

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POST GRADO
ESPECIALIDAD DE NUTRICION**



**Efecto de la Inyección de Vitamina E o Selenio sobre la
Incidencia de Mastitis y Producción
en Vacas Lecheras**

**Tesis para optar el Grado de
MAGISTER SCIENTIAE**

LUIS ALBERTO LARICO CATACTORA

**LIMA - PERU
1996**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POST GRADO
ESPECIALIDAD DE NUTRICION**

**EFEECTO DE LA INYECCION DE VITAMINA E ó SELENIO SOBRE LA
INCIDENCIA DE MASTITIS Y PRODUCCION EN VACAS LECHERAS.**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE**

LUIS ALBERTO LARICO CATAORA

SUSTENTADA Y APROBADA ANTE EL SIGUIENTE JURADO:

**M. Sc. Víctor Hidalgo L.
*PRESIDENTE***

**Ph. D. Mariano Echevarria R.
*PATROCINADOR***

**Ph. D. Carlos Gómez B.
*PATROCINADOR***

**Ph.D. Victor Guevara C.
*MIEMBRO***

AGRADECIMIENTO

El autor de esta tesis expresa su agradecimiento a Dios por la oportunidad de investigar y por las buenas personas que ha puesto para que me apoyen.

AL Dr. Mariano Echevarría R., patrocinador del presente trabajo de investigación, gran maestro y consejero, ejemplo de un investigador, que supo guiarme hasta la culminación de este trabajo.

Al Dr. Carlos Gómez B., patrocinador de este estudio, por su invalorable apoyo en el desarrollo del presente trabajo y gran maestro analítico.

A mis otros profesores al M.Sc. Víctor Hidalgo, M.Sc. Marinés Sánchez-Griñan, Dr. Víctor Guevara, Dr. Juan Kalinowski y M.Sc. Walter Fegan que grabaron sus valiosas enseñanzas en mi.

A la Sociedad Ganadera El Sequión por la disposición de sus instalaciones a esta investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC), por su apoyo económico en la ejecución de este trabajo.

A ROCHE Q.F.S.A. de Lima, por la donación del selenio y el material bibliográfico, esencial para esta investigación.

Al Dpto. de Salud Animal y Salud Pública de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, a la Dra. Sonia Calle y a la M.V. Laura Urteaga quienes dirigen el Laboratorio de Bacteriología por su gran acogida y orientación.

Al Ing. Víctor Larico C. mi hermano, por su inagotable apoyo moral y económico, admirable y gran hermano. A mis padres y demás hermanos.

Gracias

CONTENIDO

	Página.
I. INTRODUCCION	08
II. REVISION DE LITERATURA	09
2.1 Vitamina E y Selenio en la Respuesta Inmunológica	09
2.1.1 Respuesta Inmune Humoral	10
2.1.2 Respuesta Inmune Celular	11
2.2 Vitamina E, Selenio y Mastitis	14
2.2.1 Efecto de la Vitamina E y Selenio sobre la Mastitis	14
2.2.2 Mastitis y Respuesta Inmune	16
2.3 Requerimiento y Estado Nutricional de Vitamina E y Selenio..	17
2.3.1 Requerimientos	17
2.3.2 Estado Nutricional	19
2.4 Mastitis	23
2.4.1 Efecto en la Producción y Economía	23
2.4.2 Diagnóstico y Microorganismos causantes	26
III. MATERIALES Y METODOS	32
3.1. Lugar del Estudio	32
3.2. Vacas y Diseño del Experimento	32
3.3. Ración Alimenticia	33
3.4. Manejo Pre-parto	35
3.5. Manejo en el Ordeño	36
3.6. Detección y Diagnóstico de Mastitis	36
3.7. Cultivo Microbiológico de Leche	37
3.8. Producción de Leche	38
3.9. Análisis Estadístico	39

IV.	RESULTADOS Y DISCUSION	41
4.1	Mastitis Total	41
4.2	Cultivo Microbiológico	51
4.3	Producción de Leche	54
V.	CONCLUSIONES	59
VI.	RECOMENDACIONES	60
VII.	RESUMEN	61
VIII.	BIBLIOGRAFIA	62
IX.	APENDICE	72

INDICE DE CUADROS Y GRAFICOS

	<u>Página.</u>
Cuadro 2.1 Relación entre la frecuencia de cuartos infectados con las pérdidas de producción de leche, asociadas al contéo de células somáticas	24
Cuadro 2.2 Pérdidas anuales estimadas causadas por mastitis	26
Cuadro 2.3 Puntaje CMT asociado a la formación de gel y RCS/ml.	27
Cuadro 2.4 Combinación de resultados citológicos y bacteriológicos en el diagnóstico de enfermedades de la ubre	29
Cuadro 2.5 Principales bacterias causantes de la mastitis bovina y su control	30
Cuadro 3.1 Composición porcentual y nutricional de la ración alimenticia, en base seca	34
Cuadro 3.2 Composición de nutrientes del premix, en base seca	35
Cuadro 4.1 Resúmen de la mastitis por vaca y por cuarto mamario	42
Cuadro 4.2 Incidencia de patógenos aislados por tratamiento, % de vacas	52
Cuadro 4.3 Producción promedio semanal de leche por tratamiento, durante las 8 primeras semanas de lactación	57
Gráfico 4.1 Incidencia de mastitis total como por centaje del total de vacas por tratamiento, 1ra y 8va semana de lactación.....	43
Gráfico 4.2 Incidencia de mastitis total como porcentaje del total de cuartos mamarios por tratamiento, 1ra y 8va semana de lactación	44
Gráfico 4.3 Promedio de la producción de leche en los 56 primeros días de lactación	56

INDICE DEL APENDICE

- Cuadro 1** Distribución de vacas, número de semanas en seca, fecha de parto y número de lactación, dentro de cada tratamiento como efecto de la aleatorización.
- Cuadro 2** Resultados de la prueba CMT y prueba clínica por tratamiento, vaca y cuarto mamario en la 1ra. semana de lactación.
- Cuadro 3** Resultados de CMT y prueba clínica por tratamiento, vaca y cuarto mamario en la 8va. semana de lactación.
- Cuadro 4** Incidencia de mastitis subclínica y clínica, como efecto de los tratamientos, % vacas.
- Cuadro 5** Incidencia de mastitis subclínica y clínica, como efecto de los tratamientos, % cuartos mamarios.
- Cuadro 6** Valores asignados a los cuartos mamarios y las vacas para determinar la presencia de mastitis, 1ra. semana de lactación.
- Cuadro 7** Valores asignados a los cuartos mamarios y las vacas para determinar la presencia de mastitis, 8va. semana de lactación.
- Cuadro 8** Proporciones de vacas con y sin mastitis en los diferentes grupos de tratamientos, en la 1ra. semana de lactación.
- Cuadro 9** Proporciones de vacas con y sin mastitis en los diferentes grupos de tratamientos, 8va. semana de lactación.
- Cuadro 10** Proporciones de cuartos mamarios con y sin mastitis en los diferentes grupos de tratamientos, 1ra. semana de lactación.
- Cuadro 11** Proporciones de cuartos mamarios con y sin mastitis en los diferentes grupos de tratamientos, 8va. semana de lactación
- Cuadro 12** Proporción de vacas con y sin mastitis clínica dentro de cada tratamiento, 1ra. semana de lactación.

- Cuadro 13** Proporción de vacas con y sin mastitis clínica dentro de cada tratamiento, 8va. semana de lactación.
- Cuadro 14** Porporción de cuartos mamarios con y sin mastitis clínica dentro de cada tratamiento, 1ra. semana de lactación.
- Cuadro 15** Porporción de cuartos mamarios con y sin mastitis clínica dentro de cada tratamiento, 8va. semana de lactación.
- Cuadro 16** Microorganismos patógenos aislados de las vacas CMT2, CMT3 y clínicas, en la 1ra. y 8va. semana de lactación.
- Cuadro 17** Producción promedio de los primeros 56 días de lactación anterior (covariable X) y de los primeros 56 días en la lactación evaluada (variable Y) por grupos de tratamiento.
- Cuadro 18** Análisis de Covariancia de la producción de leche en un Bloque Completamente al Azar con Subunidades.

I.

INTRODUCCION

La alta exigencia de la producción de leche en vacas especializadas y el incrementado número de animales por unidad de espacio, son circunstancias que contribuyen a incrementar el estrés y la mayor exposición de patógenos medio ambientales a la ubre, los cuales, colectivamente pueden reducir la capacidad de respuesta de las vacas ante una situación adversa que se presenta.

La mastitis es la enfermedad más común y costosa que afecta a las vacas lecheras. El tratamiento con antibióticos, la buena higiene y la adecuada nutrición contribuyen a reducir la ocurrencia y la gravedad de la enfermedad. Sin embargo, la mayor ocurrencia de infecciones intramamarias sucede en los primeros días del período de seca y en los días próximos al parto. Si el patógeno es hábil para penetrar el canal del pezón, se iniciará una respuesta inflamatoria la cual resultará en un incremento de leucocitos polimorfonucleares y macrófagos, además de la activación de todo un sistema inmune complementario.

El uso de dosis más altas que los requerimientos de vitamina E o selenio, mejora la resistencia a las enfermedades de los animales de laboratorio. Así mismo no existen estudios sobre el efecto de inyección de vitamina E ó selenio sobre la incidencia de mastitis en el Perú. La aplicación de altas dosis de estos nutrientes podrían tener efectos favorables en la reducción de la mastitis en vacas lecheras.

Esta investigación fue conducida para determinar el efecto de la inyección por vía intramuscular de vitamina E o selenio sobre la incidencia de mastitis y la producción de vacas en lactación.

II.

REVISION DE LITERATURA

2.1 VITAMINA E Y SELENIO EN LA RESPUESTA INMUNOLOGICA

La vitamina E y el selenio están implicados en una variedad de funciones inmunológicas tales como la modulación de producción de anticuerpos (respuesta inmune humoral), función linfocítica (respuesta inmune celular) y metabolismo del ácido araquidónico. Trataremos aquí los dos primeros, antes veremos aspectos del funcionamiento como antioxidantes de estos nutrientes.

En el proceso de producción de energía celular se producen los radicales libres, estos son compuestos que al encontrarse en exceso son altamente reactivos y tóxicos. Los animales que contienen altas cantidades de lípidos poliinsaturados necesitan mayor cantidad de antioxidantes y la vitamina E cumple este rol (Tappel, 1962). Los radicales libres que se incrementan, por ruptura de enlaces covalentes en compuestos orgánicos ó por captura de un electrón por una molécula, pueden iniciar la formación adicional de radicales libres reaccionando con los ácidos grasos poliinsaturados (McCay y King, 1980). Esta peroxidación puede ser interrumpida por el α -tocoferol, el cual dona un átomo de hidrógeno fenólico al radical libre, de esta manera sobrelleva el electrón impareado del radical.

El selenio fue identificado como un componente de la glutathion peroxidasa, GSHpx (Rotruck et al., 1973), una enzima que convierte el peróxido de hidrógeno en agua, este descubrimiento es la base para explicar el rol esencial que cumple el selenio en la nutrición.

La actividad de GSHpx está asociada principalmente con la porción citosólica de la célula mientras que la vitamina E actúa estabilizando efectos predominantemente en la membrana (Rotruck et al., 1972). La GSHpx remueve

eficientemente los peróxidos del citosol, pero tiene limitada acción en controlar la peroxidación de lípidos una vez esté iniciado. Cuando la concentración de peróxido es baja, existe menos oportunidad a que se forme el radical hidroxilo. El radical hidroxilo es extremadamente dañino para la célula y es soluble en el citosol y en la membrana lipídica; por lo tanto, altas concentraciones de peróxidos en el citosol incrementará la probabilidad a que la peroxidación de la membrana lipídica sea iniciada. La vitamina E es probablemente el antioxidante más importante en la membrana celular, pero no puede prevenir la formación de especies de oxígeno reactivo (EOR), pero puede extinguir las reacciones de peroxidación (McCay y King, 1980).

2.1.1 Respuesta Inmune Humoral

La respuesta inmune humoral (inmunidad mediada por sustancias como las inmunoglobinas) incrementa como resultado de la suplementación de vitamina E y/o selenio en diversas especies animales. Un incremento de inmunoglobulina (Ig) Ig G y Ig M se observó después de inocular a ratones con eritrocitos del suero de ovinos (SRBC), los cuales consumían una dieta comercial suplementada con elevado selenio, 10 a 30 veces su requerimiento (Spallholz *et al.*, 1973).

Al inocular con SRBC a ratones deficientes en selenio se observó reducción de peso y baja producción de anticuerpos en la segunda generación (Mulhern *et al.*, 1985). En terneros deficientes en Se inoculados con virus bovina rinotraqueítis infecciosa (IBRV) las concentraciones de Ig M sérica y el título de anti-IBRV fue reducida (Reffett *et al.*, 1988a). La vitamina E también está implicada en la estimulación de la síntesis de anticuerpos séricos, particularmente la Ig G, más no tuvo el mismo efecto con el uso de

antioxidantes sintéticos en la dieta de ratones (Tengerdy et al., 1973).

Las concentraciones de vitamina E y selenio en las dietas de varias especies de animales tienen un efecto variable sobre las subclases de Ig que el animal produce. En ovejas inoculadas con el virus parainfluenza, se observaron elevadas concentraciones de Ig M con la suplementación de selenio, sin embargo la vitamina E y el selenio no afectaron las concentraciones de la Ig G (Reffett et al., 1988b), similares efectos se observaron en terneros inoculados con Pasteurella hemolytica (Reffett et al., 1989).

Los niveles de Ig G1, Ig G2 y Ig M fueron más altos en aquellos tratados con vitamina E y selenio que el grupo control, aunque sin diferencia estadística (Abdellatif et al., 1993). Las variaciones entre clases individuales de Ig son importantes por sus cualidades inherentes y su rol en la lucha contra las enfermedades. Los diferentes antígenos, especie animal, y métodos de análisis para Ig influyen en las conclusiones de los experimentos. Sin embargo como se vio anteriormente, hay un incremento en producción de anticuerpos en respuesta a la suplementación con vitamina E o selenio que actúa incrementando la capacidad total de las células formadoras de anticuerpos.

2.1.2 Respuesta Inmune Celular

La fagocitosis es un paso muy importante y necesario para la eliminación exitosa de partículas antigénicas por las células (Paape, 1979). Una vez que la bacteria entra en la glándula, los neutrófilos de la sangre se dirigen al sitio de infección y empiezan a fagocitarla, en la destrucción del antígeno se produce una respiración violenta intracelularmente. En los neutrófilos con buen funcionamiento, la fagocitosis induce a una respiración violenta que convierte al oxígeno en superóxido y radical oxidrilo (Babior, 1984). Los neutrófilos no

pueden destruir la bacteria fagocitada a menos que se produzcan las especies de oxígeno reactivo (EOR). Los macrófagos también circundan el sitio de infección para iniciar la específica respuesta inmune, los macrófagos también realizan una respiración violenta cuando son estimulados por bacterias. Los linfocitos pueden destruir directamente patógenos invasores, pero la acción más importante es la liberación de señales químicas que activan otros componentes del sistema de defensa celular para producir anticuerpos (Weiss et al., 1992). Mucho de los sistemas de defensa incluyen la producción de EOR. Mientras que la producción de EOR es esencial para la actividad bactericida del neutrófilo, los EOR pueden dañar las células hospederas (Fantone y Ward, 1982). Los animales han desarrollado sofisticados sistemas de antioxidante para controlar el daño de los EOR; la vitamina E y el selenio son dos elementos que tienen que ver directamente con el sistema antioxidante de la célula.

Se ha demostrado en muchos estudios el rol de la vitamina E como un antioxidante, y del selenio como un componente de la GSHpx para mantener efectivo a los fagocitos. En ratas alimentadas con dieta deficiente en selenio, se observó una reducida actividad bactericida de células polimorfonucleadas (PMN), este decrecimiento fue correlacionado con la baja actividad de la GSHpx, los cuales a tasas normales de acción podría eliminar los hidroperóxidos provenientes de lípidos, específicamente del ácido linoléico, el cual es reportado por tener un efecto negativo sobre la normal fagocitosis y destrucción de bacterias (Serfass y Ganther, 1975). De 2 grupos de terneros se aislaron neutrófilos de la sangre. Un grupo de terneros recibió adecuado selenio en su dieta y el otro grupo fue deficiente en selenio, analizando los neutrófilos de ambos grupos mostraron igual habilidad para fagocitar Candida albicans pero hubo un incremento en un tercio en la capacidad destructora dentro de la célula

de los neutrófilos de terneros adecuados en selenio comparado a los neutrófilos provenientes de terneros selenio deficientes (Boyne y Arthur, 1979). En vacas lecheras se comparó las diferencias entre la habilidad destructora de los PMN de vacas Se deficientes y aquellos que recibían una inyección de Selenio-Vitamina E. Después de 20 minutos de exponer a la bacteria Staphylococcus aureus, los PMN de las vacas deficientes en selenio tenían 29.4% de bacterias remanentes viables, mientras el grupo suplementado retenía 20.3%. Es crítico suplementar en cantidades adecuadas selenio y vitamina E para facilitar la destrucción oxidativa a los fagocitos (Gyang et al., 1984).

En una investigación para determinar la habilidad de la vitamina E en mejorar la respuesta inmune celular, se asignó a pollos broiler de un día de edad a diferentes grupos dietarios, varias concentraciones de vitamina E fueron administradas en las dietas, la mitad de los pollos fueron inoculados con una cepa virulenta de Echerichia coli a los 7 días de edad, los sobrevivientes fueron expuestos nuevamente a los 21 días. Aquellos pollos que recibieron vitamina E (300 UI/kg dieta) tuvieron capacidad fagocítica mejorada además de una producción incrementada de anticuerpos humorales; también se reportó cantidades más altas de vitamina E en el bazo de pollos suplementados y se propuso que la protección adicional contra las infecciones de E. coli era una función linfopoyética (Tenderdy y Brown, 1977).

