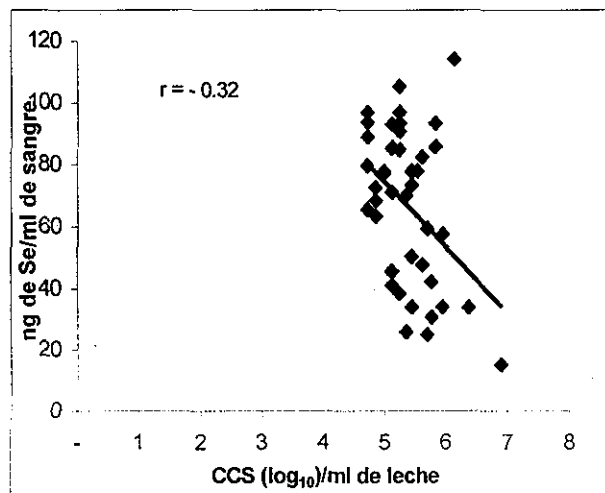


Figura 9. Correlación entre la CCS y Se sanguíneo en vacas de segundo parto ( $P > 0.05$ ).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## V. DISCUSIÓN

### 5.1. Concentración de selenio

Se observó que aquellos animales a los que se administró parenteralmente Se, tuvieron una concentración superior y significativa con relación al grupo testigo (grupo 3). Puede resultar lógico el hecho, ya que el recibir en dos ocasiones un suplemento a base de selenito de sodio, permite que los animales tengan en el organismo mayor disponibilidad de Se en comparación con aquellos animales que no fueron suplementados. Es importante señalar que el Se es incorporado a la GSH-Px durante la eritropoyesis y granulopoyesis. Sin embargo, aún cuando los animales recibieron 2 dosis de Se en el periodo preparto, las concentraciones sanguíneas resultaron ser todavía deficientes (categoría marginal)<sup>45,122,123,124</sup> (Figura 2).

Es difícil llegar a un consenso ya que en lo referente a la concentración de Se en la sangre; en la literatura consultada no se establecen claramente los valores para clasificar la concentración de Se como: deficiente, marginal o adecuada. Concentraciones de Se sanguíneo arriba de 30 µg/L han sido encontradas en animales con signos de degeneración muscular nutricional.<sup>45,122,123,124,126</sup> Counotte y Hartmans, (1982), Eversole *et al.*, (1988) y Andrews, (1991), parecen acordar que concentraciones debajo de 50 µg/L en sangre indican estado deficiente de Se.<sup>127,128,129</sup> Concentraciones de 50 a 75 µg/L en sangre son consideradas como marginales.<sup>122,123,124</sup> Rapstad *et al.*, (1987), Van Saun, (1990) y Fisher *et al.*, (1995), mencionan que concentraciones superiores a 100 µg/L en sangre son consideradas como marginales.<sup>45,130,131</sup> Otro autores como Segerson *et al.*, (1981); Gerloff (1982); Stowe y Herdt (1992) consideran que un mínimo de 100 µg/L de Se en sangre es requerido para lograr una capacidad inmune y fertilidad óptimas,<sup>132,133,134</sup> y Smith *et al.*, (1988) y Olson (1994), recomiendan 200 µg/L para alcanzar la resistencia óptima contra mastitis infecciosas.<sup>48,135</sup>

Durante el periodo de estudio, se observó un incremento lineal positivo en la concentración sanguínea de Se en todos los grupos, incluso en los animales no tratados, a partir del día 60 preparto ( $P < 0.01$ ), registrándose la máxima concentración de Se en la sangre hacia la semana 12 (81.3 ng de Se/ml), permaneciendo en la clasificación de marginal de acuerdo a lo señalado por la literatura<sup>45,122,123,124,130,131</sup> (Figura 2).

Dicho incremento en la concentración de Se en la sangre, se puede deber a que el Se es incorporado a la GSH-Px durante la eritropoyesis y los eritrocitos es donde se concentra la mayor parte del Se en el organismo.<sup>21,26,45</sup> También se debe aclarar que la determinación del Se se midió en sangre completa, además, coincide con el cese de la producción láctea, ya que el Se es eliminado a través de la leche,<sup>21,61,62</sup> y al cambio de la dieta de vacas en producción a vacas en descanso lactacional (secas), dicho cambio se centra en el incremento del porcentaje de inclusión de heno de gramíneas en la ración.

Cuando las concentraciones de Se son bajas, se puede observar la mayor incidencia de enfermedades como la Distrofia Muscular Nutricional (WMD, por sus siglas en inglés) en ovejas alimentadas con heno de leguminosas debido al tipo de ácidos grasos de éstas y al pH ruminal menor, lo que provoca en los animales una disminución de la absorción de Se, incluso cuando son iguales los contenidos de Se.<sup>24</sup> Godwin, (1970), señala que en ovejas con una sóla inyección con 50 mg de Se antes del apareamiento, se incrementa la concentración sanguínea por 2 o 3 meses, aunque este aumento no se refleja en la concentración de Se en la leche.<sup>138</sup> Maus *et al.*, (1980), observaron resultados similares a los obtenidos en el grupo testigo, donde las concentraciones de Se en sangre fueron superiores en comparación a las primeras determinaciones. También señalan que si se incrementa la disposición de Se en la ración de 2 a 6 mg/día, se observará un incremento lineal en la concentración sanguínea.<sup>46</sup>