Hay una correlación positiva entre el estado corporal de vitamina E y selenio de los animales y su capacidad de proliferación de linfocitos. En un estudio con 4 grupos de terneras, se suplementó semanalmente con α -tocoferol a 0, 1400, 2800 mg oralmente ó 1400 mg inyectable intramuscular; a las 8 semanas del ensayo, los linfocitos de los terneros que recibieron la inyección tuvo el más alto índice de estimulación de linfocitos que los otros grupos

(Reddy et al., 1986). En otro experimento anterior se encontró un alto índice de estimulación de linfocitos en terneros que recibían suplementación de vitamina E, sin embargo las diferencias no fueron significativas, comparado a los grupos que no recibían suplementación de vitamina E (Cipriano et al., 1982). Neutrófilos aislados de humanos y ratones que eran deficientes en selenio y/o vitamina E tenían reducida actividad bactericida (Baehner et al., 1977; Heinzerling et al., 1974).

2.2 VITAMINA E, SELENIO Y MASTITIS

2.2.1 Vitamina E y Selenio sobre la Incidencia de Mastitis.

Estudios realizados muestran que hay relación entre la vitamina E, selenio y la salud de la glándula mamaria. Smith et al. (1984) reportaron que suplementando por vía oral a vacas secas con 1000 UI de vitamina E por día, reducía en 37% la incidencia de mastitis clínica comparado a los controles, que no fueron suplementados. Una inyección de 50 mg selenio 21 días antes del parto no tuvo efecto significativo sobre la incidencia de mastitis clínica. La duración de los signos clínicos fueron reducidos 45% con vitamina E en la ración o selenio inyectable comparado a los animales controles. La duración de los signos clínicos fueron reducidos 62% cuando recibían ambos vitamina E como suplemento y selenio en forma inyectable. Estos resultados fueron verificados en un trabajo subsecuente usando vacas de primera lactación (Smith et al., 1985).

Weiss et al. (1990a) encontraron en establos bien manejados de Ohio, que el recuento de células somáticas de los tanques de leche tenían una correlación negativa con la concentración de selenio plasmático y que el contenido de

vitamina E en la dieta tenía correlación negativa a la tasa de mastitis clínica. Batra et al. (1992) utilizando vacas suplementadas por vía oral con 1000 UI de vitamina E/día, durante el período de seca y de lactación temprana, encontraron efecto significativo del tratamiento sobre el incremento de vitamina E en plasma y leche, sin embargo no encontraron efecto significativo sobre la incidencia de mastitis clínica y subclínica.

Ndiweni et al. (1991) reportaron no haber encontrado relación entre el estado nutricional en vitamina E/selenio y la incidencia de mastitis clínica. Además, los niveles de vitamina E en el plasma y la actividad enzimática de la (GSHpx) no difieren significativamente entre los establos con alta y con baja incidencia de mastitis.

En otro trabajo de investigación se encontró una relación negativa entre los cuartos mamarios infectados y la actividad de la GSHpx en la sangre, es decir la alta concentración de GSHpx estaba relacionado a las bajas tasas de infección; no se encontró relación entre recuento de células somáticas y la concentración de α -tocoferol en la sangre, a causa de que la mayoría de las vacas estaban consumiendo pastura y por lo tanto la ingesta de vitamina E era alta (Erskine et al.,1987). Las vacas con mastitis clínica tienen más bajas concentraciones de α -tocoferol y selenio en la sangre que sus compañeras no infectadas (Atroshi et al., 1986).

Erskine et al., (1989) investigaron efectos específicos del estado nutricional de las vacas lecheras sobre la inducción de la mastitis por bacterias E. coli. Las concentraciones de las bacterias fueron significativamente más altas en vacas selenio deficientes que en vacas normales, la suplementación de selenio redujo la severidad y duración de la mastitis clínica.

2.2.2 Mastitis y Respuesta Inmune

Un componente esencial de la defensa intramamaria contra las enfermedades es la familia de los leucocitos, en el cual los neutrófilos polimorfonucleados (PMN) y los macrófagos (MF) son los mayores participantes (Paape, 1979). La opsonización de antígenos vía Ig sola ó Ig más algún complemento es considerada una de las funciones esenciales del sistema inmune humoral (Targowski, 1983). La fagocitosis por los PMN y los MF depende parcialmente de la concentración de Ig presente en el sistema mamario y de la interacción con la superficie de receptores de la célula. Las cantidades de las diferentes clases de Ig son: IgG1, 0.59; IgG2, 0.02; IgA, 0.14; y IgM, 0.05 mg/ml de leche (Butler,1974). Estas bajas cantidades más la inhabilidad para mantener altas concentraciones de factores opsonizantes in vivo, pueden afectar adversamente la fagocitosis (Lascelles, 1979). Sin embargo, los PMN y los MF bovinos han sido reportado que tienen múltiples sitios receptores, los cuales acomodarían una variedad de factores opsonizantes (Grewal et al., 1978).

La población de linfocitos (células T y B) en la leche normal es solo 160-300 linfocitos/ml de leche (1% de la población total), su proporción en la leche y la sangre bovina (20% células B y 45% células T, 35% no identificadas) es aproximadamente la misma (Concha et al., 1978). Los linfocitos en la leche bovina muestran una adecuada respuesta blastogénica in vitro, pero la respuesta mitogénica de los linfocitos de la sangre es mucho más alta que aquellas en la leche del mismo animal. Además, la habilidad de estos linfocitos para actuar es diferente a través del período de lactación (Smith y Schultz, 1977; Concha et al., 1980). La actividad periferal de los linfocitos sanguíneos fueron examinados en vacas primíparas y multíparas con mastitis usándose PHA, Con A, y PWM como mitógenos. Concluyéndose que las vacas más susceptibles a la infección fueron

aquellas con baja respuesta blastogénica y que para las vacas viejas esta vulnerabilidad usualmente ocurría dentro de los primeros días de lactación (Kashimazaki, 1984).

Cuando se suplementaron a vacas lactantes con 6 mg de selenio por día y/o 500 UI de vitamina E por día, se mejoró la habilidad para destruir S. aureus. Cuando el E. coli era el microorganismo objetivo, el mejoramiento en la habilidad destructora fue mayor para la vitamina E que para el selenio (Hogan et al., 1980). En contraste, cuando se suplementaron oralmente a vacas secas con 1000 UI vitamina E por día (la dieta contenía 0.3 mg Se/Kg) no se mejoró la habilidad destructora de los neutrófilos aislados de las vacas al parto (Weiss et al., 1992). Sin embargo inyectando 3000 UI de vitamina E a los diez y a los cinco días antes del parto los neutrófilos incrementaron su habilidad destructora (Hogan et al., 1992). La función de los neutrófilos es usualmente deprimido durante el período peri-parturiento (Kehrli et al., 1989); inyectando vitamina E se elimina completamente aquella depresión (Weiss et al., 1992).

2.3 REQUERIMIENTOS Y ESTADO NUTRICIONAL DE LA VITAMINA E Y SELENIO

2.3.1. Requerimientos

El requerimiento dietario de vitamina E para terneras se encuentra en un rango de 15 a 60 UI/kg MS, se sugiere para el ganado lechero adulto 15 UI/kg MS (NRC, 1988), las vacas en seca 150 UI/día y para las vacas lactantes de 300 a 400 UI de vitamina E por día.

Hace cerca de 50 años en un experimento se alimentó 4 generaciones de ganado vacuno, con una dieta especial conteniendo adecuadas cantidades de

todos los nutrientes conocidos excepto la vitamina E, los resultados indicaron que no hubo efecto sobre la producción de leche ni sobre la performance reproductiva, pero si se reportaron diversas muertes súbitas a causa de fallas del corazón entre las edades de 21 meses y 5 años (Gullickson et al., 1949). Estas muertes no fueron atribuidos a la deficiencia de vitamina E, sin embargo la degeneración del corazón pudo haber sido causada por la baja ingesta de vitamina E; no obstante la capacidad de producción de leche en la actualidad es muy superior que en los tiempos del experimento mencionado. Además los cambios en el manejo han contribuido a elevar el grado de estrés en la vaca, es así que la cantidad de vitamina E requerida para vacas en alta producción deberían ser reconsideradas.

Ensayos recientes donde se suplementan con altos niveles de vitamina E sugieren que los criterios para determinar los mínimos requerimientos dietarios no deben estar basados completamente sobre las tasas de crecimiento o sobre las cantidades necesarias para prevenir deficiencias visibles, sino que además debe considerarse la óptima salud e inmunocompetencia (McDowell, 1992). Como resultado de un estudio se recomendó 1000 UI de vitamina E/vaca/día durante el período de seca y 400 a 600 UI/día durante el período de lactación para disminuir la incidencia de mastitis clínicas, (Smith y Hogan, 1988). Se considera que 1 UI de vitamina E es igual a 1 mg de dl- α -tocoferol acetato. De ocho tipos de tocoferol que se conocen, el α -tocoferol tiene la más alta actividad biológica para animales.

El selenio (Se) como parte integral del "factor 3" descubierto por Schwarz y Foltz (1957), el cual protegía a las ratas contra la necrosis hepática, iniciándose así la era en que el selenio ya no más sería considerado como un elemento tóxico solamente, sino también como un mineral esencial. La

deficiencia de selenio en vaquillonas resulta en la enfermedad del músculo blanco (Ammerman y Miller, 1975), los cuales causan degeneración y necrosis en el músculo esquelético y cardíaco. También se presentan, fallas del corazón, parálisis (usualmente en las patas traseras), distrófia de la lengua y elevado contenido de la enzima glutámico oxalacetato transaminasa (SGOT) en el suero. (NRC, 1978). También se ha encontrado que la deficiencia de selenio está ligado a la diátesis exudativa en pollos (Noguchi et al., 1973), a la oxidación de la hemoglobina en ratas (Rotruck et al., 1972) y daño de la función de los neutrófilos en ratas y vacunos (Arthur et al., 1981). El rol del selenio como un elemento esencial en la GSHpx parece ser la única función para este mineral aparte de su relación conocida con la vitamina E (Rotruck et al., 1973). Se ha propuesto que un decrecimiento en la actividad bactericida de los leucocitos deficientes de GSHpx en vacas lecheras puede resultar en un incremento significativo en el recuento de células somáticas (RCS) en la leche (Erskine et al., 1987). Otros investigadores publicaron valores plasmáticos significativamente más altos en selenio y en la actividad de la GSHpx en hatos con bajo RCS, que en aquellos hatos con elevados RCS (Hogan et al., 1990).

El requerimiento diario de selenio para las vacas lecheras es de 0.1 a 0.3 ppm, y el máximo tolerable es de 2 ppm (NRC, 1988). Elevado valor de selenio plasmático en vacas reflejaron casos más reducidos de mastitis clínica, (Weiss et al., 1990b; Smith et al., 1985) esto puede indicar una necesidad para elevar la ingesta de selenio dietario.

2.3.2 Estado Nutricional

La concentración del total de tocoferoles en el suero es el índice bioquímico más frecuentemente usado para evaluar el estado nutricional de

vitamina E. Estudios han utilizado a los eritrocitos para medir niveles de tocoferol en ratas (Lehmann, 1981). Las plaquetas contienen mayormente α -tocoferol (80%) el resto es Γ -tocoferol, el contenido de tocoferol en las plaquetas parece ser un índice prometedor en la evaluación nutricional de vitamina E en ratas (Lehmann, 1981), y probablemente en rumiantes, por ser más sensitivos que en plasma, eritrocitos o linfocitos (Lehmann, 1988). El análisis de muestras de biopsia de tejido hepático o adiposo podría ser usado como un índice de las reservas de vitamina E.

Diversos estudios han demostrado que el tocoferol administrado a los animales aparecen rápidamente en los tejidos y en el plasma. Vacas que recibían una inyección de vitamina E y selenio (1.5 UI/kg PV y 0.11 mg/kg PV, respectivamente) las concentraciones de vitamina E en el suero se duplicaron un día después de recibir la dosis (Schingoethe et al., 1982). La suplementación oral con α -tocoferol acetato a 500 UI/vaca/día, cerca al parto rápidamente incrementa las concentraciones de vitamina E sérica en el primer mes de lactación en vacas lecheras (Stowe et al., 1988). Los índices de estimulación de linfocitos fueron mucho más altas ($P < .05$) en terneras con concentraciones séricas de vitamina E más elevadas (Reddy et al., 1986). Suplementando con 1 gr de α -tocoferol/ternera/día se observó que los valores de tocoferol plasmático eran aproximadamente 650 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ a las 6 semanas de edad; los índices de estimulación de linfocitos fueron más altos para las terneras suplementadas, pero no significativamente diferente de aquellas que no recibían vitamina E (Cipriano et al., 1982). Otros resultados relacionados a la alta concentración de vitamina E en el plasma en vacunos son la reducción de las infecciones intramamarias, retención de placenta y mejoramiento de las características organolépticas de la leche.

La razón principal para determinar el estado nutricional de selenio en el animal es establecer si el animal está adecuadamente nutrido con selenio, o alternativamente, si está en deficiencia o con niveles tóxicos. La concentración de selenio en el tejido animal varía influenciado en parte por la cantidad y forma química de selenio en la dieta. En vacunos, ovinos y porcinos la concentración de selenio en los órganos de mayor a menor concentración va desde el riñón, hígado, corazón, músculo esquelético y tejido adiposo (Ullrey, 1987).

La concentración de selenio en los tejidos y en el plasma exactamente reflejan la ingesta dietaria de selenio (NRC, 1983). Las concentraciones de selenio plasmático menores de $0.05 \mu\text{g/ml}$ incrementan significativamente el riesgo de retención de placenta (NRC, 1983). Ha sido reportado que la incidencia de retención de placenta fue reducida de 38% a 0% cuando el selenio fue suplementado en 0.92 mg/vaca/día empezando desde 3 días antes del parto (Julien *et al.*, 1976). También reportaron un alto contenido de selenio y GSHpx en el plasma cuando las vacas recibían una dosis intramuscular de selenio de 0.1 mg/kg de peso corporal, 3 semanas antes del parto, los valores de selenio plasmático al parto fueron $0.57 \mu\text{g/ml}$ para los suplementados y $0.0306 \mu\text{g/ml}$ para los no suplementados (Harrison *et al.*, 1984).

La actividad de la GSHpx y su relación directa con la concentración del selenio en la sangre ha sido probada en muchas especies de animales. La concentración de la GSHpx es relativamente un buen indicador de la condición corporal de selenio, porque la actividad de la GSHpx en el hígado y en el plasma incrementan o disminuyen rápidamente según la ración; sin embargo, no revelan las reservas de selenio en todos los tejidos ni los niveles tóxicos (McDowell, 1992a). En un ensayo con terneras se mostró que 97% del ^{75}Se

dosificado a terneras, evacuaban la sangre dentro de las 6 hrs posterior a la inyección intravenosa (Neathery et al., 1990). El selenio en el suero es considerado como buen indicador del status, con menos de 0.03 ppm es crítico para el vacuno (McDowell, 1992a).

La concentración de selenio en el pelo está correlacionado con la ingesta dietaria. Investigadores reportaron de vacas que tenían concentraciones entre 0.06 y 0.23 ppm de selenio producían terneras con enfermedad del músculo blanco, pero no se encontró lesión en las terneras que nacían de las vacas que tenían una concentración de selenio superior a 0.25 ppm (Hidiroglou et al., 1965). Vacunos que consumían raciones suplementadas con 0.1, 0.2 y 0.4 ppm de selenio, la concentración de selenio en sus pelos incrementaron de 0.3 ppm a 0.49, 0.58 y 0.60 ppm respectivamente (McDowell, 1992a). Concentraciones en el pelo de 5 a 10 ppm selenio en vacunos pueden indicar toxicidad por selenio (Olson, 1969). Esto puede ocurrir cuando el animal consume en su dieta por encima del nivel máximo tolerable de 4 a 5 ppm (McDowell, 1992a).

La vitamina E a diferencia de la vitamina A y D, tiene un amplio margen de seguridad en los animales, la toxicidad de esta vitamina no ha sido demostrada en rumiantes. El riesgo de toxicidad es relativamente bajo, pero excesivas dosis podrían no ser deseables (NRC, 1988). Trabajos realizados en pollos, ratas y humanos indican niveles tolerables de 1 a 2 gramos por kilogramo de dieta (NRC, 1988; NRC, 1989).

El selenio es uno de los pocos elementos que pueden absorberse con gran facilidad por las plantas y en suficientes cantidades como para causar peligro de toxicidad, por ejemplo el maíz, arroz y soya cultivadas en una zona selenífera de la China contiene una media de 8.1, 4.0 y 11.9 ppm respectivamente, mientras que estos mismos alimentos cultivados en un area deficiente, del mismo

país solo contenían 0.005, 0.007 y 0.010 ppm respectivamente (Yang *et al.*, 1983). Las plantas acumuladoras de selenio tales como las especies de Astrágalos y Stanleya en zonas seleníferas pueden acumular 1,000 a 3,000 ppm de selenio, así las vacas que pastorean en tales áreas pueden ser severamente afectadas (Underwood, 1977). En ciertas áreas seleníferas de EE.UU. las plantas acumuladoras de selenio contienen niveles más altos que 50 ppm (Ammerman y Miller, 1975).

2.4 MASTITIS

2.4.1 Efecto en la Producción y Economía

En Piura, utilizando la Prueba Modificada de Whiteside de un total de 1,175 muestras de leche provenientes de 300 vacas aparentemente normales se encontró 415 muestras positivas que representaban el 32% de incidencia (Lozada, 1975). En Cajamarca encontraron una incidencia de 45% de mastitis, en Lima 51.2% y en Arequipa 35% empleando la Prueba Modificada de Whiteside (Bautista e Incio, 1964a, b). En las cuencas del Sur del país (Arequipa, Moquegua y Tacna) la prevalencia de mastitis fue de 42.7% (Flores, 1976). En el valle de Mantaro la prevalencia de mastitis subclínica fue del orden de 25% (Tintaya, 1977). En Huacho utilizando 900 vacas, se diagnosticó 11% de mastitis subclínica mediante la Prueba de Azul de Bromotinol (Jordan, 1964). En Puente Piedra y Carabayllo (Lima) reportaron una incidencia de 13% de mastitis clínica y 21% de mastitis subclínica (Villavicencio, 1982). En la misma zona, cinco años después se encontró una incidencia de 37.8% de mastitis clínica y 26.18% de mastitis subclínica, se utilizó la Prueba Modificada de Whiteside (Montiel, 1987). En otro trabajo en Lima se reportó incidencia 10% de mastitis

clínica, 63.3% de mastitis subclínica, se uso la Prueba Modificado de Whiteside (Verano, 1992).