Se observó que las diferencias en las concentraciones sanguíneas de Se fueron significativas ( $P < 0.01$ ) entre las vacas clasificadas por la prueba de WMT, como sanas, en relación con aquellas señaladas como enfermas (Cuadros 8 y 9). Esto

se puede relacionar con la respuesta inmune y a que vacas con concentraciones adecuadas de Se, tienen la capacidad de montar una respuesta de defensa eficiente para contrarrestar al agente agresor, recordando que dentro de los mecanismos de acción de los leucocitos, es fundamental la actividad de la enzima GSH-Px, que está conformada por 4 moléculas de Se.<sup>9,12,13,14,24,25,26</sup>

Al respecto, Erskine *et al.*, (1987), menciona haber encontrado una concentración sanguínea de 133 ng de Se/ml, en hatos con menos de 5.17 Log<sub>10</sub> ccs/ml de leche, cifra que indica salud.<sup>12</sup> Es importante señalar que las concentraciones sanguíneas de Se registradas en esta investigación para el grupo de vacas sanas (71.4 ng de Se/ml), son inferiores a lo mencionado por Erskine, *et al.*, (1987), además, cuando se encontraron concentraciones bajas de Se (74 ng de Se/ml), las cuentas de células somáticas fueron superiores a 700,000 CCS/ml de leche, resultando el estado de salud como sospechosas e incluso enfermas.<sup>12</sup>

Las diferencias en las concentraciones sanguíneas de Se con respecto al número de parto no fueron significativas ( $P > 0.05$ ). Hidiroglou *et al.*, (1987), observaron resultados similares a los obtenidos en el presente trabajo.<sup>144</sup> Sin embargo, mientras se incrementa el número de parto, al mismo tiempo aumenta su capacidad de consumo de alimento, lo que puede sugerir el incremento en la concentración de Se. El incremento en la concentración sanguínea de Se está influenciado por el número de partos o edad de las vacas.<sup>8</sup>

La deficiencia de Se en las diferentes raciones integrales, puede tener su origen en los forrajes mismos, dado que éstos crecen en tierras que son frecuentemente irrigadas con aguas negras, situación que influye en la disposición del Se por las plantas,<sup>1,29,30</sup> asimismo, al ser una ración integral, se asume que tiene un adecuado balance de nutrientes, por lo que alguna falla en la mezcla de los ingredientes puede ser otro factor a considerar.

## 4.2 Cuenta de células somática

El promedio de la cuenta de células somáticas de los animales que recibieron dos o una aplicación de Se, grupos 1 y 2, respectivamente, se encontraron dentro de la clasificación de ubres sanas ( $5.77 \text{ Log}_{10} \text{ cel/ml}$ ), según Pérez, (1982).<sup>107</sup> Mientras que en el grupo 3 el cual no recibió suplemento de Se, la cuenta de células somáticas, se ubicó dentro del límite superior de la clasificación de ubres sanas ( $5.84 \text{ Log}_{10} \text{ cel/ml}$ ). Sin embargo, los tres grupos del estudio no alcanzaron las concentraciones sanguíneas adecuadas de Se, situación que se puede deber en parte a la deficiencia de Se en la ración, a que la cantidad aplicada parenteralmente no fue suficiente para alcanzar concentraciones más altas y de esta forma se tuviera un efecto en la reducción de las células somáticas en la leche. Al respecto, Smith, (1984), Erskine, (1987), señalan que en animales con concentraciones sanguíneas de Se mayores a  $100 \text{ ng/ml}$ , se observa una cuenta de células somáticas menor a  $5.17 \text{ Log}_{10} \text{ cel/ml}$ .<sup>27,12</sup>

La relación que guarda el número de células somáticas con respecto al periodo de muestreo, se basa completamente en el estado de salud de la glándula mamaria. La salud de la ubre, dependerá de diversos factores ambientales y de manejo en los animales que finalizan el periodo de lactación o inician el periodo de descanso lactacional (secas). La suplementación con vitaminas y minerales es una de las formas en cómo se puede ayudar al animal para que el organismo tenga la capacidad de responder inmunológicamente y de reparar aquellos tejidos dañados en el periodo de producción, como es el caso del Se. La función específica del Se en el organismo, es formar parte de GSH-Px, enzima que desdobla los compuestos superóxidos y peróxidos de hidrógeno que son utilizados por los leucocitos para matar a los microorganismos agresores después de ser fagocitados.<sup>24,25,26,50,68,69,70,76</sup>

Por lo anterior, es importante señalar que en las vacas que recibieron dos aplicaciones de Se (grupo 1), se observó a lo largo del periodo de estudio, que la cantidad de células somáticas fue disminuyendo paulatinamente; para el grupo que recibió una sola aplicación (grupo 2), fue la misma situación, pero en menor

grado y finalmente para el grupo testigo (grupo 3), se mantuvieron constantes la cantidad de células somáticas (Figura 4). Lo anterior plantea la necesidad de suplementar con una mayor frecuencia y con dosis más elevadas de Se a los animales que finalizan lactación y en el periparto.<sup>27,28,34</sup>

Las cuentas de células somáticas encontradas en animales con diferentes números de partos, coinciden con lo señalado por diversos autores, quienes mencionan que no se tiene información para afirmar que vacas multíparas tienen un mayor número significativo de células somáticas, que aquellas vacas con un sólo parto.<sup>81,98</sup> Sin embargo, es necesario resaltar que la presencia de células somáticas en la leche es multifactorial, y uno de los principales factores es el estado de salud de las propias glándulas mamarias.



#### 4.3 Mastitis

Aunque la diferencia en los porcentajes de mastitis subclínica entre los grupos de estudio fue no significativo, se puede observar que las vacas que fueron suplementadas en dos ocasiones con selenito de sodio, presentaron un porcentaje menor de mastitis subclínica, situación contraria al grupo testigo en donde no se administró Se.

Uno de los principales factores a considerar es que el mecanismo de defensa de la glándula mamaria en vacas con deficiencia de Se, se encuentra comprometida la función eficiente de los leucocitos (células somáticas), específicamente en la acción de la GSH-Px, de la cual el Se forma parte estructural de la enzima que degrada los superóxidos utilizados por los leucocitos para matar a los microorganismos fagocitados, hasta metabolitos como agua o alcohol, mismos que no son tóxicos para las células y tejidos adyacentes.<sup>42,50,68,69</sup>

Con relación a la cantidad de células somáticas en la leche que registran las vacas al momento del parto y en periodos posteriores, es necesario considerar diversos factores como: la condición higiénica de los alojamientos del ganado, balance nutricional adecuado, capacidad de respuesta del sistema inmunológico del animal, presencia de infecciones latentes, virulencia de las cepas, tipo de tratamiento médico, etc. Como se ha mencionado anteriormente, las vacas con concentraciones adecuadas de Se, tienen una mejor capacidad de respuesta inmunológica, reflejándose en la duración y severidad de la mastitis, llegando incluso hasta la presentación clínica por la incapacidad del organismo para solucionar el problema.<sup>11,42,75,77</sup>

También se observó que el porcentaje de crecimiento de los cultivos bacteriológicos en la leche de los animales al parto, en comparación cuando los animales finalizaban lactación, fue menor (83.3%) para el grupo de animales suplementados dos veces con Se (grupo 1), con relación a los

animales no suplementados (grupo 3), en donde lejos de recuperarse, se observó un incremento en los crecimientos bacterianos de la leche (16.7%). Además de los cultivos positivos a crecimiento bacteriano, se identificó a *Staphylococcus aureus*, mismo que en muestreos posteriores no se volvió a aislar. El aislamiento de *Staphylococcus* coagulasa negativos y *Corynebacterium bovis* de un sólo muestreo dichos resultados han sido considerados como falsos positivos.<sup>136,137</sup>

## VI. CONCLUSIONES

Las funciones del selenio en el organismo son numerosas y todas ellas importantes, a tal grado que una deficiencia de este mineral puede causar la muerte de animales jóvenes y no permite la expresión máxima del potencial de producción en los adultos.

Con base en los resultados de esta investigación, se observó que la administración parenteral de selenio (50 mg selenito de sodio), no fue suficiente para lograr que las vacas tuvieran una adecuada concentración sanguínea de Se. Lo que se reflejó en la cantidad de células somáticas en la leche, cuentas que aunque se observaron menores en los grupos suplementados con Se, no fueron diferentes estadísticamente.

En la presente investigación, la concentración sanguínea de Se más elevada fue de (71.72 ng/ml), la cual de acuerdo con los diversos autores sería clasificada como marginal. Por lo que a partir de estas concentraciones, es cuando se observan los efectos tanto en la reducción de las células somáticas, como en la eficiencia del Se en el organismo.

Otro de los beneficios de la suplementación con Se en animales tanto en producción como en descanso lactacional, es la disminución de la prevalencia e incidencia de mastitis subclínica y clínica, así como la duración en la presentación de las mismas.

Se observó que la biodisponibilidad del Se, se hace más eficiente alrededor de las doce semanas después de su aplicación parenteral, por lo cual se recomienda iniciar con la suplementación de Se en las vacas que iniciarán su periodo de descanso lactacional (secas) por lo menos 90 días antes de la fecha esperada de parto.

Por lo anterior, es necesario continuar con investigaciones aplicadas que aporten datos sobre el efecto de la suplementación de los diferentes minerales, sobre los diversos parámetros productivos y reproductivos en el ganado lechero.