Para los años sesenta, en los EE.UU. en promedio cerca de 50% de las vacas (25% de los cuartos mamarios) estaban con mastitis subclínicas, para los años noventa cerca de 33% de las vacas (12% de los cuartos mamarios) estan con mastitis subclínica (Philpot y Nickerson, 1992). En cuanto a la mastitis clínica se tiene en un rango de 0.5 a 10.3% de las vacas en ordeño al mes (Wesen, 1994).

La producción de leche disminuye a causa del daño al tejido productor de leche dando como resultado menor síntesis de leche en la glándula mamaria (Philpot y Nickerson, 1992; Saran, 1986). Los expertos han hecho numerosas estimaciones de pérdidas de leche asociadas al aumento del recuento de células somáticas. A nivel de cuarto mamario se ha encontrado pérdidas de 3 a 50% del potencial de producción de leche (CNM, 1990). Las investigaciones han demostrado que las vacas con alto promedio de recuento de células somáticas en la lactancia producen menos leche.

Cuadro 2.1 Relación entre la frecuencia de cuartos infectados y las pérdidas de producción de leche, asociadas al contéo de células somáticas.

Conteo Células Somáticas/ml	Cuartos Infectados	Producción Perdida *
200,000	6%	0%
500,000	16%	6%
1'000,000	32%	18%
1'500,000	48%	29%

* Pérdida de producción calculada como porcentaje de producción esperada a 200,000 células/ml (CNM,1990)

Las pérdidas económicas por esta enfermedad son las más altas entre todos aquellos que afectan a las vacas lecheras, así lo afirman diversos expertos. Las pérdidas por mastitis subclínica y clínicas en un granjero lechero promedio de los EE.UU. es cercano a \$ 200 dólares por vaca por año (Eberhart et al., 1987). En el Estado de Israel estas pérdidas anuales por vaca fluctúan entre 90 y 250 dólares (Saran, 1986).

Un episodio de mastitis clínica cuesta al productor lechero promedio cerca de \$110 dólares americanos (Hoblet et al., 1991). La incidencia de mastitis clínica en hatos lecheros con bajo recuento de células somáticas es en promedio 0.45 casos/vaca/305 días de lactación (Hogan et al., 1989). El costo asociado con la mastitis clínica en un hato bien manejado de 100 vacas lactantes es cerca de \$ 5000 dólares anuales. La incidencia de mastitis subclínica y su costo asociado es más difícil de cuantificar pero la mayoría de expertos acuerdan que es mucho más alta que la mastitis clínica (Weiss et al., 1992). El Consejo Nacional de Mastitis (1990) ha estimado que las pérdidas (cuadro 2.2) suman \$ 180 dólares por vaca al año para el productor promedio de los EE.UU.

Cuadro 2.2 Pérdidas Anuales Estimadas causadas por Mastitis

Pérdidas	Dólares por vaca	Porcentaje del Total
Disminución de la producción	116.10	64
Leche descartada	24.44	14
Costo de reemplazos tempranos	13.60	8
Reducción precio venta	9.94	5
Medicamentos	9.68	5
Servicios veterinarios	4.84	3
Mano de Obra	2.42	1
TOTAL	\$ 181.02	100 %

Asumiendo que: 38% de las vacas infectadas tienen un promedio de 1.5 cuartos; por cuarto infectado la pérdida de leche es de 725 Kg; precio de 100 Kg de leche de \$ 28.06 (CNM, 1990)

Estos valores detallados confirman que el 70 a 80% de todas las pérdidas están asociadas a la mastitis subclínica, mientras que sólo el 20 a 30% se deben a la mastitis clínica (Philpot y Nickerson 1992).

2.4.2 Diagnóstico y Microorganismos Causantes.

Para detectar la presencia de mastitis pueden examinarse a lado de la vaca o en el laboratorio. Los exámenes físicos se realizan inmediatamente después del ordeño mediante palpación a la ubre para detectar cuartos endurecidos, hinchados y calientes, atrofiados o deformes que nos indiquen daños (Philpot y Nickerson; 1992; CNM, 1990). La prueba de los primeros chorros es útil para detectar clínicamente, si la leche está anormal e identificar tales vacas.

La prueba California Mastitis Test (CMT) y otras similares, estiman la concentración de células somáticas en la leche, donde el material genético de las

células somáticas reacciona con el reactivo formando gel (cuadro 2.3), esta prueba debe realizarse justo antes del ordeño y después de los primeros chorros.

Cuadro 2.3 Puntaje CMT asociado con la formación de gel y el recuento de células somáticas (RCS) por ml.

Reacción CMT	0	T	1	2	3
Formación de gel	Nada	Poco	Poco-Moderado	Moderado	Mucho
RCS/ml	100,000	300,000	900,000	2'700,000	8'100,000

Philpot y Nickerson, 1992

De todas las muestras que resultan positivas a CMT, no significa que todas están infectadas (Philpot y Nickerson, 1992). El recuento de células somáticas comunmente se realiza mediante contadores electrónicos computarizados, estos recuentos no señalan las vacas infectadas, los RCS mayores a 500,000/ml solo un 60% de ellas estan realmente infectadas (CNM, 1990). Otro método utilizado por muchos ganaderos para detectar mastitis inicial es por medio de la conductividad eléctrica en la leche; esto está basado en el diferencial de concentración de iones que ocurre entre los cuartos mamarios infectados y los no infectados de la misma vaca, el instrumento usado para ello es pequeño y cilíndrico que se pueden usar a lado de la vaca (Dairs, 1992).

El cultivo de las muestras de leche es la prueba más exacta que existe para identificar a las vacas infectadas, las muestras de leche se seleccionan de las vacas positivas a CMT o RCS elevadas (>500,000/ml). Usualmente del 25 al 30% de las muestras de los casos clínicos no muestran crecimiento, puede ser

debido a que el número de bacterias sea tan reducido como para ser detectado por métodos rutinarios o que la infección pudo haber sido eliminada, pero la curación no se ha completado por lo cual los glóbulos blancos continúan moviéndose en el tejido mamario; se debe considerar la posibilidad de la presencia de un microorganismo raro, por ejemplo la especie micoplasma que no crece en los cultivos comunes (Saran, 1986; Philpot y Nickerson, 1992).

El muestreo de leche se realiza después de los primeros chorros limpiando el pezón con alcohol al 70% y se transporta la muestra en hielo al laboratorio de análisis en no mayor de 6 hrs. después de la colección (National Mastitis Council, 1981).

El diagnóstico de la enfermedad es más específico utilizando medios de cultivos, sin embargo los otros métodos son más prácticos aunque menos exacto. La Federación Internacional de Lechería recomienda un esquema relacionando el nivel de células somáticas en la leche y la presencia de gérmenes patógenos (cuadro 2.4).

Cuadro 2.4 Combinación de Resultados Citológicos y Bacteriológicos en el Diagnóstico de Enfermedades de la Ubre

Recuento de células somáticas/ml de leche	Bacterias Patógenas de la Ubre	
	No se aislaron	Se aislaron
< 350,000	Leche normal. Ubre sana	Contaminación latente
350,000 a 500,000	Aun se considera como leche normal para el consumo. Ubre sospechosa	Contaminación latente
> 500,000	Infección probable (no específica). Irritación de la Ubre por causas diversas	Leche contaminada Ubre

Federación Internacional de Lechería. (Saran, 1986).

Los microorganismos causantes de la mastitis varían de acuerdo a su hábitat, virulencia y susceptibilidad frente a las barreras del hospedero, así mismo, hay variación en el tipo y duración de la infección individualmente y entre hatos (Jain, 1972). Las principales bacterias asociadas con la mastitis (cuadro 2.5) pueden ser agrupadas de acuerdo a su origen y medios de dispersamiento dentro del hato lechero (Aseltine, 1991).

Cuadro 2.5 Principales bacterias causantes de la mastitis bovina y su control.

Epidemiología del Hato	Patógeno	Control
Contagiosos	<u>Staphylococcus aureus</u>	Muy bien
	<u>Streptococcus agalactiae</u>	Excelente
	<u>Corynebacterium bovis</u>	Excelente
Ambientales	<u>Echerichia coli</u>	Pobre
	<u>Klebsiella pnemoniae</u>	Pobre
	<u>Enterobacter aerogenes</u>	Pobre
	<u>Serratia spp</u>	Pobre
	<u>Pseudomonas spp</u>	Pobre
	<u>Proteus spp</u>	Pobre
	<u>Streptococcus uberis</u>	Leve
	<u>Streptococcus bovis</u>	Leve
	Oportunistas	<u>Staphylococcus epidermidis</u>
<u>Staphylococcus hycus</u>		Moderado
<u>Staphylococcus xylosus</u>		Moderado

Smith et al., 1988. El control incluye sellado post ordeño y terapia a la seca.

Los patógenos contagiosos (S. aureus, S. agalactiae, C. bovis) existen principalmente en los cuartos mamarios infectados y son esparcidos a los cuartos no infectados durante el ordeño por la máquina ordeñadora, los paños y las manos contaminadas. En cambio, los patógenos ambientales están ubicados en el entorno de la vaca como en el suelo, heces, planta, aire por lo que la exposición de los cuartos mamarios no infectados ocurre durante el ordeño y fuera del ordeño ó en el corral (CNM, 1990). Los patógenos oportunistas incluye más de 20 variedades del Staphylococcus, diferentes al S. aureus y son considerados como patógenos menores por causar muy pequeño aumento en el recuento de células somáticas (Philpot y Nickerson, 1992).

La efectividad en el control de la mastitis por el sellado post ordeño y por la terapia a la seca es muy buena para los patógenos contagiosos, sin embargo es pobre para los patógenos ambientales y es moderada para los

patógenos oportunistas (Smith et al., 1988). El control de la mastitis está basado en 2 principios: reduciendo la exposición de los pezones a los patógenos e incrementando la resistencia de la vaca a las infecciones. El sellado de pezones post ordeño y el apropiado manejo de la cama, por ejemplo usando arena en vez de material orgánico, reduce grandemente la exposición de los pezones y es bastante efectivo en reducir la mastitis. La fuente de infección de los patógenos contagiosos, principalmente con S. aureus y S. agalactiae, son las ubres infectadas. Sellando los pezones, tratando todos los cuartos mamarios al momento de la seca con un antibiótico aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) para vacas secas, y seleccionando se puede eliminar completamente la mastitis contagiosa. Pero estos métodos de control de mastitis son menos efectivos contra los patógenos ambientales. Siendo imposible eliminar la exposición de los pezones a patógenos medio ambientales bajo condiciones prácticas, sin embargo el mejoramiento de la capacidad de la vaca a resistir a las infecciones debe ser un componente integral de un programa de control de mastitis (Weiss et al., 1992).

Estudios realizados en los distritos de Puente Piedra y Carabaylo encontraron una incidencia de 23.3% para Streptococcus sp y de 21.3% para Staphylococcus sp en los casos de mastitis (Montiel, 1987). Lo que estaría indicando el bajo control que existe de los microorganismos patógenos contagiosos en uno de los establos de Lima.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 LUGAR DEL ESTUDIO

La presente investigación se llevó a cabo en el establo lechero de la Sociedad Ganadera "El Sequión", ubicada en el valle de Lurín a 40 Km al sur de la ciudad de Lima. Los análisis de las muestras de leche se realizaron en el Laboratorio de Bacteriología del Departamento de Salud Animal y Salud Pública de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. El trabajo de la preparación de la solución inyectable se realizó en el Laboratorio de Minerales del Departamento de Nutrición de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

3.2 VACAS Y DISEÑO DEL EXPERIMENTO

Las vacas empleadas fueron de razas Holstein y Brown Swiss, en total se utilizaron 64 vacas multíparas, las cuales parieron desde abril hasta junio de 1994 (Apéndice, cuadro 1). Utilizando los registros de las vacas próximas al parto de aquel establo, se procedió a asignar en forma al azar, tomando en cuenta la raza, número de lactación y fecha de parto calculado de las vacas, de modo que exista una distribución más homogénea. Los grupos de tratamientos fueron los siguientes: 1) Control, las vacas en este grupo recibieron únicamente la ración alimenticia, formulada para reunir los requerimientos de una vaca lechera en el período de seca (NRC, 1988), 2) Vitamina E, las vacas de este grupo recibieron dos aplicaciones de vitamina E por vía intramuscular (músculo semitendinoso), una 21 días antes del parto y otra al parto, cada dosis de 6000

UI, más la ración alimenticia similar al anterior grupo y 3) Selenio, las vacas en este grupo recibieron una inyección por vía intramuscular (músculo semitendinoso) de 50 mg Se/vaca, a los 21 días antes del parto calculado, más la similar ración alimenticia. Todas las vacas experimentales fueron evaluadas hasta dos meses después del parto.

El selenio como selenito de sodio en polvo, fue proporcionado por ROCHE Q.F.S.A. de Lima, el cual se preparó en agua bidestilada a una concentración de 5 mg Se/ml, para la esterilización de dicha solución se sometió a altas temperaturas en un autoclave; a cada vaca del grupo de tratamiento con selenio, se le inyectó 10 ml (50 mg Se) de esta solución por vía intramuscular. La vitamina E utilizada fue adquirida de los Laboratorios Schering Plough Kenilworth, NJ 07033. Cada ml de solución contenía 300 UI de vitamina E como d- α -tocoferol, además 20% de alcohol etílico y 1% de alcohol bencílico, como preservante en una base emulsificable, se inyectó a cada vaca de este grupo experimental 20 ml de la solución (10 ml en el músculo semitendinoso derecho y 10 ml en el izquierdo), 21 días antes del parto y también se inyectó la misma dosis al parto.

3.3 RACION ALIMENTICIA

La ración alimenticia (Cuadro 3.1) de las vacas fue una mezcla compuesta de forraje picado, subproductos agroindustriales y premezcla de vitaminas y minerales "premix" (Cuadro 3.2). La ración fue proporcionado en forma ad libitum. La concentración de selenio en la ración alimenticia total fue

de 0.36 ppm y la concentración estimada de vitamina E fue 22.28 UI/Kg (Cuadro 3.1).

CUADRO 3.1 Composición Porcentual y Nutricional de la Ración Alimenticia, en Base Seca.

INGREDIENTES	%
Orujo de Cervecería	19.58
Hominy Feed	35.90
Panca	21.26
Harina soya	6.48
Afrecho de Trigo	5.85
Harina Pescado	4.99
Melaza de Caña	3.99
Carbonato de calcio (1)	0.95
Bicarbonato de sodio	0.91
Premix	0.10
Total	100.00
Ración Total (*):	
Vitamina E, UI/Kg	22.28
Selenio, ppm (2)	0.36
Energía:	
ENl, Mcal/Kg	1.65
ENm, Mcal/Kg	1.66
ENg, Mcal/Kg	1.05
Proteína:	
P. Cruda, %	17.31
P. No degradable, %	6.05
P. Degradable, %	7.12
Grasa, %	6.61
Fibra cruda, %	14.48
Ceniza, %	6.89
Materia Seca, %	57.48

(1) Solo para vacas de alta producción

(*) Estimados del NRC, 1988

(2) Determinado por el Laboratorio de Nutrición de la Universidad de Florida, EE.UU.

CUADRO 3.2 Composicion de Nutrientes del Premix, en Base Seca.

NUTRIENTES	CANTIDADES
Vitamina A, UI/Kg	5'000,000.00
Vitamina D3, UI/Kg	1'500,000.00
Vitamina E, UI/Kg	15,000.00
Niacina, g/Kg	300.00
Zinc, g/Kg	40.00
Cobre, g/Kg	10.00
Iodo, g/Kg	2.00
Selenio, g/Kg	0.18
Cobalto, g/Kg	0.15

3.4 MANEJO EN EL PREPARTO

Las vacas en el primer día del periodo de seca fueron tratadas intramamariamente con un producto comercial (Cefa-Dri, Bristol- Meyers Co., Dewitt, NY 13214), el cual contiene antibióticos. Un mes antes del parto calculado las vacas experimentales fueron trasladadas a un corral, donde las vacas empezaban a consumir la ración alimenticia mencionada con excepción del suplemento de calcio. Las vacas en este corral fueron llevadas a la sala de ordeño semanalmente, con la finalidad de que sus pezones sean desinfectados con una solución a base de iodo y de este modo evitar la introducción de microorganismos a la ubre antes del parto. Las vacas parieron en este mismo corral.

3.5 MANEJO EN EL ORDEÑO

Después del parto las vacas fueron trasladadas al corral de alta producción, aquí la ración fue semejante a la que recibieron antes del parto, más un suplemento de calcio en forma de carbonato de calcio. En una sala abierta para ordeño las vacas fueron ordeñadas tres veces al día, empezándose a horas de 6:00 am, 2:00 pm y 10:00 pm. En dicho lugar se disponía de abundante agua y por medio de chorros de agua se realizaba el lavado de las ubres, y con toallas de papel desechables se procedía a secarlas para luego colocar las pezoneras; terminando el ordeño se desinfectó los pezones con una solución a base de iodo.

3.6 DETECCION Y DIAGNOSTICO DE MASTITIS

Para la detección de la mastitis fue usado la prueba California Mastitis Test (CMT) y la prueba clínica (CNM, 1990). La mastitis total incluye a las vacas con mastitis subclínica (CMT2, CMT3) y clínica. Estas pruebas fueron realizadas en todos los cuartos mamarios de cada vaca experimental, en la primera y octava semana de lactación. Un cuarto mamario fue considerado positivo si resultaba CMT2 (leche con moderada formación de gel frente al reactivo), CMT3 (leche con mucha formación de gel frente al reactivo) ó clínica (leche anormal y con grumos visibles). Una vaca era considerada positiva si al menos uno de sus cuartos mamarios era positivo.

Las vacas que resultaban con mastitis clínica, eran tratadas con un producto comercial de infusión intramamaria (Today, Bristol - Meyers Co., Dewitt, NY 13214) que contiene antibióticos de amplio espectro, el cual fue

aplicado por el personal del establo.

Para calcular la proporción de mastitis fueron asignados valores de cero y uno a los cuartos mamarios y a las vacas (Apéndice, cuadros 6 y 7), siendo el valor uno para designar a los casos positivos y cero para los negativos.

Para determinar el porcentaje de vacas mastíticas por tratamiento se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ vacas Mastíticas} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ Vacas positivas} \times 100}{\text{Total de vacas}}$$

Para calcular el porcentaje de cuartos mamarios mastíticos por tratamiento, la fórmula que se utilizó fue:

$$\% \text{ cuartos mamarios mastíticos} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ cuartos mamarios positivos} \times 100}{\text{Total de cuartos mamarios}}$$

3.7 CULTIVO MICROBIOLÓGICO

Las muestras de leche de las vacas consideradas positivas, fueron colectadas asépticamente en frascos estériles y codificados, en el ordeño de la mañana. Las muestras fueron conservadas en hielo y transportadas al laboratorio dentro de 6 horas después de su colección (National Mastitis Council, 1981). Se realizó cultivos básicos sobre agar trypticasa soya, agar MacConkey y agar sangre. Todas las placas fueron observadas después de 24 y 48 horas de

incubación a 37° C. Las colonias fueron identificadas con el asesoramiento del microbiólogo y se clasificaron como Staphylococcus, Streptococcus, Coliformes, levaduras y otros basados en la morfología y apariencia de la colonia, características del crecimiento, hemólisis, hidrólisis de la esculina, prueba de la coagulasa y la tinción Gram.

Para calcular la incidencia de patógenos en cada tratamiento, se realizó mediante la fórmula siguiente:

$$\text{Incidencia del patógeno, \%} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ vacas afectadas por determinado patógeno}}{\text{Total de vacas}} \times 100$$

3.8 PRODUCCION DE LECHE

La producción de leche fue registrada de todas las vacas experimentales durante las primeras ocho semanas de lactación, período que denominaremos lactación temprana, se tomó un día en particular a la semana para registrar la producción promedio de los tres ordeños del día. Adicionalmente con la intención de ajustar la producción observada, se tomó datos de los registros de producción temprana que tuvieron las vacas experimentales en la anterior campaña de lactación. Esto con la finalidad de observar mejor las diferencias del total de producción temprana y la producción semanal entre los grupos de vacas que recibieron los tratamientos.

3.9 ANALISIS ESTADISTICO

Para mastitis

Usando proporciones para vacas y cuartos mamarios que resultaron con mastitis se procedió a comparar los tres grupos experimentales, mediante la prueba de Chi-cuadrada (Calzada, 1981). Aquí la prueba de hipótesis a aceptar o a rechazar sería, que la incidencia de mastitis no es diferente en los tres grupos de tratamientos, comparados dentro de cada semana; el nivel de significación usado fue 0.05.

Para Producción de Leche

Los datos de producción lechera tanto la observada (variable Y, dependiente) como de la anterior campaña (variable X, independiente) fueron evaluados como promedios diarios durante los 56 primeros días de su lactación. Los resultados de estos valores, fueron sometidos a un Análisis de Covariancia en un Diseño en Bloques Completamente al Azar con sub-unidades, siendo las razas, bloques y las vacas, sub-unidades, mediante el procedimiento del Análisis de Covariancia (ANCOVA) del programa SAS (SAS, 1988). Esto, con el objeto de probar primero si existe dependencia lineal entre los resultados de la variable Y respecto a X. Seguidamente probar la hipótesis de que no hay diferencia en la producción lechera entre los tres grupos de tratamientos durante los dos primeros meses de lactación. Para la comparación de medias se utilizó DLS (Diferencia Límite Significativa). El nivel de significación usado fue 0.05.

El modelo aditivo lineal para el análisis de producción lechera usado fue:

$$Y_{ijk} = U + T_i + R_j + \beta(X_{ijk} - X) + T_i R_j + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Observación de la vaca k, raza j y tratamiento i.

U = Media general.

T_i = Efecto del tratamiento, $i = 1,2,3$.

R_j = Efecto de la raza, $j = 1,2$.

β = Coeficiente de regresión.

X_{ijk} = Observación en lactación anterior de la vaca.
k, raza j y que recibirá el tratamiento i.

X = Media aritmética de todas las X.

$T_i R_j$ = Error experimental.

E_{ijk} = Error muestral.

IV.

RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 MASTITIS TOTAL

Los resultados de mastitis total provenientes de la prueba California Mastitis Test (CMT) y la prueba clínica fueron obtenidos en la primera semana (Apéndice, cuadro 2) y en la octava semana de lactación (Apéndice, cuadro 3), el resumen de estos resultados se muestra en el Cuadro 4.1.

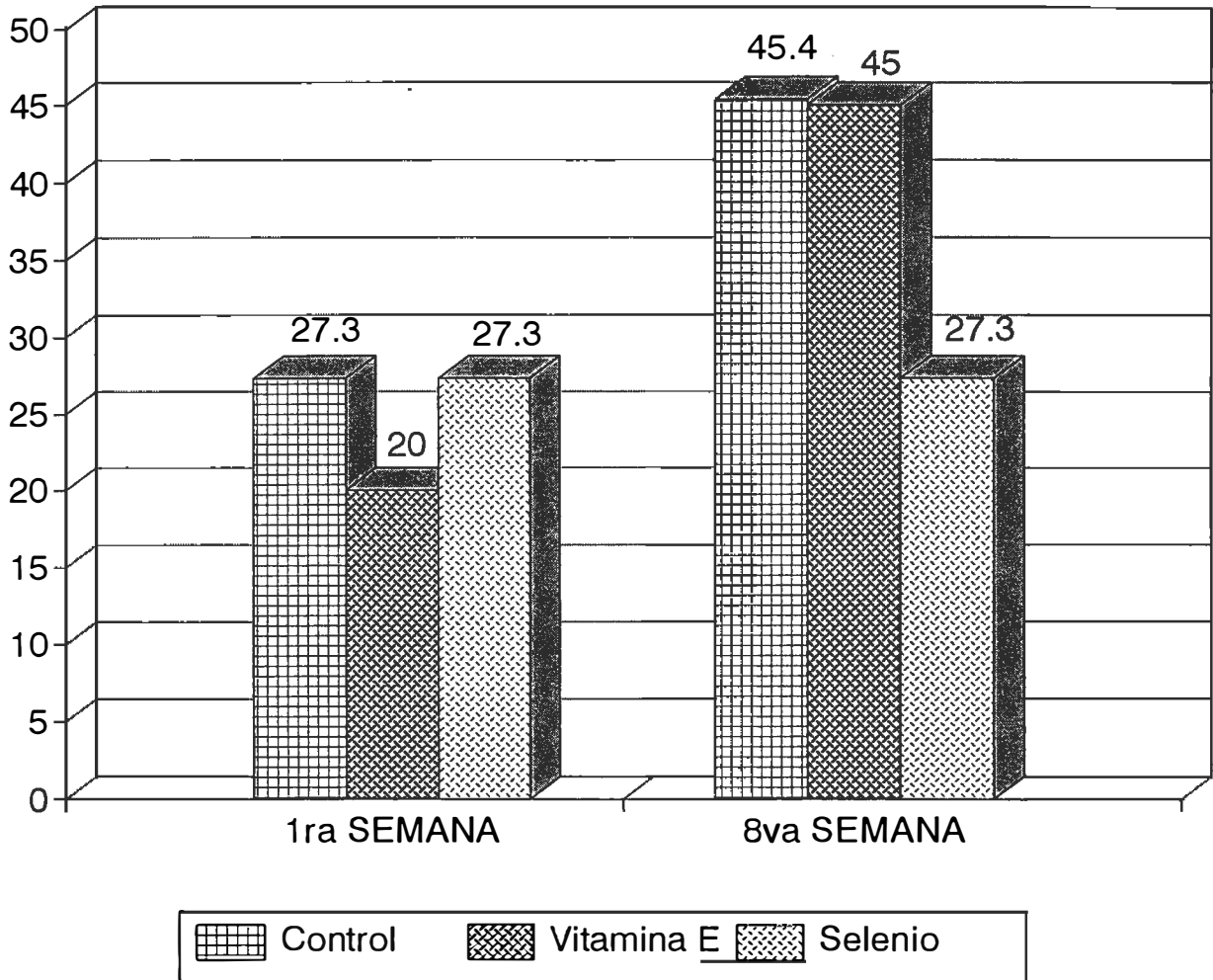
En la primera semana de lactación no se obtuvo diferencia significativa de la incidencia de mastitis total por vaca (Apéndice, cuadro 8), para los tres grupos de tratamientos (Gráfico 4.1). En la octava semana de lactación tampoco se encontró diferencia significativa (Apéndice, cuadro 9), aunque se aprecia en los resultados una aparente tendencia a aumentar la incidencia con respecto a la primera semana.

Similares resultados fueron encontrados al compararse la proporción de cuartos mamarios mastíticos (Gráfico 4.2), sin demostrarse diferencia significativa entre tratamientos, tanto en la primera semana (Apéndice, cuadro 10) como en la octava semana de lactación (Apéndice, cuadro 11). Más detalles de la incidencia de mastitis subclínica y clínica por vaca y por cuarto se muestran en el Apéndice (cuadro 4 y cuadro 5).

CUADRO 4.1 Resumen de la Mastitis, por Vaca y por Cuarto Mamario.

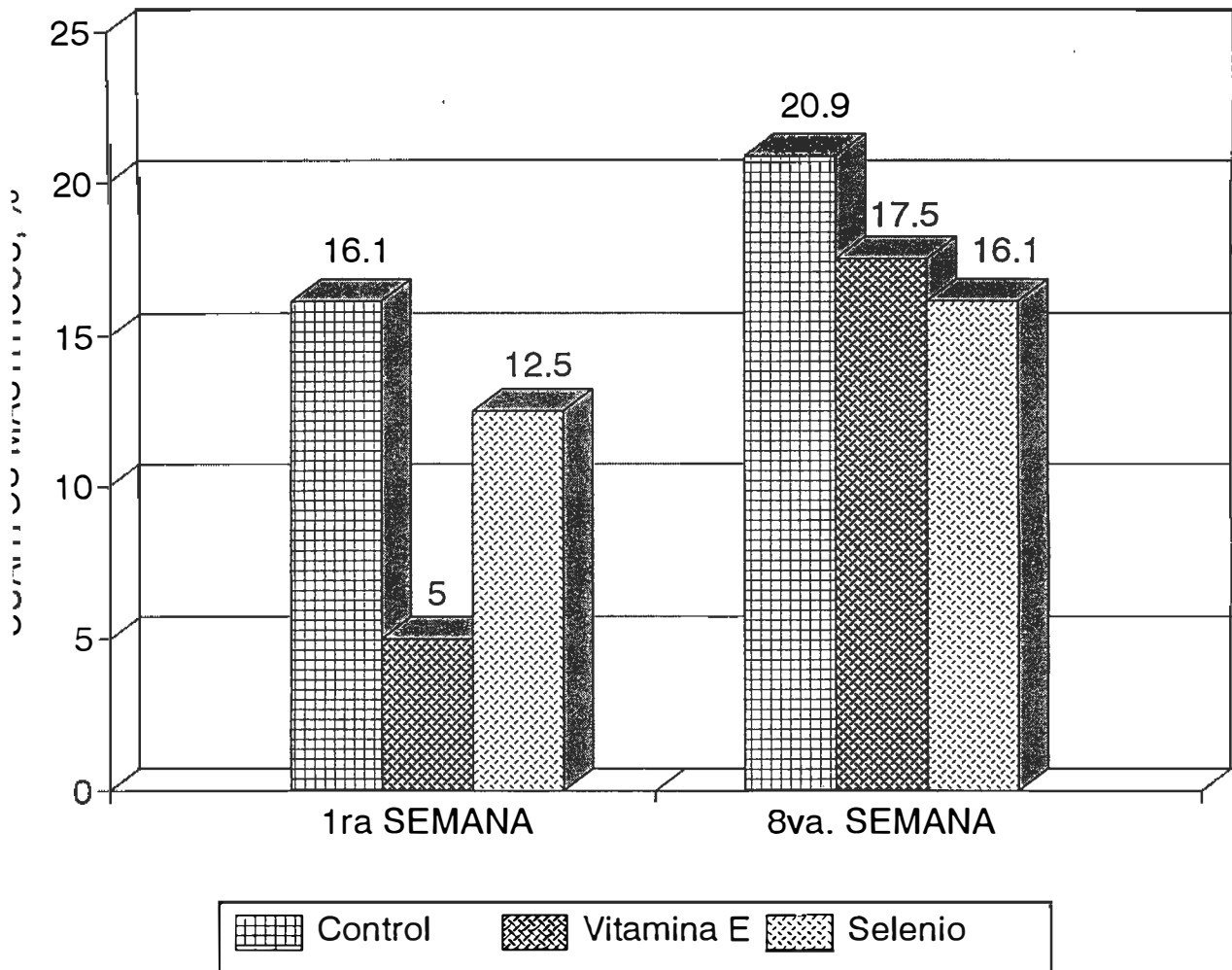
SEMANA POSTPARTO	TRATAMIENTO	N° VACAS	N° CUARTOS MAMARIOS	% VACAS MASTITICAS	% CUARTOS MASTITICOS
MASTITIS TOTAL					
1° SEMANA:	CONTROL	22	87	27.3	16.1
	VITAMINA E	20	80	20.0	5.0
	SELENIO	22	88	27.3	12.5
8° SEMANA:	CONTROL	22	86	45.4	20.9
	VITAMINA E	20	80	45.0	17.5
	SELENIO	22	87	27.3	16.1
MASTITIS CLINICA					
1° SEMANA:	CONTROL	22	87	9.1	2.3
	VITAMINA E	20	80	0.0	0.0
	SELENIO	22	88	9.1	2.3
8° SEMANA:	CONTROL	22	86	13.6	3.5
	VITAMINA E	20	80	5.0	1.2
	SELENIO	22	87	9.1	2.3

GRAFICO 4.1. Incidencia de Mastitis Total como Porcentaje del Total de Vacas por Tratamiento, en la 1ra. y 8va. Semana de Lactación.



Las vacas consideradas mastíticas son CMT2, CMT3 y las Clínicas, dentro de cada semana no hay diferencia significativa.

GRAFICO 4.2. Incidencia de Mastitis Total como Porcentaje del Total de Cuartos Mamarios por Tratamiento, en la 1ra. y 8va. Semana de Lactación.



Los cuartos mamarios considerados mastiticos son CMT2, CMT3 y Clínico, dentro de cada semana no hay diferencia significativa.

El efecto de los tratamientos estudiados sobre la incidencia de mastitis clínica por vaca se considera no significativo tanto en la primera semana (Apéndice, cuadro 12) como en la octava semana de lactación (Apéndice, cuadro 13); similares resultados se observó considerando los cuartos mamarios (Apéndice, cuadros 14 y 15), resultados que se presentan resumidos también en el Cuadro 4.1.

De estos resultados podemos observar que los efectos de la vitamina E y selenio no resultaron ser determinantes en la reducción de la incidencia de mastitis, para este establo en particular. Similares resultados fueron reportados por varios investigadores.

Podemos observar en la primera semana de lactación hay una reducción de 27% de la incidencia de mastitis total/vaca, para el grupo con vitamina E y de 39% en la octava semana de lactación para el grupo con selenio.

Considerando por cuartos mamarios la aparente reducción de la mastitis total en la primera semana de lactación fue del orden de 68% y 22% para las vacas tratadas con vitamina E y selenio respectivamente y en la octava semana de lactación fue del orden de 16% y 23% respectivamente comparados al grupo control.

En relación a la aparente reducción de la incidencia de mastitis clínica, comparado al control fue del orden de 100%, únicamente en las vacas con vitamina E más no en las vacas con selenio, en la primera semana de lactación. En la octava semana de lactación la aparente reducción fue del orden de 63% y 33% para las vacas con vitamina E y selenio respectivamente y de 65% y 34%

de aparente reducción a nivel de cuartos mamarios.

Smith et al. (1984) trabajando en los EE.UU. con vacas multíparas, encontró que 20 vacas suplementadas oralmente, durante el período de seca, con 740 UI de vitamina E/vaca/día (el aporte de su ración fue de 320 UI/vaca/día) y 19 vacas con 50 mg de selenio inyectable/vaca 21 días antes del parto (el aporte de su ración fue de 0.1 ppm), tenían 37% y 12% menos casos de mastitis clínica a nivel de cuartos mamarios respectivamente, comparados a 20 vacas del control. Sin embargo, solo el efecto del tratamiento con vitamina E fue estadísticamente significativo, más el efecto del tratamiento con selenio no fue significativo. La tendencia de nuestros resultados sin ser significativos concuerdan con el trabajo referido. Sin embargo nuestras reducciones de incidencia de mastitis son mayores, probablemente debido que nuestros animales tuvieron un mayor coeficiente de variabilidad (CV=22%), que el trabajo referido (CV, no mencionado).

Smith et al. (1985) trabajando con 27 vacas primerizas tratadas con vitamina E (2 mg α -tocoferol/Kg P.V./día), y selenio (2 μ g Se/Kg P.V./día) ambos en forma oral durante el período de seca y de producción, adicionalmente estas vacas recibieron 0.1 mg Se/Kg PV, inyectada subcutáneamente 21 días antes del parto. Comparando a 28 vacas primerizas de su grupo control, reportó que la mastitis clínica en las vacas suplementadas fue reducida en 57% en la lactación temprana y en 32% durante toda la lactación, de los cuales solo el primer valor de reducción fue significativo. Comparando nuestros resultados específicamente el grupo con vitamina E, es mayor a estos

valores, sin embargo no es significativo, esto es probablemente debido a que en nuestro trabajo las unidades experimentales tuvieron mayor coeficiente de variabilidad que en el trabajo mencionado, que emplearon únicamente primerizas.