## VII. REFERENCIAS

1. Smith LK, Hogan JS. Producción de leche de calidad alrededor del mundo. Memorias del II Congreso Nacional de Control de Mastitis y Calidad de la Leche; 1999 junio 10-12; León (Guanajuato) México. Consejo Nacional de Mastitis AC, 1999; 33-37.
2. Rosiles MR, Olvera GC, Álvarez VR. Liberación de selenio in vitro a partir de bolos minerales con cuatro tipos de cemento adhesivo y en pH de 7.0, 6.5 y 5.5. Vet Méx. 1998; 29(3).
3. McDowell LR, Valle G, Rojas LXV, Pereira VJ. Importancia de la suplementación mineral completa en la reproducción de vacas. En: XXIII Simposium de Ganadería Tropical. Interacción nutrición-reproducción en ganado bovino. Veracruz (Veracruz) México. 1997; 31.
4. Maynard AL. Los elementos inorgánicos y su metabolismo. En: Nutrición animal. (Editores Maynard AL, Loosli KJ, Hintz FH, Warner GR). 7ª ed. México: McGraw Hill. 1983.
5. Church DC. Microminerales. En: Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. (Editores Church DC, Pond WG). 2ª ed. México: Noriega Limusa. 1990.
6. Food and Drug Administration. Food additives permitted in feed and drinking water of animals: Selenium. Federal Register. 1979; 44:5392 (Friday, January 26).
7. Food and Drug Administration. Food additives permitted in feed and drinking water of animals: Selenium. Federal Register. 1987; 52:10887 (Monday, April 6).
8. National Research Council. Selenium in nutrition. 2nd rev. ed. Natl. Acad. Sci, Washington DC. Weiss-Se. 1983; 75.
9. Scherf H, Williams SN. La vitamina E y el selenio: Un enfoque nutricional para mejorar la salud de las vacas lecheras. En: memoria de la 10ª Conferencia Internacional sobre ganado lechero. México D.F. 1994; 15-24.

10. Dávalos JL. La producción de leche en México: Un enfoque socioeconómico. En: Imagen Veterinaria. 2000; 1: 3: 11-21.
11. Hogan JS, Weiss WP, Smith KL. Role of vitamin and selenium in host defense against mastitis. J Dairy Sci. 1993a; 76:2795.
12. Erskine RJ; Eberhard LJ, Hutchinson LJ y Scholz RW. Blood selenium concentrations and low somatic cell counts. JAVMA. 1987; 190: 1417-1421.
13. Duane NR, Gerald RB. Cuenta de células somáticas y calidad de la leche. 1999. <http://www.ianr.unl.edu/pubs/Dairy/g1151.htm>.
14. Philpot WN. El reto del presente para satisfacer las necesidades del mañana. En: Memorias del Congreso Panamericano de Control de Mastitis y Calidad de la Leche; 1998 marzo 23-27; Mérida (Yucatán) México. Asociación Iberoamericana de Médicos Especialistas en Producción Animal, AC (AIAMVEPA, AC). 1998; 2-3.
15. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Boletín bimestral de leche. Centro de Estadística Agropecuaria. Vol VII, Núm. 4. México, D.F. 1999; 67.
16. FAO. 2000. FAO. Statistical databases. Web site of the Food and Agriculture Organization of the United Nations. [www.fao.org](http://www.fao.org).
17. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Censo poblacional 2000. Sitio web <http://www.inegi.gob.mx> > [www.inegi.gob.mx](http://www.inegi.gob.mx).
18. Fuhrmann T. Importancia de la calidad de la leche y control de la mastitis. En: Reunión Regional 1996. Consejo Nacional de Mastitis. Julio 26 de 1996. Querétaro (Querétaro) México. 1996; 5-10.
19. Pérez DME. Revisión sobre la calidad de la leche en México. En: Reunión Regional 1996. Consejo Nacional de Mastitis. Julio 26 de 1996. Querétaro (Querétaro) México. 1996: 1-4.
20. Philpot W.N. Producción de leche cruda de buena calidad. Memorias del 2do Congreso Nacional de Control de Mastitis y Calidad de la Leche; 1999 junio 10-12; León (Guanajuato) México. Consejo Nacional de Mastitis A.C. 1999; 75-80.

21. Ammerman CB, Miller SM. Selenium in ruminant nutrition: A review. *J Dairy Sci.* 1975; 58:1561-1577.
22. Franke KW. A new toxicant occurring naturally in certain samples of plant foodstuffs. I. Results obtained in preliminary feeding trials. *J Nutr.* 1934; 8597.
23. Schwarz K, Foltz CM. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J Am Chem Soc.* 1957; 79: 3292.
24. McDonald P, Edwards R, Greenhalgh JFD. *Vitaminas En: Nutrición animal.* 4ª. ed. España: Acribia. 1993.
25. Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, Swanson A, Hafeman, Hoekstra WG. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *J Dairy Sci.* 1973; 179: 588.
26. Domínguez VIA. Avances sobre nutrición de minerales traza en ovinos. En: *Memoria del Curso avances en nutrición ovina I.* 2000 Junio 1 y 2; Universidad del Estado de México (Toluca) México. 2000; 121-147.
27. Smith KL, Harrison JH, Hancock DD, Todhunter DA, Conrad HR. Effect of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. *J Anim Sci.* 1984; 67: 1293.
28. Smith KL, Hogan JS, Conrad HR. Vitamin E, selenium levels may be linked to mastitis in dairy cows. *Feedstuffs.* 1987 June 8-10.
29. National Research Council. *Requirements of sheep.* Subcommittee on sheep nutrition, Committee on animal nutrition, Board of agriculture. 6th ed. National Research Council, Washington DC. 1985.
30. Ryssen van VJB, Bradfield GD. An assessment of the selenium, copper and zinc status of sheep on cultivated pastures in the natal Midlands. *S Afr Vet Ass.* 1992; 63:156-161.
31. Hidioglou M. Zinc, copper and manganese deficiencies and the ruminant skeleton. *Can J Anim.* 1980; 60: 579-590.
32. Georgievskii VI, Annenkov BN. *Mineral nutrition of animals.* Butterworths, London. 1982.