Weiss et al. (1990a) trabajando en nueve establos con buen manejo en los EE.UU., encontró que la cantidad de selenio y de vitamina E que aportaban las raciones de estos hatos lecheros eran de 0.1 a 0.38 mg/kg y 8 a 39 UI/Kg durante el período seco respectivamente, y de 0.21 a 0.66 mg/Kg y 8 a 36 UI/Kg durante el período de lactación temprana respectivamente. Las variaciones de estos valores en la ración, evaluo durante los primeros 21 días de lactación, no tenían una relación significativa sobre la incidencia de mastitis clínica. Sin embargo ellos observaron que los establos con elevadas ingestas de selenio tendían a tener más baja incidencia de mastitis; lo cual soportaría la relación aparente encontrada en nuestro trabajo entre los tratamientos aplicados y la incidencia de mastitis en relación a nuestro control.

Batra et al. (1991) en Canadá empleando 95 vacas que fueron suplementadas oralmente con 1000 UI de vitamina E/día, durante el período de seca y lactación temprana y 108 vacas control que recibían 6.6 UI/Kg de vitamina E y de selenio entre 0.10 y 0.12 ppm. Aunque encontraron efecto significativo del tratamiento sobre el incremento de vitamina E en plasma y leche, sin embargo no encontraron efecto significativo de su tratamiento sobre la incidencia de mastitis clínica y subclínica. Resultado que soporta este trabajo en la medida que nosotros tampoco encontramos una relación definida de

nuestros tratamientos aplicados sobre la incidencia de mastitis.

Ndiweni et al. (1991) investigando al respecto en el sur de Inglaterra en nueve establos con alta incidencia de mastitis clínica (>30%) y en otros nueve establos con menos del 30%, encontró que el estado nutricional de estos animales en relación a vitamina E/selenio no influenciaba sobre la incidencia de mastitis clínica. Más aún, a diferencia de otros trabajos mencionados, ellos reportaron que los niveles de vitamina E en plasma y la actividad enzimática de glutathion peroxidasa no difieren significativamente entre los establos con alta y con baja incidencia de mastitis. También el mencionado trabajo apoyaría al nuestro, en el sentido que no le fue posible encontrar una definida relación de los dos nutrientes sobre la incidencia de mastitis.

En las investigaciones realizadas en EE.UU, generalmente concluyen un efecto positivo de la vitamina E/selenio sobre la incidencia de mastitis y de salud de la glándula mamaria. Los resultados encontrados en el presente trabajo, así como los realizados en Canadá e Inglaterra son menos dramáticos que los realizados en los EE.UU. Esto puede ser debido a que en los EE.UU. existen vastas áreas de suelos que son deficientes en selenio y que la disponibilidad de vitamina E es reducida para las vacas que están en confinamiento y por la alimentación a base de ensilado y forrajes de baja calidad (McDowell 1992 a,b). Consecuentemente los efectos beneficiosos encontrados en aquellos estudios fueron obtenidos de estados con bajos niveles de selenio y vitamina E, como lo demuestra la composición de las raciones alimenticias utilizadas en dichos trabajos.

Las aparentes reducciones de la mastitis observadas, tanto para el grupo con vitamina E, como para el grupo de vacas con selenio, en el presente estudio podrían explicarse mediante la posibilidad de estos nutrientes de reducir la susceptibilidad de la glándula mamaria a nuevas infecciones, mediante las interacciones del selenio o vitamina E con los mecanismos de resistencia corporal y su rol principal de proteger las membranas celulares contra la degradación oxidativa (Rotruck et al., 1972)

La dosis experimental de vitamina E, en solución inyectable utilizada en este experimento, no ha sido reportado en trabajos realizados con vacas lecheras. Sin embargo, en un estudio con ovejas (Batra e Hidioglou, 1993), con el objetivo de observar la irritación muscular, se encontró que aplicaron altas dosis de esta vitamina, con los mismos vehículos diluyentes a los nuestros (20% de alcohol etílico y 1% de alcohol bencílico), inyectándose valores de hasta de 7500 UI vitamina E/oveja (25 ml de solución) intramuscularmente, valor mucho mayor por tamaño corporal al nuestro, de 6000 UI/vaca (20 ml de solución) aplicadas en 2 ocasiones, tres semanas antes del parto y al parto. El nivel selenio inyectable utilizado (50 mg Se/vaca) fue similar a los utilizados en muchos de los trabajos anteriormente mencionados.

La incidencia de mastitis total, en el grupo control, fue de 27% y 45% para la primera y octava semana después del parto respectivamente. Estos valores podrían considerarse más bajos que los reportados por otros trabajos también realizados en Lima, que reportan incidencias de mastitis total de 73% (Verano, 1992), 64% (Montiel, 1987) y 34% (Villavicencio, 1982); así también

Bautista e Incio (1964) reportaron una incidencia de mastitis subclínica de 51%, más alta que la encontrada en el presente trabajo (18% y 32% para la primera y octava semana post-parto respectivamente) para el grupo control. Para los años noventa en los EE.UU. se tiene en promedio un 33% de mastitis subclínica por vaca (Philpot y Nickerson, 1992) y para la mastitis clínica se tiene de 0.5-10.3% de las vacas (Wesen, 1994). Considerando que la evaluación de mastitis en este estudio fue en lactación temprana, donde la incidencia es mayor, podemos decir que los niveles de incidencia en este establo trabajado están dentro de niveles considerado como aceptables.

Se observó que algunas vacas inyectadas con vitamina E, presentaron un edema muy endurecido en el sitio de la aplicación, similar reacción fue reportado por Batra e Hidiroglou (1993) en su trabajo con ovejas. Se pudo observar además reacción anafiláctica, en 2 de las vacas (Holstein) dentro de una hora después de su primera aplicación con vitamina E. Esta reacción podría ser debido a los vehículos acompañantes de la vitamina, puesto que no ha sido demostrado su toxicidad en rumiantes. El suministro de epinefrina inyectable a la vaca pudo controlar la reacción anafiláctica.

Aún con estas altas dosis de vitamina E o selenio como tratamientos utilizadas en el presente trabajo, hay poco efecto sobre la incidencia de mastitis, debido a que las vacas experimentales recibían en la ración suplementos (premix) que aportaban vitamina E y selenio de 15 UI/kg y 0.18 ppm a la ración, además de lo que aportaba la ración sin el premix. Consecuentemente nuestro trabajo fue realizado en un grupo de vacas que según NRC (1988) ya

recibían suficientes cantidades de vitamina E y selenio antes y durante el experimento.

4.2 CULTIVO MICROBIOLÓGICO

La incidencia de infección intramamaria por diferentes patógenos (Cuadro 4.2 y Apéndice, cuadro 16) indican que el microorganismo aislado más frecuente es el Streptococcus, tendiendo a mantener su incidencia en la primera y en la octava semana de lactación; el microorganismo Staphylococcus seguía en frecuencia, siendo aparentemente menor su incidencia en la octava semana de lactación para los grupos con selenio y control con respecto a la primera semana. Además se aisló Escherichia coli, Klebsiella y levadura, que son generalmente microorganismos patógenos medioambientales, que mostraron en su conjunto una incidencia aparentemente menor en la primera semana de lactación para los grupos con vitamina E y selenio. En la octava semana de lactación, la proporción de negativos es elevada probablemente debido al uso de antibióticos.

Los Streptococcus fueron los microorganismos aislados más frecuentes en el establo, concordando con trabajos encontrados: Montiel (1987), Smith et al. (1984) y Weiss et al. (1990a). Los grupos de vacas con vitamina E o selenio tuvieron ligera menor incidencia de este microorganismo, similares resultados

CUADRO 4.2 Incidencia de Patogenos Aislados por tratamiento, % de Vacas

PATOGENOS AISLADOS	CONTROL n=22, %	VITAMINA E n=20, %	SELENIO n=22, %
1ra. SEMANA:			
Staphylococcus	9.1	5.0	13.6
Streptococcus	18.2	10.0	13.6
E. coli	4.5	0.0	4.5
Klebsiella	0.0	0.0	0.0
Levadura	9.1	5.0	4.5
Negativos y no aislados	0.0	0.0	0.0
8va. SEMANA			
Staphylococcus	4.5	5.0	4.5
Streptococcus	18.2	10.0	9.1
E. coli	4.5	0.0	4.5
Klebsiella	0.0	10.0	9.1
Levadura	9.1	5.0	4.5
Negativos y no aislados	22.7	20.0	9.1

fueron reportados por Smith et al. (1984) y Weiss et al. (1990a), donde los grupos que recibían vitamina E o selenio tenían similares tendencias a nuestros resultados.

Los Staphylococcus en nuestro estudio estuvieron en segundo lugar en frecuencia concordando con Montiel (1987), pero diferente a la encontrada por Smith et al. (1984) y Weiss et al. (1990a), los cuales reportan mínima incidencia. Probablemente debido al mayor control que tiene este microorganismo en los EE.UU. en relación al Perú; para el grupo de vacas con vitamina E en la primera semana de lactación tuvieron una incidencia ligeramente menor, sin embargo en la octava semana no se observó tal apariencia.

En cuanto a los patógenos ambientales como los E. coli, Klebsiella y levaduras, en la primera semana de lactación fue aparentemente más baja para los grupos tratados que para el control, similar a lo reportado por Batra et al. (1991), Weiss et al. (1990a) y Smith et al. (1985). En la octava semana de lactación no sucedió así, tanto el grupo con vitamina E como el grupo con selenio incrementaron su incidencia, debido probablemente a una respuesta orgánica opuesta a la primera semana, donde estos nutrientes se van secretando con la leche producida y además probablemente, debido a la presencia en el tejido mamario de microorganismos adaptados a la actividad bactericida de estos nutrientes en relación a la primera semana de lactación.

La respuesta negativa al análisis microbiológico mostrado en los resultados, se presenta en los tres grupos de tratamientos, solo en la octava semana de lactación. Probablemente debido a que la infección (presencia de

microorganismos) pudo haber sido eliminada por los antibióticos, aplicados por vía intramamaria durante la lactación, pero que la curación no se haya completado y las células somáticas todavía continúa moviéndose en el tejido mamario, resultando por ello positivo a la prueba CMT y a la prueba clínica, sin embargo negativo a la prueba microbiológica (CNM, 1990). Weiss *et al.* (1990a) reportó que el 27.2% de los casos clínicos eran negativos.

Además se puede observar que en la octava semana de lactación, el grupo control tuvo el mayor porcentaje de negativos, esto puede deberse a la mayor frecuencia en la aplicación de los antibióticos a este grupo experimental. En este caso también debería considerarse la posibilidad de algún microorganismo raro, que no puede ser aislado o detectado por métodos rutinarios, pero su incidencia es mínima (Philpot y Nickerson, 1992), por esta razón se lo considera junto al rubro de negativos en el análisis microbiológico.

4.4 PRODUCCION DE LECHE

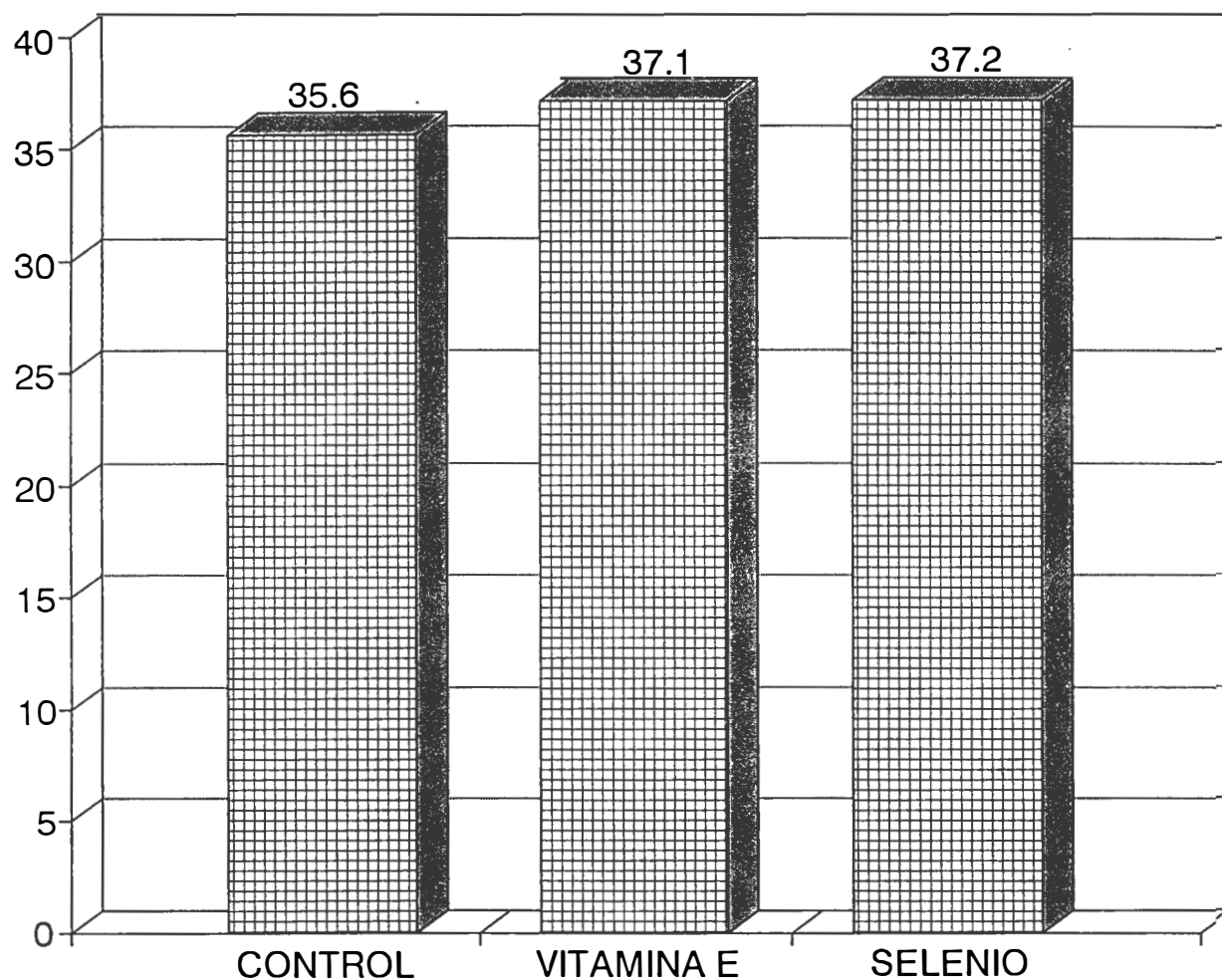
El promedio de la producción lechera de cada vaca, perteneciente a los grupos experimentales, tanto en la lactación temprana de la campaña anterior como en la presente se muestran en el Apéndice (cuadro 17). No se encontró dependencia significativa entre los promedios de producción de leche, en la lactación temprana observada con respecto a la campaña anterior (Apéndice, cuadro 18).

Entre las vacas que recibieron los tratamientos estudiados no se pudo apreciar diferencia significativa (Apéndice, cuadro 18) en la producción de leche

durante los dos primeros meses de lactación, como también se presenta en el Gráfico 4.3. Similares resultados se observó al considerar los promedios de producción semanal (Cuadro 4.3), que al analizarse resultaron también no significativo. Sin embargo se pudo apreciar, en la primera y octava semana de lactación, los grupos de tratamiento con selenio y control tuvieron reducciones en su producción de leche (Cuadro 4.3), la razón de este hecho es que estos grupos tuvieron mayor incidencia de mastitis clínica, como se observa en el Cuadro 4.1. Solo para el grupo con selenio también ocurre esta reducción en la tercera semana, aún cuando no se realizó la prueba clínica, podemos inferir que fue causada por la elevada incidencia de mastitis clínica, como en los anteriores casos.

Para este trabajo, el efecto de bloques no tuvo significancia, el efecto de raza*tratamiento (error experimental) tampoco fue significativo, indicándonos este último que la mayor variabilidad proviene de las subunidades experimentales (vacas) más que las unidades experimentales, por lo tanto sin variar el diseño se procedió hacer la comparación con el error global en vez del error muestral, con la finalidad de tener un resultado menos sesgado. Mayores detalles ver Apéndice, cuadro 18.

GRAFICO 4.3. Promedio de la Producción de Leche en los 56 Primeros Días de Lactación.



Los valores indicados son promedios de producción de leche de los 56 primeros días de 20 a 22 vacas experimentales. Entre tratamientos no hay diferencias significativas.

CUADRO 4.3 Producción Promedio Semanal de Leche por Tratamiento Durante las 8 Primeras Semanas de Lactación.

SEMANA LACTACION	TRATAMIENTO	No. DE VACAS	PRODUCCION PROMEDIO	D.E.
<u>1ra. SEMANA</u>	Control	22	27.4	8.98
	Vitamina E	20	31.3	7.48
	Selenio	22	28.0	10.40
<u>2da. SEMANA</u>	Control	22	34.0	6.78
	Vitamina E	20	35.7	7.86
	Selenio	22	35.6	8.04
<u>3ra. SEMANA</u>	Control	22	37.4	6.92
	Vitamina E	20	38.3	7.95
	Selenio	22	27.7	9.30
<u>4ta. SEMANA</u>	Control	22	38.1	8.12
	Vitamina E	20	39.6	7.86
	Selenio	22	38.7	8.00
<u>5ta. SEMANA</u>	Control	22	38.7	7.63
	Vitamina E	20	38.7	9.49
	Selenio	22	39.7	8.11
<u>6ta. SEMANA</u>	Control	22	36.3	6.93
	Vitamina E	20	37.3	9.53
	Selenio	22	39.3	8.03
<u>7ma. SEMANA</u>	Control	22	35.9	7.60
	Vitamina E	20	36.4	10.47
	Selenio	22	37.7	8.35
<u>8va. SEMANA</u>	Control	22	27.4	7.86
	Vitamina E	20	31.3	10.44
	Selenio	22	28.0	8.46

El principal objetivo de toda empresa es encontrar el máximo rendimiento de sus unidades de producción (vaca) y que el producto (leche) ofertado sea de óptima calidad, por esta razón se evaluó la variable producción de leche. A pesar que los resultados indican que no hubo efecto significativo de los tratamientos estudiados sobre la producción, se a podido apreciar ligera mejoría de 4.2% y 4.5% de incremento en la producción de leche en favor de los grupos tratados con vitamina E y selenio respectivamente, durante las ocho semanas evaluadas. Esta tendencia favorable para dichos grupos, concuerda con las tendencias encontradas en la aparente reducción de incidencia de mastitis y presencia de microorganismos patógenos, comparados al grupo control.

Las evidencias estadísticas nos indican que no hay diferencia en producción lechera, entre los tratamientos evaluados durante la lactación temprana, como para sostener la hipótesis que el efecto de la inyección de selenio o vitamina E es superior al tratamiento control.

V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las que se realizó el presente experimento se puede llegar a las siguientes conclusiones:

1. La inyección intramuscular de 6000 UI de vitamina E aplicada por dos veces a las vacas, 21 días antes de parto y al parto, no afectó la incidencia de mastitis y la producción de leche.
2. La inyección intramuscular de 50 mg de selenio por una sola vez a las vacas, 21 días antes del parto, no afectó la incidencia de mastitis y la producción de leche.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios con dosis más altas o más continuas de vitamina E y/o selenio y por un período de evaluación más prolongado, en vacas lecheras.
2. Realizar estudios sobre el efecto de la inyección de vitamina E y/o selenio sobre la incidencia de mastitis, en establos menos tecnificados y con menor control de mastitis.
3. Evaluar la duración de la mastitis, como efecto de la inyección de vitamina E y/o selenio, en vacas lecheras.

VII.**RESUMEN**

El objetivo del presente estudio fue evaluar los efectos de la inyección de altos niveles de vitamina E o selenio antes de parto sobre la incidencia de mastitis y la producción de leche de vacas en lactación temprana. El presente trabajo se realizó en un establo lechero de producción comercial, de la Sociedad Ganadera "El Sequión", Lurín, Lima. Se trabajó con 64 vacas. (41 Holstein y 23 Brown Swiss) de segundo a más partos asignados a un Diseño en Bloques Completamente al Azar con subunidades. Los tratamientos fueron: 1) control, 2) Vitamina E, (6000 UI, 21 días antes del parto y 6000 UI, al parto) y 3) Selenio (50 mg, Se 21 días antes del parto).

La prueba de California Mastitis Test (CMT) y la prueba Clínica fueron tomados en la primera y en la octava semana de lactación, las muestras positivas de leche se llevó al laboratorio para el análisis bacteriológico; también se evaluó semanalmente la producción lechera. Los resultados indican que para los grupos Control, Vitamina E y Selenio una incidencia de mastitis en la primera semana de 27.3, 20.0 y 27.3% de las vacas y en la octava semana una incidencia de 45.4, 45.0 y 27.3% respectivamente, indicando que no hubo efectos de los tratamientos sobre la incidencia de mastitis. En los tres grupos hubo mayor incidencia de Streptococcus seguido por Staphylococcus. La producción de leche fue similar para los tres grupos de tratamientos.

VIII.

BIBLIOGRAFIA

- ABDELLATIF, H.A., O.E. MOHAMED and R.D. SCHULTZ. 1993. Effect of injecting supplemental vitamin E and selenium on immune system and metabolic profiles of Holstein heifers. World conference on Animal Production. (Abstract 372). Edmonton, Canadá.
- AMMERMAN, C.B. and S.M. MILLER. 1975. Selenium in ruminant nutrition: A review. *J. Dairy Sci.* 58:1561
- ARTHUR J.R., R. BOYNE, H. HILL, and M.J. OKOLOWZUBKOWSKA. 1981. The production of oxygen-derived radicals by neutrophils from selenium-deficient cattle. *Fed. Eur. Bio. Soc.* 135:187.
- ASELTINE, M. 1991. Vitamin E selenium supplementation can prevent mastitis in dairy cattle. *Feedstuffs* 11.Nov. 25.
- ATROSHI, F., J. PARATAINEN, S. SANKARI, and T. OSTERMAN. 1986. Prostaglandins and glutathione peroxidase in bovine mastitis. *Res. Vet. Sci.* 40:361.
- BABIOR, B.M. 1984. The respiratory burst of phagocytes. *J. Clin. Invest.* 73:599
- BAEHNER, R.L., L.A. BOXER, J.M. ALLEN, and J. DAVIS. 1977. Autoxidation as a basic for altered function of polymorphonuclear leukocytes. *Blood* 50:327.
- BATRA, T.R., M. HIDIROGLOU, and M.W. SMITH. 1992. Effect of vitamin E on incidence of mastitis in dairy cattle. *Can. J. Animal Sci.* 72:287.
- BATRA, T.R., and M. HIDIROGLOU. 1993. Muscle irritation associated with injections of vitamin E in sheep. World Conference on Animal Production (Abstract: 374). Edmonton, Canadá.

- BAUTISTA D. y N. INCIO. 1964a. Mastitis bovina en Arequipa Informe N°25 Zona Agraria VI. Ministerio de Agricultura. SIPA-Perú. pp 1-9.
- BAUTISTA D. y N. INCIO. 1964b. Mastitis Bovina, su incidencia en la ganadería lechera del Perú. Ann. II Congreso de Medicina Veterinaria y Zootecnica. Lima, Perú. pp. 75-83.
- BOYNE, R. and J.R. ARTHUR. 1979. Alterations of neutrophil function in selenium-deficient cattle. J. Comp. Path 89:151.
- CALZADA, J. 1981. Métodos estadísticos para la investigación. La Molina, Lima - Perú. 644 p.
- CIPRIANO, J.E., J.L. Morrill, and N.V. ANDERSON. 1982. Effect of dietary vitamin E on immune responses of calves. J. Dairy Sci. 65:2357.
- CONCHA, C. O. HOLMBERG, and B. MOREIN. 1978. Proportion of B- and T- lymphocytes in normal bovine milk. J. Dairy Res. 45:287.
- CONCHA, C. O. HOLMBERG, and B. MOREIN. 1980. Characterization and response to mitogens of mammary lymphocytes from the bovine dry-period secretion. J. Dairy Res. 47:305.
- CONSEJO NACIONAL DE MASTITIS (CNM). 1990. Conceptos actuales de mastitis bovina. 3ra. edición. Arlington, VA. USA.
- DAIRS, G. 1992. Methods of mastitis detection including the rolling ball viscomet and electrical conductivity meter. REVESA S.R.L.
- EBERHART, R.J., R.J. HARMON, D.E. JASPER, S.C. NICKERSON, J.K. RENEAU, E.H. ROW, K.L. SMITH and S.B. SPENCER. 1987. Current concepts of bovine mastitis. Nat. Mastitis Counc. Arlington. VA. USA.

- ERSKINE, R.J., R.J. EBERHART, L.J. HUTCHINSON, and R.W. SCHOLZ. 1987.
Blood selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in dairy herds with high and low somatic cell counts. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 190: 1417.
- ERSKINE, R.J., R.J. EBERHART, P.J. GRASSO and R.W. SCHULZ. 1989.
Induction of Escherichia coli mastitis in cow fed selenium-deficient or selenium-supplemented diet. *Am. J. Vet. Res.* 50:2093.
- FANTONE, J.C., and P.A. WARD. 1982. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocytes-dependent inflammatory reactions. *Am. J. Pathol.* 107:397.
- FLORES, C. 1976. Prevalencia de mastitis en la cuenca del Sur del país (Arequipa, Moquegua, Tacna). Lima, Perú. UNMSM. Tesis 43p.
- GULLICKSON, T. W., L. S. PALMER, W. L. BOYD, J. W. NELSON, F.C. OLSON, C.E. CALVERLEY, and P.D. BOYER. 1949. Vitamin E in the nutrition of cattle. I. Effect of feeding vitamin E-poor rations on reproduction, health, milk production and growth. *J. Dairy Sci.* 32:495.
- GREWAL, A. S., B. T. ROUSE, and L.A. BABIUK. 1978. Characterization of surface receptors on bovine leukocytes. *Int. Archs. Allergy Appl. Immun.* 56:289.
- GYANG, E.O., J.B. STEVENS, W. OLSON, S. D. TSITSAMIS, and E.A. USENIK. 1984. Effects of selenium-vitamin E injection on bovine polymorphonucleated leukocytes phagocytosis and killing of Staphylococcus aureus. *Am. J. Vet. Res.* 45:175.
- HARRISON, J.H., D.D. HANCOCK, and H.R. CONRAD. 1984. Vitamin E and selenium for reproduction in the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 67:123.

HEINZERLING, R.H., R.P. TENDERDY, L.L. WOCK, and D.C. LUEKER. 1974.

Vitamin E protects mice against Diplococcus pneumonie type I infection. Infect. Immun. 10:1292.

HIDIROGLOU, M., R.B. CARSON, G.A. BOSSARD. 1965. Influence of selenium contents of hair and on the incidence of nutritional muscular disease in beef cattle. Can. J. Anim. Sci. 45:197.

HOBLET, K.H., G.D. SCHNITKEY and D.A. ARBAUGH. 1991. Economic losses associated with episodes of clinical mastitis in nine low somatic cell count herds. J. Am. Vet. Med. Assoc. 199:190.

HOGAN, J.S., K.L. SMITH, K.H.HOBLET. 1989. Field survey of clinical mastitis in low somatic cell count herd. J. Dairy Sci. 72:1540.

HOGAN, J.S., K.L. SMITH, W.P. WEISS, D.A. TODHUNTER, and W.L. SHOCKEY. 1990. Relationship among vitamin E, selenium, and bovine blood neutrophils. J. Dairy Sci. 73:2372.

HOGAN, J.S., W.P. WEISS, D.A. TODHUNTER, K.L. SMITH, and P.S. SCHOENBERGER. 1992. Bovine neutrophil responses to parenteral vitamin E. J. Dairy Sci. 75:399.

JAIN, N.C., O.W. SCHALM, E.J. CARROL and J. LASMANIS. 1972. Leukocytes and tissue factors in the pathogenesis of bovine mastitis. Am. J. Vet. Res. 33:1137

JORDAN, M. 1964. Prueba de azul bromotinol en el diagnóstico de mastitis subclínica en la irrigación San Felipe-Huacho-Lima. UNMSM. Facultad de Medicina Veterinaria. Tesis 30p.

JULIEN, W.E., H.R. CONRAD, J.E. JONES, and A.L. MOXON. 1976. Selenium and vitamina E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. J. Dairy Sci. 59:1954.

- KASHIWAZAKI, Y. 1984. Lymphocyte activities in dairy cows with special reference to outbreak of mastitis in pre and postpartus. *Jpn. J. Vet. Res* 32:101.
- KEHRLI, M.E., B.J. NONNECKE, and J.A. ROTH. 1989. Alteration in bovine neutrophil function during the periparturient period. *Am. J. Vet. Res* 50:207.
- LASCELLES, A.K. 1979. The immune system of the ruminant mammary gland and its role in the control of mastitis. *J. Dairy Sci.* 62:154.
- LEHMANN J. 1981. Comparative sensitivities of tocopherol of platelets, red blood cells and plasma for estimating vitamin E nutritional in the rat. *American J. Clin. Nutrition* 34:2104.
- LEHMANN J., D.D. RAO, J.J. CANARY, J.T. JUDD. 1988. Vitamin E and relationships among tocopherols in human plasma, platelets, lymphocytes, and red blood cells. *American J. Clin. Nutrition* 47:470.
- LOZADA, R.J. 1975. Estudio de la prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba modificada de whiteside en la provincia de Piura. UNMSM. *Medicina Veterinaria*. Tesis 30p.
- McCAY, P.B., and M.M. KING. 1980. Vitamin E: Its role as a biological free radical scavenger and its relationship to the microsomal mixed function oxidase system. pp. 289 in vitamin E. Machlin, L.J., ed. Marcel Dekker Inc. NY, USA.
- McDOWELL, L.R. 1989. *Vitamins in Animal Nutrition: Comparative aspects to human nutrition*. Academic Press, San Diego, California.
- McDOWELL, L.R. 1992a. *Minerals in Animal and Human Nutrition*. Academia Press, San Diego, California.
- McDOWELL, L.R. 1992b. *Vitamin E for beef cattle*. Schering- Plough Animal Health.
- MONTIEL, J. 1987. Tipificación e incidencia de cepas de Staphylococcus aureus en ganado vacuno lechero Holstein con mastitis, UNALM. Tesis 107p. Lima, Perú.

- MURRAY, R.K. D.K. GRANNER, P.A. MAYES y V.W. RODWELL. 1992.
Bioquímica de Harper. 12° ed. Editorial El Manual Moderno S. A. México.
740 p.
- NATIONAL MASTITIS COUNCIL (NMC). 1981. Microbiological procedures for the
diagnosis of bovine mastitis. 2nd ed. Carter Press, Inc. Ames, IA.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1978. Nutrient requirements of dairy
cattle. 5th rev. ed. Natl. Acad. Sci, Washington, D.C.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1983. Selenium in Nutrition Revised ed.
Natl Acad. Sci., Washington, D.C.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1988. Nutrient requirements of dairy
cattle. 6th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, D.C.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1989. Recommended Dietary Allowances.
10th Edition. Commission on Life Sciences. National Academic Press.
Washington, D.C.
- NDIWENI, D., T.R. FIELD, M.R. WILLIAMS, J.M. BOOTH, J.M. EINCH. 1991.
Studies on the incidence of clinical mastitis and blood levels of vitamin E and
selenium in dairy herds in England. Veterinary Record 129, No. 5: 86.
- NEATHERY, M.W., J.L. VARNEDDE, W. J. MILLER, C.T. CROWE, A.S. FIELDING,
and D.M. BLACKMON. 1990. Effects of high dietary lead on the metabolism
of intravenously dosed selenium - 75 in dairy calves. J. Dairy Sci. 73: 1107.
- NOGUCHI, T., A.H. CANTOR, and M.L. SCOTT. 1973. Mode of action of selenium
and vitamin E in prevention of exudative diathesis in chicks. J. Nutr. 103:1502
- OLSON, O.E. 1969. Selenium as a toxic factor in animal nutrition Proc. Georgia
Nutrition Conference, pp 68-72.

- PAAPE, M.J., W.P. WERGIN, A.J. GUIDRY, and R.W. PEARSON. 1979. Leukocytes-
Second line of defense against invading mastitis pathogen. *J. Dairy Sci.* 62: 135.
- PHILPOT, W.N. and S.C. NICKERSON. 1992. Mastitis: El contra-ataque. Publicado
y distribuido por Surge International Babson Bros, Co. Country Farm Drive
Naperville, Illinois, E.U.A.
- REDDY, P.G., J.L. MORRILL, H.C. MINOCHA, M.B. MORRILL, A. D. DAYTON,
and R.A. FREY. 1986. Effect of supplemental vitamina E on the immune system
of calves. *J. Dairy Sci.* 69: 164.
- REFFET, J.K., J.W. SPEARS, and T.T. BROWN, Jr. 1988a. Effect of dietary selenium
and vitamin E on the primary and secondary immune response in lambs
challenged with Parainfluenza Virus. *J. Anim. Sci.* 66:1520.
- REFFET, J.K., J.W. SPEARS, and T.T. BROWN, Jr. 1988b. Effect of dietary selenium
on the primary and secondary immune response in calves challenged with
Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus. *J. Nutr.* 118: 229.
- REFFET, J.K., J.N. SPEARS, T.T. BROWN, Jr. and J. BRAKE. 1989. Selenium effects
on glutathione peroxidase and the immune response of stressed calves challenged
with Pasteurella hemolytica. *J. Anim Sci.* 67:557.
- ROTRUCK J.T., A.L. POPE, H.E. GANTHER, and W.G. HOEKSTRA. 1972.
Prevention of oxidative damage to rat erythrocytes by dietary selenium *J. Nutr.*
102: 689.
- ROTRUCK, J.T., A.L. POPE, H.E. GANTHER, D.G. HAFEMAN, and W.G.
HOEKSTRA. 1973. Selenium: Biochemical role as a component of glutathione
peroxidase. *Sci.* 170: 588.
- SARAN, A. 1986. Mastitis Bovina: Enfermedades de la ubre y su control en Israel.
Instituto Veterinario Kimron. Ministerio de Agricultura. Estado de Israel. 72p.

- SAS. 1988. SAS User's guide. Statistical Analysis System Institute, Inc., Cary, NC. 1028 p.
- SCHINGOETHE, D.J., C.A. KIRKBRIDE, I.S. PALMER, M.J. OWENS, W.J. OWENS, and W.L. TUCKER. 1982. Response of cows consuming adequate selenium to vitamin E and selenium supplementation prepartum. *J. Dairy Sci.* 65 : 2338.
- SCHWARZ, K., and C.M. FOLTZ. 1957. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J. Amer. Chem. Soc.* 79:3292.
- SERFASS, R.W., and H.E. GANTHER. 1975. Defective microbicidal activity in glutathione peroxidase deficient neutrophils of selenium deficient rats. *Nature* 255:640.
- SMITH, J.W., and R.D. SCHULTZ. 1977. Mitogen and antigen responsive milk lymphocytes. *Cell. Immuno.* 29: 165.
- SMITH, K.L., J.H. HARRISON, D.D. HANCOCK, D.A. TODHUNTER, and H.R. CONRAD. 1984. Effect of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. *J. Dairy Sci.* 67: 1293.
- SMITH, K.H., H.R. CONRAD, B.A. AMIET, P.S. SCHOENBERGER, and D.A. TODHUNTER. 1985. Effect of vitamin E and selenium dietary supplementation on mastitis in first lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 68 (suppl. 1): 190
- SMITH, K.L., J.S. HOGAN, W.P. WEISS, W.L. SHOCKEY and H.R. CONRAD. 1988. Vitamin E for prevention of mastitis in dairy Cattle. Third Animal BASF Nutrition Forum, Ludwigshafen.
- SPALLHOLZ, J.E., J.L. MARTIN, ML GERLACH, and R.H. HEINZERLING. 1973. Enhanced immunoglobulin G antibody titer in mice fed selenium. *Infect. Immun.* 8: 841.