33. Gill WW, Rice HB. Factors affecting selenium status of forages. *Animal Nutrition and Health*. 1985 May 26.
34. Gerloff BL. Effect of selenium supplementation on dairy cattle. *J Anim Sci*. 1992; 70: 3934-3940.
35. White CL, Somers. Sulphur – selenium studies in sheep. I. The effects of varying dietary sulphate and selenomethionine on sulphur, nitrogen and selenium metabolism in sheep. *Aust J Biol Sci*. 1977; 30: 47.
36. Allaway WH. Selenium in the food chain. *Cornell Vet* 1973; 63: 152-167.
37. Underwood EJ. Trace elements in human and Animal nutrition. 4th ed. Academic Press, New York, 1977.
38. Muth OH, Oldfield JE, Remmert LF, Schubert JR. Effects of selenium and vitamin E on white muscle disease. *Science (Washington DC)*. 1958; 128: 1090.
39. Aluja A de S, Adame P. Miopatía degenerativa en becerros. *Vet Méx*. 1977; 8: 2-12.
40. Aluja A de S, Rocha AM, Ochoa P. Determinación de niveles de selenio sérico en becerros de dos establos localizados en le Estado de México. *Vet Méx*. 1981; 12: 85-88.
41. Buck WB, Osweiler GD, Geldervan GA. Selenio. *Toxicología Veterinaria Clínica y Diagnóstica*. Acribia, Zaragoza, España. 1981.
42. Suttle NF. Changes in the availability of dietary copper to young lambs associated with age and weaning. *J Agric Sci*. 1975; 84: 255-261.
43. Rook JAF, Thomas PC. En: *Fisiología de la nutrición en los animales domésticos*. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. México. 1989.
44. Smith HA, Jones TC, Hunt RD. *Veterinary pathology*. 4th ed. Lea and Febiger. Philadelphia, PA. 1972.
45. Van Saun RJ. Rational approach to selenium supplementation essential. *Feedstuffs*, 1990 January 15: 15.



46. Maus RW, Martz FA, Belyea RL, Weiss MF. Relationship of dietary selenium to selenium in plasma and milk from dairy cows. *J Dairy Sci.* 1980; 63: 532.
47. Stevens JB, Olson WG, Kraemer R, Archambeau J. Serum selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in cattle grazing forages of various selenium concentrations. *Am J Vet Res.* 1985; 46: 1556.
48. Smith KL, Hogan JS, Conrad HR. Selenium in dairy cattle: Its role in disease resistance. *Vet Med.* 1988; 83(1): 72.
49. Stowe HD, Herdt TH. Clinical assessment of selenium status of livestock. *Anim Sci.* 1992; 70: 3928.
50. Smith KL, Hogan SJ, Weiss PW. Dietary vitamin E and selenium affect mastitis and milk quality. *J Anim Sci.* 1997; 75: 1659-1665.
51. McDowell LR, Salih Y, Hentges JF, Wilcox CJ. Selenium supplementation and concentration of selenium in cattle tissues and fluids. *Nutr Res.* 1990; 20: 793-800.
52. Mahan D. El desarrollo biotecnológico del selenio orgánico y su valor para la ganadería y humanos. En: Memoria del seminario "Biotecnología para la alimentación animal". AMENA. México, D.F. 1999; 126.
53. Kyiden Y, Kimikasu I, Munemiro Y. Vitamin B<sub>6</sub> dependence of seleniomethionine and selenite utilization for glutathione peroxidase in rat. *J Nutr.* 1979; 109: 760-766.
54. Burk RF. Molecular biology of selenium with implication for its metabolism. *FASEB J.* 1991; 5: 2274.
55. Bergen WG, Bates DB. Ionophores: Their effect on production efficiency and mode of action. *J Anim Sci.* 1984; 58: 1465.
56. Davidson WB, Kennedy DG. Synthesis of [<sup>75</sup>Se] selenoproteins is greater in selenium-deficient sheep. *J Nutr.* 1993; 123: 689-694.
57. Henry PR, Ammerman CB. Selenium bioavailability. In: Ammerman, CB, Baker DH and Lewis AJ. Ed. Bioavailability of nutrients for animals. Academic Press, New York. 1995; 303-331.

58. Burk RF and Hill KE. Regulation of selenoproteins. *Annual Review of Nutrition*. 1993; 13: 65-81.
59. Langlands JP, Donald GE, Bowles JE, Smith AJ. Selenium excretion in sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*. 1986; 37: 201-209.
60. Archer JA, Judson GJ. Selenium concentration in tissues of sheep given a subcutaneous injection of barium selenate or sodium selenate. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 1994; 34: 581-588.
61. Meneses A, Batra TR, Hidioglou M. Vitamin E and selenium in milk of ewes. *Canadian Journal of Animal Science*. 1994; 71: 567-569.
62. Conrad HR, Moxon AI. Transfer of dietary selenium to milk. *J Dairy Sci*. 1979; 62: 404-411.
63. Hidioglou M, Proulx J, Jolette J. Intraruminal selenium for control of nutritional muscular dystrophy in the dairy cow. *J Dairy Sci*. 1985; 68: 57-66.
64. Zachara BA, Frafikowska V, Lejman H, Kimber C, Kaptur M. Selenium and glutathione peroxidase in blood of lambs born to ewes injected with barium selenate. *Small Ruminant Research*. 1993; 11: 135-141.
65. Langlands JP, Donald GE, Bowles JE, Smith AJ. Selenium supplements for grazing sheep. 1. A comparison between soluble salts and other forms of supplement. *Animal Feed Science and Technology*. 1990; 28: 1-13.
66. Ávila TS. Fisiopatología de la glándula mamaria y ordeño [computer program]. México, D.F. (Méx.): Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM; 2000.
67. Mass JP. Diagnosis and management of selenium responsive diseases in cattle. *Comp. Contin. Educ. Pract. Vet*. 1983; 5: 393.
68. Diplock AT. The role of vitamin and selenium in the prevention of oxygen-induced tissue damage. In: JE Spall-Holz, JL Martin and HE Gather (Ed.) *Selenium in Biology and Medicine*. AVI Publishing, Hartford, CT. 1981: 303.
69. Erskine RJ. Nutrition and mastitis. In: KL Andersen (Ed.) *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. WB Saunders, Philadelphia, PA. 1993; 551.

70. Putman ME, Comben N. Vitamin E. *Vet Rec.* 1987; 121: 541.
71. Halliwell B, JMC Gutteridge. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals, and disease. *Biochem J.* 1984; 219: 1.
72. Miller JKE, Brzezinska-Slebodzinska, FC Madsen. Oxidative stress, antioxidants and animal function. 1993; 76: 2812.
73. Bendich A. Antioxidant micronutrients and immune responses. *Ann New York Acad Sci.* 1990; 587: 168.
74. Rice DA, Kennedy S. Assessment of vitamin E, selenium and polyunsaturated fatty acid interactions in the etiology of disease in the bovine. *Proc Nutri Soc.* 1988; 47: 177.
75. Craven N, Williams MR. Defenses of the bovine mammary gland against infection and prospects for their enhancements. *Vet Immunol Immunopath.* 1985; 2: 71.
76. Babior BM. The respiratory burst of phagocytes. *J Clin Invest.* 1984; 73: 599.
77. Gyang EO, Stevens JB, Olson WG, Tsitsamis SD, Usenik EA. Effects of selenium - vitamin E injection on bovine polymorphonucleated leukocytes phagocytosis and killing of *Staphylococcus aureus*. *Am J Vet Res.* 1984; 45: 175.
78. Prescott SC, RS Brees. The determination of the number of body cells in milk by a direct method. *J Infect Dis.* 1910; 7: 632.
79. Lee CS., FBP Wooding, P Kemp. Identification properties, and differential counts of cell populations using electron microscopy of dry cows secretions, colostrum and milk from normal cows. *J Dairy Res.* 1980; 47: 39.
80. Bodoh GW, Battista WJ, Schultze LH, Johnston RP. Variation in somatic cell counts in dairy herd improvement milk samples. *J Dairy Sci.* 1976; 59: 1119.
81. Harmon RJ. Somatic cell counts: A primer. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings. 2001.

82. Bramley AJ, Cullor JS, Erskine RJ, Fox LK, Harmon RJ, Hogan JS, Nickerson SC, Oliver SP, Smith KL, Sordillo LM. Current Concepts of Bovine Mastitis. 4<sup>th</sup> Edition. National Mastitis Council, Madison, WI. 1996.
83. Anderson KL, Kindahl H, Petroni A, Smith AR, Gustafsson BK. Arachidonic acid metabolites in milk of cows during acute coliform mastitis. *Am J Vet Res.* 1985; 46: 1573.
84. Babiuk LA, Sordillo LM, Campos M, Hughes HPA, Rossi-Campos A, Harland R. Application of interferon in control of infectious diseases of cattle. *J. Dairy Sci.* 1991; 74: 4385.
85. Daley, M.J., P.A. Coyle, T.J. Williams, G. Furda, R. Dougherty, and P.W. Hayes. *Staphylococcus aureus* mastitis: Pathogenesis and treatment with bovine interleukin-1 $\beta$  and interleukin-2. *J. Dairy Sci.* 1991; 74:4413.
86. Giri SN, Chen Z, Carroll EJ, Muller R, Schiedt MJ, Panico L. Role of prostaglandins in pathogenesis of bovine mastitis induced by *Escherichia coli* endotoxin. *Am J Vet Res.* 1984; 45: 586.
87. Shuster DE, Kehrli ME, Stevens MG. Cytokine production during endotoxin-induced mastitis in lactating dairy cows. *Am J Vet Res.* 1993; 54: 80.
88. Zia S, Giri SN, Cullor JS, Emau P, Osburn BI, Bushnell RB. Role of eicosanoids, histamine, and serotonin in the pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*-induced bovine mastitis. *Am J Vet Res.* 1987; 48: 1617.
89. Harmon RJ, Heald CW. Migration of polymorphonuclear leukocytes into the bovine mammary gland during experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis. *Am J Vet Res.* 1982; 43: 992.
90. Nickerson SC, Pankey JW. Neutrophil migration through teat end tissues of bovine mammary quarters experimentally challenged with *Staphylococcus aureus*. *J Dairy Sci.* 1984; 67: 826.
91. Paape MJ, Wergin WP, Guidry AJ. Leukocytes – second line of defense against invading mastitis pathogens. *J Dairy Sci.* 1979; 62: 135.
92. Nonnecke BJ, Harp JA. Effect of chronic staphylococcal mastitis on mitogenic responses of bovine lymphocytes. *J Dairy Sci.* 1986; 68: 3323.