- STOWE, H.D., J.W. THOMAS, T. JOHNSON, J.V. MARTENIUK, D.A. MORROW, and D.E. ULLREY. 1988. Responses of dairy cattle to long-term and short-term supplementation with oral selenium and vitamin E. *J. Dairy Sci.* 71: 1830.
- TAPPEL, A.L. 1962. Vitamin E as the biological lipid antioxidant. *Vitam. Horm.* 20:492.
- TAPPEL, A.L. 1970. Biological antioxidant protection against lipid peroxidation damage. *Am. J. Clin. Nutr.* 23:1137.
- TARGOWSKI, S.P. 1983. Role of immune factors in protection of mamary gland. *J. Dairy Sci.* 66:1781.
- TENGERDY, R.P., R.H. HEINZERLING, G.L. BROWN, and M.M. MATHIAS. 1973. Enhacement of the humoral immune response by vitamin E. *Int. Arch. Allergy.*
- TENGERDY, R.P. and J.C. BROWN. 1977. Effect of vitamin E and A on humoral immunity and phagocytosis in E. coli infected chickens. *Poult. Sci.* 56:957.
- TINTAYA, F. 1977. Prevalencia de mastitis subclínica en el Valle de Mantaro. UNMSM Tesis 32p. Lima, Perú.
- ULLREY, D.E. 1987. Biochemical and physiological selenium status in animals. *J. Anim. Sci.* 65:1712.
- UNDERWOOD, E.J. 1977. Trace elements in human and animal nutrition. Academic Press, New York.
- VERANO, J.L. 1992. Persistencia de Streptococcus sp. en mastitis subclínica en vacas Holstein durante el período de seca. UNALM, Tesis 87p. Lima, Perú.
- VILLAVICENCIO, E.P. 1982. Incidencia de mastitis subclínica en vacas lecheras de acuerdo al sistema de ordeño, edad y etapa de lactación. UNALM, Lima - Perú. Tesis 107 p.

- WEISS, W.P., J.S. HOGAN, K.L. SMITH, and K.H. HOBLET. 1990a. Relationships among selenium, vitamin E, and mammary gland health in commercial dairy herds. *J. Dairy Sci.* 73:381.
- WEISS, W.P., D.A. TODHUNTER, J.S. HOGAN, and K.L. SMITH. 1990b. Effect of duration of supplementation of selenium and vitamin E on periparturient cows *J. Dairy Sci.* 73:3187.
- WEISS, W.P., J.S. HOGAN, and K.L. SMITH. 1992. Nutrition and mastitis in dairy cattle. Dpt. of Dairy Science. Ohio Agricultural Research and Development Center. Wooster, OH. BASF Technical Symposium.
- WESEN D.P. 1994. Dairy farmer must monitor clinical as well as subclinical mastitis. *Extension Dairy Newsletter.* USA.
- YANG, G.Q., S. WANG, R. ZHOU and SUN. 1983. Endemic selenium intoxication of human in China. *Am. J. Clín. Nutr.* 37:872.

IX.

APENDICE

CUADRO 1: DISTRIBUCION DE VACAS, NUMERO DE SEMANAS EN SECA, FECHA DE PARTO Y NUMERO DE LACTACION DENTRO DE CADA TRATAMIENTO COMO EFECTO DE LA ALEATORIZACION.

CONTROL				VITAMINA E				SELENIO			
VACA	SEMAN EN SECA	PARTO	# LACT	VACA	SEMAN EN SECA	PARTO	# LACT	VACA	SEMAN EN SECA	PARTO	# LACT
HF 321	5	Abr 2	2	HF 244	8	Mar 30	3	HF 242	8	Abr 15	3
HF 140	11	Abr 10	-	HF 2014	7	Abr 18	4	HF 107	6	Abr 11	6
HF 331	8	May 5	2	HF 71	8	May 6	6	HF 324	6	May 2	2
HF 61	7	Abr 28	6	HF 218	9	May 12	4	HF 27	6	May 16	6
HF 277	8	May 17	3	HF 249	14	May 12	3	HF 160	8	May 17	5
HF 158	16	May 22	5	HF 262	8	May 16	3	HF 93	8	May 18	6
HF 342	8	Jun 1	2	HF 63	8	May 1	7	HF 327	9	May 21	2
HF 259	6	May 31	3	HF 258	18	Jun 4	3	HF 264	7	May 27	3
HF 237	8	Jun 1	3	HF 211	18	Jun 8	4	HF 13	7	May 23	7
HF 214	15	Jun 10	4	HF 332	7	Jun 9	2	HF 319	7	Jun 7	2
HF 271	9	Jun 14	3	HF 2011	7	Jun 11	4	HF 128	7	Jun 6	5
HF 253	7	Jun 14	3	HF 344	7	Jun 6	2	HF 281	12	Jun 17	2
HF 64	18	Jun 16	5	HF 176	9	Jun 23	5	HF 115	8	Jun 18	5
HF 147	9	Jun 24	5					HF 167	9	Jun 19	5
BS 217	8	Abr 30	2	BS 121	19	Abr 25	5	BS 30	12	Abr 21	6
BS 93	9	May 2	5	BS 199	8	May 31	3	BS 189	7	Abr 22	4
BS 156	13	May 6	4	BS 90	22	May 15	6	BS 88	7	Abr 17	6
BS 128	12	May 8	5	BS 136	10	May 16	5	BS 162	10	May 21	4
BS 192	10	May 14	3	BS 187	8	Jun 18	3	BS 170	9	Jun 2	3
BS 67	9	Jun 7	6	BS 81	10	Jun 23	5	BS 13	25	Jun 17	6
BS 20	9	Jun 20	7	BS 231	10	Jun 25	2	BS 138	22	Jun 26	5
BS 163	10	Jun 26	3					BS 230	18	Jul 1	2

HF, Holstein Frisan

BS, Brown Swiss

CUADRO 2: RESULTADOS DE LA PRUEBA CMT Y LA PRUEBA CLINICA POR TRATAMIENTO, VACA, Y CUARTO MAMARIO DE LA 1ra. SEMANA DE LACTACION

CONTROL						VITAMINA E						SELENIO					
VACA	AD	AI	PD	PI	TOT	VACA	AD	AI	PD	PI	TOT	VACA	AD	AI	PD	PI	TOT
HF 321	-	-	-	-	-	HF 244	-	T	T	T	T	HF 242	-	1	-	T	1
HF 140	-	-	-	-	-	HF 2014	-	-	-	-	-	HF 107	-	-	-	-	-
HF 331	-	-	Cg	-	-	HF 71	-	-	2	-	2	HF 324	-	-	1	1	1
HF 61	2	1	-	-	2	HF 218	-	-	-	-	-	HF 27	-	-	-	-	-
HF 277	-	-	-	-	-	HF 249	-	-	-	-	-	HF 160	-	-	2	3	3
HF 158	-	-	-	-	-	HF 262	-	-	2	1	2	HF 93	-	-	-	-	-
HF 342	-	-	-	-	-	HF 63	-	-	2	-	2	HF 327	-	-	2	-	2
HF 259	-	-	-	-	-	HF 258	-	-	-	-	-	HF 264	-	-	-	-	-
HF 237	-	-	-	-	-	HF 211	-	1	1	-	1	HF 13	-	-	-	-	-
HF 214	CI	2	2	2	CI	HF 332	-	-	-	-	-	HF 319	-	CI	-	-	CI
HF 271	-	2	-	3	3	HF 2011	-	-	-	-	-	HF 128	-	-	-	-	-
HF 253	-	-	-	3	3	HF 344	-	-	-	-	-	HF 281	1	1	-	-	1
HF 64	-	-	-	-	-	HF 176	-	-	-	-	-	HF 115	CI	3	2	3	CI
HF 147	1	CI	3	3	CI							HF 167	-	-	-	-	-
BS 217	-	3	1	2	3	BS 121	-	-	-	-	-	BS 30	-	-	-	-	-
BS 93	-	-	-	-	-	BS 199	-	-	-	-	-	BS 189	-	-	-	-	-
BS 156	-	-	-	-	-	BS 90	-	-	-	-	-	BS 88	-	3	2	-	3
BS 128	-	-	-	-	-	BS 136	-	-	-	-	-	BS 162	-	-	-	-	-
BS 192	-	-	-	-	-	BS 187	-	-	-	-	-	BS 170	-	-	-	-	-
BS 67	-	-	-	-	-	BS 81	2	-	-	-	2	BS 13	-	-	-	-	-
BS 20	-	-	-	-	-	BS 231	-	-	-	-	-	BS 138	-	-	-	-	-
BS 163	-	-	-	-	-							BS 230	-	3	-	-	3

HF, Holstein Frisan

-, Negativo

CI, Clínica

BS, Brown Swiss

T, Traza

Cg, Ciego

AD, Anterior Derecho

1, CMT1

AI, Anterior Izquierdo

2, CMT2

PD, Posterior Derecho

3, CMT3

PI, Posterior Izquierdo

CUADRO 3: RESULTADOS DE CMT Y DE LA PRUEBA CLINICA POR TRATAMIENTO, VACA Y CUARTO MAMARIO DE LA 8va . SEMANA DE LACTACION.

CONTROL					VITAMINA E					SELENIO							
VACA	AD	AI	PD	PI	TOT	VACA	AD	AI	PD	PI	TOT	VACA	AD	AI	PD	PI	TOT
HF 321	-	-	-	-	-	HF 244	-	-	-	-	-	HF 242	-	-	-	-	-
HF 140	-	-	-	1	1	HF 2014	-	1	-	-	1	HF 107	-	-	-	-	-
HF 331	2	1	Cg	Cl	Cl	HF 71	-	2	-	-	2	HF 324	-	-	-	-	-
HF 61	-	2	-	-	2	HF 218	2	2	2	2	2	HF 27	-	-	-	-	-
HF 277	3	3	3	3	3	HF 249	-	-	-	-	-	HF 160	-	-	-	-	-
HF 158	-	-	3	-	3	HF 262	-	3	3	-	3	HF 93	-	-	2	1	2
HF 342	-	-	-	-	-	HF 63	1	-	1	-	1	HF 327	-	-	-	-	-
HF 259	-	-	-	Cg	-	HF 258	-	-	-	-	-	HF 264	Cl	Cg	3	3	Cl
HF 237	-	-	-	-	-	HF 211	-	-	-	3	3	HF 13	3	3	Cl	3	Cl
HF 214	2	-	-	-	2	HF 332	-	-	-	-	-	HF 319	-	-	-	-	-
HF 271	Cl	3	1	-	Cl	HF 2011	-	-	-	2	2	HF 128	-	-	-	-	-
HF 253	3	-	-	-	3	HF 344	-	-	-	-	-	HF 281	-	-	-	-	-
HF 64	-	-	-	-	-	HF 176	-	-	-	-	-	HF 115	-	-	-	-	-
HF 147	2	2	3	Cl	Cl							HF 167	-	-	-	-	-
BS 217	-	-	-	2	2	BS 121	-	-	2	-	2	BS 30	2	-	2	-	2
BS 93	-	-	-	-	-	BS 199	-	-	2	2	2	BS 189	-	-	-	-	-
BS 156	-	-	-	-	-	BS 90	-	-	-	-	-	BS 88	-	2	3	-	3
BS 128	-	-	-	-	-	BS 136	-	3	-	-	3	BS 162	-	-	-	-	-
BS 192	2	-	1	-	2	BS 187	-	Cl	-	-	Cl	BS 170	-	-	-	-	-
BS 67	-	-	-	-	-	BS 81	-	-	-	-	-	BS 13	-	-	-	-	-
BS 20	-	-	-	-	-	BS 231	-	-	-	-	-	BS 138	-	-	-	-	-
BS 163	-	-	-	-	-							BS 230	-	3	-	3	3

-, Negativo

3, CMT3

T, Traza

Cl, Clínica

1, CMT1

Cg, Ciego

2, CMT2

CUADRO 4: INCIDENCIA DE MASTITIS SUBCLINICA Y CLINICA,
 COMO EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS, % VACAS

SEMANA DE LACTACION	VARIABLE	CONTROL	VITAMINA E	SELENIO
1ra. SEMANA	N° DE VACAS	22	20	22
	PUNTAJE CMT	-----	% -----	
	Negativo	72.7	70.0	59.1
	Traza	0.0	5.0	0.0
	CMT1	0.0	5.0	13.6
	CMT2	4.5	20.0	4.5
	CMT3	13.6	0.0	13.6
	Clínico	9.1	0.0	9.1
8va. SEMANA	N° DE VACAS	22	20	22
	PUNTAJE CMT	-----	% -----	
	Negativo	50.0	45.0	72.7
	Traza	0.0	5.0	0.0
	CMT1	4.5	10.0	0.0
	CMT2	18.2	25.0	9.1
	CMT3	13.6	15.0	9.1
	Clínico	13.6	5.0	9.1

CUADRO 5: INCIDENCIA DE MASTITIS SUBCLINICA Y CLINICA,
 COMO EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS, % CUARTOS MAMARIOS

SEMANA DE LACTACION	VARIABLE	CONTROL	VITAMINA E	SELENIO
1ra. SEMANA	N° DE CUARTOS	87	80	88
	PUNTAJE CMT	-----	% -----	
	Negativo	81.6	87.4	80.7
	Traza	0.0	3.8	1.1
	CMT1	3.4	3.8	5.7
	CMT2	6.9	5.0	4.5
	CMT3	5.7	0.0	5.7
	Clínico	2.3	0.0	2.3
8va. SEMANA	N° DE CUARTOS	86	80	87
	PUNTAJE CMT	-----	% -----	
	Negativo	74.4	78.7	82.8
	Traza	0.0	0.0	0.0
	CMT1	4.7	3.8	1.1
	CMT2	8.1	11.3	4.6
	CMT3	9.3	5.0	9.2
	Clínico	3.5	1.2	2.3

CUADRO 6: VALORES ASIGNADOS A LOS CUARTOS MAMARIOS Y A LAS VACAS PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE MASTITIS TOTAL, 1ra. SEMANA DE LACTACION.

CONTROL							VITAMINA E							SELENIO						
VACA	AD	AI	PD	PI	TOT		VACA	AD	AI	PD	PI	TOT		VACA	AD	AI	PD	PI	TOT	
HF 321	0	0	0	0	0		HF 244	0	0	0	0	0		HF 242	0	0	0	0	0	
HF 140	0	0	0	0	0		HF 2014	0	0	0	0	0		HF 107	0	0	0	0	0	
HF 331	0	0	Cg	0	0		HF 71	0	0	1	0	1		HF 324	0	0	0	0	0	
HF 61	1	0	0	0	1		HF 218	0	0	0	0	0		HF 27	0	0	0	0	0	
HF 277	0	0	0	0	0		HF 249	0	0	0	0	0		HF 160	0	0	1	1	1	
HF 158	0	0	0	0	0		HF 262	0	0	1	0	1		HF 93	0	0	0	0	0	
HF 342	0	0	0	0	0		HF 63	0	0	1	0	1		HF 327	0	0	1	0	1	
HF 259	0	0	0	0	0		HF 258	0	0	0	0	0		HF 264	0	0	0	0	0	
HF 237	0	0	0	0	0		HF 211	0	0	0	0	0		HF 13	0	0	0	0	0	
HF 214	1	1	1	1	1		HF 332	0	0	0	0	0		HF 319	0	1	0	0	1	
HF 271	0	1	0	1	1		HF 2011	0	0	0	0	0		HF 128	0	0	0	0	0	
HF 253	0	0	0	1	1		HF 344	0	0	0	0	0		HF 281	0	0	0	0	0	
HF 64	0	0	0	0	0		HF 176	0	0	0	0	0		HF 115	1	1	1	1	1	
HF 147	0	1	1	1	1									HF 167	0	0	0	0	0	
BS 217	0	1	0	1	1		BS 121	0	0	0	0	0		BS 30	0	0	0	0	0	
BS 93	0	0	0	0	0		BS 199	0	0	0	0	0		BS 189	0	0	0	0	0	
BS 156	0	0	0	0	0		BS 90	0	0	0	0	0		BS 88	0	1	1	0	1	
BS 128	0	0	0	0	0		BS 136	0	0	0	0	0		BS 162	0	0	0	0	0	
BS 192	0	0	0	0	0		BS 187	0	0	0	0	0		BS 170	0	0	0	0	0	
BS 67	0	0	0	0	0		BS 81	1	0	0	0	1		BS 13	0	0	0	0	0	
BS 20	0	0	0	0	0		BS 231	0	0	0	0	0		BS 138	0	0	0	0	0	
BS 163	0	0	0	0	0									BS 230	0	1	0	0	1	

HF, Holstein Frisan 0, Negativo

BS, Brown Swiss 1, Positivo

AD, Anterior Derecho Cg, Ciego

AI, Anterior Izquierdo

PD, Posterior Derecho

PI, Posterior Izquierdo

CUADRO 7: VALORES ASIGNADOS A LOS CUARTOS MAMARIOS Y A LAS VACAS PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE MASTITIS TOTAL , 8va. SEMANA DE LACTACION.