93. Laevens H, Deluyher H, Schukken YH, de Meulemeester L., Vandermeersch R, de Muelenaerem E, de Kruif A. Influence of parity and stage of lactation on somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. *J Dairy Sci.* 1997; 80: 3219-3226.
94. Harmon RJ. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J Dairy Sci.* 1994; 77: 2103.
95. Philpot WN, Nickerson S. *Mastitis Counter Attack.* Babson Bros. Co., 1880 Country Farn Drive, Naperville, Il. 1992.
96. National Mastitis Council: Glossary of terms. <http://www.nmconline.org/glossary.htm>.
97. Dohoo IR, Meek AH. Somatic cell counts in bovine milk. *Can Vet J.* 1982; 23: 119.
98. Eberhart RJ, Gilmore HC, Hutchinson LJ, Spencer SB. Somatic cell counts in DHI samples. *Proc Ann Mtg. National Mastitis Council.* 1979; 32.
99. White F and Rattray EAS. Diurnal variation in the cell content of cow's milk. *J Comp Pathol.* 1965; 75: 253.
100. Ochoa GP. Aspectos genéticos de la mastitis bovina. *Memorias del 2do Congreso Nacional de Control de Mastitis y Calidad de la Leche; 1999 junio 10-12; León (Guanajuato) México. Consejo Nacional de Mastitis A.C.* 1999.
101. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. *Carta Topográfica MIXQUIAHUALA F14C89.* México. 1999.
102. Secretaría de Programación y Presupuesto. *Atlas Nacional del Medio Físico. Carta de climas,* 1981; 5: 110.
103. Secretaría de Programación y Presupuesto. *Atlas Nacional del Medio Físico. Carta de precipitación total anual,* 1981; 7: 110.
104. Secretaría de Programación y Presupuesto. *Atlas Nacional del Medio Físico. Carta de temperatura media anual,* 1981; 6: 110.
105. National Mastitis Council, Inc. *Microbiological procedures for the diagnosis of bovine mastitis.* University of New Hampshire Press, USA 1969.

106. Hernández AL y García DGA. Diagnóstico bacteriológico general de mastitis bovina. Memorias del Congreso Nacional de Control de Mastitis y Calidad de la Leche; 1997 mayo 30 y 31; León (Guanajuato) México. 1997.
107. Pérez DM, Castillo RF, Campos VR y Murillo SE. Métodos físico – químicos para el diagnóstico de la mastitis subclínica. En: Manual sobre ganado productor de leche. Ed. Diana, México. 1982; 720-721.
108. Analytical methods por atomic absorption spectrometry. Perkin elmer 1994. Connecticut U.S.A.
109. Sas® User's Guide. Statistic 2000. SAS Inst. Inc. Cary NC.
110. Gerloff BL. Effect of selenium suplementation on dairy cattle. J Anim Sci. 1992; 70: 3934-3940.
111. Eberhart RJ, Hutchinson LJ, Spencer SB. Relationships of bulk tank somatic cell counts to prevalence of intramammary infection and to indices of herd production. J Food Prot. 1982; 45: 1125-1128.
112. Everson TC. Concerns and problems of processing and manufacturing in super plants. J Dairy Sci. 1984; 67: 2095.
113. Wheelock JV, Rook JA, Neave FK, Dodd FK. The effect of bacterial infection of the udder on the yield and composition of cow's milk. J Dairy Res. 1966; 33: 199.
114. Ali AE, Andrews AT, Cheeseman GC. The influence of elevated somatic cell count on casein distribution and cheese making. J Dairy Res. 1980; 47: 393.
115. Senyk GF, Barbano DM, Shipe WF. Proteolysis in milk associated with increasing somatic cell counts. J Dairy Sci. 1985; 68: 2198.
116. Anderson M, Andrews AT. Progressive changes in individual milk protein concentrations associated with high somatic cell counts. J Dairy Res. 1977; 44; 223.
117. Andrews AT. Breakdown of casein by proteinases in bovine milks with high somatic cell counts arising from mastitis or infusion with bacterial endotoxin. J Dairy Res. 1983; 50; 57.