CONTROL						VITAMINA E						SELENIO					
VACA	AD	AI	PD	PI	TOT	VACA	AD	AI	PD	PI	TOT	VACA	AD	AI	PD	PI	TOT
HF 321	0	0	0	0	0	HF 244	0	0	0	0	0	HF 242	0	0	0	0	0
HF 140	0	0	0	0	0	HF 2014	0	0	0	0	0	HF 107	0	0	0	0	0
HF 331	1	0	Cg	1	1	HF 71	0	1	0	0	1	HF 324	0	0	0	0	0
HF 61	0	1	0	0	1	HF 218	1	1	1	1	1	HF 27	0	0	0	0	0
HF 277	1	1	1	1	1	HF 249	0	0	0	0	0	HF 160	0	0	0	0	0
HF 158	0	0	1	0	1	HF 262	0	1	1	0	1	HF 93	0	0	1	0	1
HF 342	0	0	0	0	0	HF 63	0	0	0	0	0	HF 327	0	0	0	0	0
HF 259	0	0	0	Cg	0	HF 258	0	0	0	0	0	HF 264	1	Cg	1	1	1
HF 237	0	0	0	0	0	HF 211	0	0	0	1	1	HF 13	1	1	1	1	1
HF 214	1	0	0	0	1	HF 332	0	0	0	0	0	HF 319	0	0	0	0	0
HF 271	1	1	0	0	1	HF 2011	0	0	0	1	1	HF 128	0	0	0	0	0
HF 253	1	0	0	0	1	HF 344	0	0	0	0	0	HF 281	0	0	0	0	0
HF 64	0	0	0	0	0	HF 176	0	0	0	0	0	HF 115	0	0	0	0	0
HF 147	1	1	1	1	1							HF 167	0	0	0	0	0
BS 217	0	0	0	1	1	BS 121	0	0	1	0	1	BS 30	1	0	1	0	1
BS 93	0	0	0	0	0	BS 199	0	0	1	1	1	BS 189	0	0	0	0	0
BS 156	0	0	0	0	0	BS 90	0	0	0	0	0	BS 88	0	1	1	0	1
BS 128	0	0	0	0	0	BS 136	0	1	0	0	1	BS 162	0	0	0	0	0
BS 192	1	0	0	0	1	BS 187	0	1	0	0	1	BS 170	0	0	0	0	0
BS 67	0	0	0	0	0	BS 81	0	0	0	0	0	BS 13	0	0	0	0	0
BS 20	0	0	0	0	0	BS 231	0	0	0	0	0	BS 138	0	0	0	0	0
BS 163	0	0	0	0	0							BS 230	0	1	0	1	1

HF, Holstein Frisan 0, Negativo

BS, Brown Swiss 1, Positivo

AD, Anterior Derecho Cg, Ciego

AI, Anterior Izquierdo

PD, Posterior Derecho

PI, Posterior Izquierdo

CUADRO 8: PROPORCIONES DE VACAS CON Y SIN MASTITIS TOTAL EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES, 1ra. SEMANA DE LACTACION.

VACAS	CONTROL		VITAMINA E		SELENIO		TOTAL
	obs	esp	obs	esp	obs	esp	
C/MASTITIS	6	(5.5)	4	(5)	6	(5.5)	16
S/MASTITIS	16	(16.5)	16	(15)	16	(16.5)	48
TOTAL	22		20		22		64

Prueba de Hipótesis H_p : En la 1ra. semana de lactación la incidencia de mastitis total por vaca no es diferente en los tres grupos experimentales.

La prueba usada es la Chi-cuadrada

$$\chi^2 = 0.3879; \quad GL = 2, \quad \chi^2_{0.05} = 5.991$$

=> No hay diferencia significativa, por lo tanto se acepta la H_p .

CUADRO 9: PROPORCIONES DE VACAS CON Y SIN MASTITIS TOTAL EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES, 8va. SEMANA DE LACTACION.

VACAS	CONTROL		VITAMINA E		SELENIO		TOTAL
	obs	esp	obs	esp	obs	esp	
C/MASTITIS	10	(8.59)	9	(7.81)	6	(8.59)	25
S/MASTITIS	12	(13.41)	11	(12.19)	16	(13.41)	39
TOTAL	22		20		22		64

Prueba de Hipótesis H_p : En la 8va. semana de lactación la incidencia de mastitis total por vaca no es diferente en los tres grupos experimentales.

La prueba usada es la Chi-cuadrada

$$\chi^2 = 1.958; \quad GL = 2, \quad \chi^2_{0.05} = 5.991$$

=> No hay diferencia significativa, por lo tanto se acepta la H_p .

CUADRO 10: PROPORCIONES DE CUARTOS MAMARIOS CON Y SIN MASTITIS TOTAL EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES, 1ra. SEMANA DE LACTACION

CUARTOS MAMARIOS	CONTROL		VITAMINA E		SELENIO		TOTAL
	obs	esp	obs	esp	obs	esp	
C/MASTITIS	13	(9.55)	4	(8.78)	11	(9.66)	28
S/MASTITIS	74	(77.45)	76	(71.22)	77	(78.34)	227
TOTAL	87		80		88		255

Prueba de hipótesis. H_p : La incidencia de mastitis total por cuarto mamario no es diferente en los tres grupos experimentales en la 1ra. semana de lactación.

La prueba usada es la chi-cuadrada

$$\chi^2_C = 4.532; \quad GL = 2, \quad \chi^2_{0.05} = 5.991$$

=> No hay diferencia significativa, por lo tanto se acepta la H_p .

(Nuestro nivel de significación tendría que ser de 0.1064, para considerar esta χ^2_C como significativa).

CUADRO 11: PROPORCIONES DE CUARTOS MAMARIOS CON Y SIN MASTITIS TOTAL EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES, 8va. SEMANA DE LACTACION

CUARTOS MAMARIOS	CONTROL		VITAMINA E		SELENIO		TOTAL
	obs	esp	obs	esp	obs	esp	
C/MASTITIS	18	(15.64)	14	(14.55)	14	(15.82)	46
S/MASTITIS	68	(70.36)	66	(65.45)	73	(71.18)	207
TOTAL	86		80		87		253

Prueba de hipótesis H_p : La incidencia de mastitis total por cuarto mamario no es diferente en los tres grupos experimentales en la 8va. semana de lactación.

La prueba usada es la chi-cuadrada

$$\chi^2_C = 0.7171; \quad GL = 2, \quad \chi^2_{0.05} = 5.991$$

=> No hay diferencia significativa, por lo tanto se acepta la H_p .

CUADRO 12: PROPORCIONES DE VACAS CON Y SIN MASTITIS CLINICA EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES, 1ra. SEMANA DE LACTACION

VACAS	CONTROL		VITAMINA E		SELENIO		TOTAL
	Obs	esp	Obs	esp	Obs	esp	
CLINICA	2	(1.38)	0	(1.25)	2	(1.38)	4
NO CLINICA	20	(20.62)	20	(18.75)	20	(20.62)	60
TOTAL	22		20		22		64

Prueba de hipótesis H_p : La incidencia de mastitis clínica por vaca no es diferente en los grupos experimentales en la 1ra. semana de lactación.

La prueba usada es la Chi-cuadrada, por lo tanto se acepta la H_p .

$$X_C^2 = 1.939; \quad GL = 2, \quad X_{0.05}^2 = 5.991$$

=> No hay diferencia significativa, por lo tanto se acepta la H_p .

CUADRO 13: PROPORCIONES DE VACAS CON Y SIN MASTITIS CLINICA EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES, 8va. SEMANA DE LACTACION.

VACAS	CONTROL		VITAMINA E		SELENIO		TOTAL
	Obs	esp	Obs	esp	Obs	esp	
CLINICA	3	(2.06)	1	(1.88)	2	(2.06)	6
NO CLINICA	19	(19.94)	19	(18.12)	20	(19.94)	58
TOTAL	22		20		22		64

Prueba de hipótesis H_p : La incidencia de mastitis clínica por vaca no es diferente en los grupos experimentales en la 8va. semana de lactación.

La prueba usada es la Chi-cuadrada, por lo tanto se acepta la H_p .

$$X_C^2 = 0.9228; \quad GL = 2, \quad X_{0.05}^2 = 5.991$$

=> No hay diferencia significativa, por lo tanto se acepta la H_p .

CUADRO 14: PROPORCIONES DE CUARTOS MAMARIOS CLINICOS Y NO CLINICOS POR TRATAMIENTO, 1ra. SEMANA DE LACTACION.

CUARTOS MAMARIOS	CONTROL		VITAMINA E		SELENIO		TOTAL
	obs	esp	obs	esp	obs	esp	
CLINICO	2	(1.36)	0	(1.25)	2	(1.38)	4
NO CLINICO	85	(85.64)	80	(78.75)	86	(86.62)	251
TOTAL	87		80		88		255

Prueba de hipótesis H_0 : La incidencia de mastitis clínica por cuarto mamario no es diferente en los grupos experimentales en la 1ra. semana de lactación.

Prueba estadística usada es la chi-cuadrada

$$\chi^2_c = 1.609; \quad GL = 2, \quad \chi^2_{0.05} = 5.991$$

=> No hay diferencia significativa, por lo tanto se acepta la H_0 .

CUADRO 15: PROPORCIONES DE CUARTOS MAMARIOS CLINICOS Y NO CLINICOS POR TRATAMIENTO, 8va. SEMANA DE LACTACION.

VACAS	CONTROL		VITAMINA E		SELENIO		TOTAL
	obs	esp	obs	esp	obs	esp	
CLINICO	3	(2.04)	1	(1.90)	2	(2.06)	6
NO CLINICO	83	(83.96)	79	(78.10)	85	(84.94)	247
TOTAL	86		80		87		253

Prueba de hipótesis H_0 : La incidencia de mastitis clínica por cuarto mamario no es diferente en los grupos experimentales en la 8va. semana de lactación.

Prueba estadística usada es la chi-cuadrada

$$\chi^2_c = 0.901; \quad GL = 2, \quad \chi^2_{0.05} = 5.991$$

=> No hay diferencia significativa, por lo tanto se acepta la H_0 .

CUADRO 16: MICROORGANISMOS PATOGENOS AISLADOS DE LAS VACAS CMT2, CMT3 Y CLINICA,
EN LA 1ra. Y 8va. SEMANA DE LACTACION

1ra. SEMANA		8va. SEMANA	
VACA	PATOGENO	VACA	PATOGENO
CONTROL:		CONTROL:	
HF 61	Levadura/Streptococcus	HF 331	E.coli/Levadura
HF 214	Staph./E. coli/Levaduras	HF 61	Strepto./Levaduras
HF 271	Streptococcus	HF 277	--
HF 64	Streptococcus	HF 158	--
HF 147	Streptococcus	HF 214	--
BS 217	Stafilococcus	HF 271	--
		HF 253	--
		HF 147	Strepto./Staphilococcus
		BS 217	Streptococcus
		BS 192	Streptococcus
VITAMINA E:		VITAMINA E:	
HF 71	Streptococcus	HF 71	--
HF 262	Streptococcus	HF 218	--
HF 63	Streptococcus	HF 262	Staphilo./Streptococcus
BS 81	Levadura	HF 211	Levaduras
		HF 2011	--
		BS 121	--
		BS 199	Klebsiella
		BS 136	Klebsiella
		BS 187	Streptococcus
SELENIO:		SELENIO:	
HF 160	Staphilococcus	HF 93	--
HF 327	Streptococcus	HF 264	E.coli
HF 319	Staphilococcus	HF 13	Klebsiella/Levad./Strepto.
HF 115	Strepto./Levaduras	BS 30	Staphylo./Klebsiella
BS 88	Strepto./Staphy	BS 88	Streptococcus
BS 230	E. coli	BS 230	--

--, Negativos y no aislados.

CUADRO 17 : PRODUCCION PROMEDIO DE LOS PRIMEROS 56 DIAS EN LA LACTACION ANTERIOR (COVARIABLE X) Y DE LOS PRIMEROS 56 DIAS EN LA LACTACION EVALUADA (VARIABLE Y).

CONTROL			VITAMINA E			SELENIO		
VACA	X	Y	VACA	X	Y	VACA	X	Y
---- kg/d ----			---- kg/d ----			---- kg/d ----		
HF 321	19.5	29.3	HF 244	21.9	32.1	HF 242	35.2	43.1
HF 140	28.1	38.1	HF 2014	35.9	42.1	HF 107	36.5	33.5
HF 331	17.0	25.7	HF 71	43.6	49.6	HF 324	24.8	38.7
HF 61	31.5	32.3	HF 218	26.0	16.3	HF 27	31.6	26.8
HF 277	27.6	45.5	HF 249	22.3	38.1	HF 160	40.5	54.3
HF 158	28.3	39.1	HF 262	21.3	33.5	HF 93	32.2	50.5
HF 342	25.8	41.7	HF 63	34.2	42.5	HF 327	16.1	35.1
HF 259	22.7	38.8	HF 258	33.7	42.3	HF 264	17.4	38.2
HF 237	34.2	28.7	HF 211	30.8	44.7	HF 13	44.1	41.2
HF 214	27.0	40.7	HF 332	24.4	38.6	HF 319	26.8	36.8
HF 271	29.7	23.5	HF 2011	42.7	47.1	HF 128	36.2	39.2
HF 253	37.2	39.2	HF 344	30.4	44.6	HF 281	17.0	32.0
HF 64	41.0	44.0	HF 176	39.2	43.8	HF 115	10.2	40.5
HF 147	34.1	34.6				HF 167	38.6	43.3
BS 217	22.2	30.3	BS 121	25.8	36.2	BS 30	22.5	29.3
BS 93	40.0	36.2	BS 199	28.6	35.1	BS 189	16.3	30.0
BS 156	29.9	35.3	BS 90	18.1	32.5	BS 88	29.0	26.3
BS 128	31.5	33.8	BS 136	27.6	30.5	BS 162	32.8	36.7
BS 192	29.3	33.0	BS 187	24.5	26.3	BS 170	22.8	34.7
BS 67	36.0	44.0	BS 81	32.3	35.0	BS 13	25.7	30.7
BS 20	33.6	28.1	BS 231	18.0	30.7	BS 138	22.5	41.7
BS 163	30.0	40.7				BS 230	21.0	34.1

Para los análisis estadísticos se consideraron tres decimales

HF, Holstein Frisan

BS, Brown Swiss

CUADRO 18: ANALISIS DE COVARIANCIA DE LA PRODUCCION DE LECHE EN UN BLOQUE
COMPLETAMENTE AL AZAR CON MUESTREO

FUENTES DE VARIACION	SUMAS DE CUADRADOS				DESVIACIONES RESPECTO A LA REGRESION		
	G.L.	Σx^2	Σxy	Σy^2	G.L.	$\Sigma y^2 - \Sigma xy^2 / \Sigma x^2$	C.M.
Total	63	3685.7092	1533.86	3080.7595			
Raza(Bloq)	1	110.9674	192.2746	332.796968			
Tratam.	2	.75.7602	-38.3699	32.429395			
Raza*Tratam	2	236.0502	176.8895	133.617615	1	1.061509518	1.06150952
Error Muestr.	58	3262.9314	1203.0658	2581.915543	57	2138.336705	37.5146790
Tratam + Raza*Trat.	4	311.810393	138.5196	166.04701	3	104.51064	
Trat Ajust.					2	103.4491	51.72455
Raza*Tratam. + Error M.	60	3498.9816	1379.9553	2715.53158	59	2171.295763	36.8016231
Raza*Trat. Ajust.					2	32.959058	16.479529

Prueba de Hipótesis para el coeficiente de regresión del error experimental.

$$H_p: \beta = 0$$

$$H_a: \beta \neq 0$$

$$b = \beta = 0.749372$$

$$F_{calc} = 132.5561055 / 1.061509518 = 124.8750985$$

$$F_{tab} (0.05, 1, 1) = 161.4475$$

Se acepta H_p . Por lo tanto no existe una dependencia lineal entre los resultados de Y respecto a X.

Prueba de hipótesis para los tratamientos.

$$H_p: \tau_1 = \tau_2 = \tau_3$$

Ha: Algún τ_i es diferente

$$F_{\text{calc}} = 51.72455/1.06150952 = 48.72735385 \quad F_{\text{tab}}(0.05,2,1)=199.5$$

Se acepta H_p . Por lo tanto no existen diferencias significativas entre los tratamientos.

C.V. = $\sqrt{66.8088075} \times 100/36.6152344 = 22.3\%$, considerando únicamente la variable Y.

Prueba de hipótesis respecto al Error Experimental.

$$H_p: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2$$

Ha: algún σ_i^2 es diferente

$$F_{\text{calc}} = 16.479529/37.5146790 = 0.43928; \quad F_{\text{tab}}(0.05,2,57) = 3.1588$$

Se acepta la H_p . Por lo tanto la variabilidad proviene de las sub-unidades experimentales y no de las unidades experimentales. Por lo tanto es necesario encontrar otro error en el cual también participe el error de las sub-unidades así como el error procedente de las unidades experimentales. A este nuevo error lo vamos a llamar Error Global.

Comparación con el error global

C.M. Error Global.

$$\text{CM Error Global (ajust)} = \frac{(\text{SC Error Exp.} + \text{SC Error Muestral}) \text{ ajust}}{(\text{GL Error Exp} + \text{GL Error Muestral})}$$

$$\text{C.M. Error Global} = (2171.295763/59) = 36.8016231$$

Prueba de hipótesis para el Coeficiente de Regresión del Error Global.

$$H_p : \beta = 0$$

$$H_a : \beta \neq 0$$

$$\beta = 0.39438$$

$$F_{\text{cal}} = 41.25944246 / 36.8016231 = 1.12113; F_{\text{tab}} (0.05, 1, 59) = 161.4475$$

Se acepta la H_p . Por lo tanto no existe una dependencia lineal entre los resultados de Y respecto a X.

Prueba de hipótesis para la comparación a tratamientos utilizando el error global.

$$H_p: \tau_1 = \tau_2 = \tau_3$$

H_a : Algún τ_i es diferente

$$F_{\text{cal}} = 51.72455/36.8016231 = 1.405496; F_{\text{tab}} (0.05, 2, 59) = 3.1531$$

Se acepta H_p por lo tanto no existen diferencia entre los efectos de los tratamientos.

Promedios Ajustados (Considerando solo el error experimental):

Promedio de T_1 : $35.6145 - 0.749372(29.8627 - 28.7453) = 34.777$

Promedio de T_2 : $37.1115 - 0.749372(29.105 - 28.7453) = 36.8419$

Promedio de T_3 : $37.1609 - 0.749372(27.3001 - 28.7453) = 38.2439$

Prueba DLS ($\alpha = 0.05$): .

$$DLS = T_{tab(0.975, 1gl)} * \sqrt{CMEE_{Exp} * \left[\frac{1}{r_i} + \frac{1}{r_j} + \frac{(\bar{X}_i - \bar{X}_j)^2}{SC(X)} \right]}$$

Comparación	Diferencia	DLS	Resultado
T_1 vs. T_