118. DeRham O, Andrews AT. Qualitative and quantitative determination of proteolysis in mastitis milk. *J Dairy Res.* 1982; 49: 587.
119. Harrison JH, Conrad HR. Effect of dietary calcium on selenium absorption in the nonlactating dairy cow. *J Dairy Sci.* 1984b; 67: 1860.
120. Harrison JH, Conrad HR. Effect of selenium intake on selenium utilization by the nonlactating dairy cow. *J Dairy Sci.* 1984a; 67: 219.
121. Politis I, Ng-Kwai-Hang KF. Association between somatic cell count of milk and cheese – yielding capacity. *J Dairy Sci.* 1988; 71: 1720-1727.
122. Jensen PT, Agergaard N. Selenium deficiency in cattle. Evaluation of the selenium status in some herds of cattle by glutathione peroxidase determination. In Danish with an English summary. *Dan. Veterinaertidsskr.* 1981; 64: 603-612.
123. Mathis A, Horber H, Jucker H. Metabolism of selenium in cattle; A review. In German with an English summary. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 1982; 124: 591-601.
124. Dargatz DA, Ross PF. Blood selenium concentrations in cows and heifers on 253 cow-calf operations in 18 states. *J Anim Sci.* 1996; 74: 2891-2895.
125. National Mastitis Council. Laboratory handbook on bovine mastitis. Revised Edition 1999.
126. Radostits OM, Blood DC, Gay CC. *Veterinary medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses.* (8th Ed.) W. B. Saunders Company, Philadelphia, PA. 1994.
127. Caunotte GMH, Hartmans J. The relation between selenium in whole blood and glutathione peroxidase and some aspects of the selenium status of cattle in the Netherlands. In: D. J. Blackmore (Ed.) *Animal Clinical Biochemistry: The future.* Cambridge University Press, Cambridge, U.K. 1982; 356-562.
128. Eversole DE, Thatcher DC, Blodgett DJ, Meldrum JB, Kent HD. Repletion of blood selenium concentrations in weaned beef calves. *Cornell Vet.* 1988; 78: 75-87.

129. Andrews AH. Trace element disorders. In; A. H. Andrews, R.W. Blowey, H. Boyd and R. G. Eddy (Ed. ) *Bovine medicine: Diseases and Husbandry of cattle*. Black well Science Inc., London. 1991; 267-270.
130. Ropstad E, Overnes G, Refsdal A. Selenium levels in Norwegian dairy herds related to reproductive and health performance. *Acta Agric Scand*. 1987; 37: 397-405.
131. Fisher DD, Saxton SW, Elliott RD, Beatty JM. Effects of selenium sources on Se status of lactating cows. *Vet Clin Nutr*. 1995; 2: 68-73.
132. Segerson EG, Riviere GJ, Dalton HL, Whitacre MD. Retained placenta of Holstein cows treated with selenium and vitamin E. *J Dairy Sci*. 1981; 64: 1833-1836.
133. Gerloff BJ. Effect of selenium supplementation on dairy cattle. *J Anim Sci*. 1992; 70: 3934-3940.
134. Stowe HD, Herdt TH. Clinical assessment of selenium status of livestock. *J Anim Sci*. 1992; 70: 3928-3933.
135. Olson JD. The role of selenium and vitamin E in mastitis and reproduction of dairy cattle. *Bovine Pract*. 1994; 28: 47-49.
136. Rainard P, Ducelliez M, y Poutrel B. The contribution of mammary infections by coagulase negative staphylococci to herd bulk milk SCC. *Vet Res*. 1990; 14: 193.
137. Sheldrake RF, Hoare RST y McGregor GD. Lactation stage, parity and infection affecting somatic cells, electrical conductivity and serum albumin in milk. *J Dairy Sci*. 1983; 66: 542.
138. Godwin KO. Selenium and oestrogenic pastures. In: *Trace element metabolism in animals*. C. F. Mills, ed. E & S Livingstone, London. 1970; 218.
139. Guerrero BLL, Bautista OJA y Rosiles MR. Interrelación del contenido de selenio y cobre en lana de ovinos y suelo de la zona de pastoreo de Cuajomulco y Tres Mariás, Morelos, Mexico. En: *Vet Méx*. 28(1) 1997: 51.



140. Gilson W. Interpreting and using mastitis screening tests. <http://www.ces.uga.edu/pubed/69113-.htm>
141. Hurley WL. Introduction to mastitis. University of Illinois, web info.
142. Castillo CIG. Efectos de los micronutrientes en la mastitis y calidad de la leche en bovinos lecheros. En: Memorias del Congreso Panamericano de Control de Mastitis y Calidad de la Leche; 1998 marzo 23-27; Mérida (Yucatán) México. Asociación Iberoamericana de Médicos Especialistas en Producción Animal, AC (AIAMVEPA, AC). 1998; 340-343.
143. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Boletín bimestral de leche. Centro de Estadística Agropecuaria. Vol VII, Núm. 10-11. México, D.F. 2000; 56-57.
144. Hidiroglou M, McAllister AJ, Williams CJ. Prepartum supplementation of selenium and vitamin E to dairy cows: Assessment of selenium status and reproductive performance. J Dairy Sci. 1987; 70: 1281-1288.
145. Gabbedy BJ, Masters H. and Bodington EB. White muscle disease of sheep and associated tissue selenium levels in Western Australia. Austr Vet J. 1977; 53: 482.
146. Ramírez A. Control de Mastitis en hatos lecheros: lo tradicional y lo nuevo. Memorias del XVI Congreso Internacional Sobre Ganado Lechero; 2000 julio 12-14; México (D.F.) México. Ed. Grupo CIGAL, S.A. de C.V. 2000; 41-58.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN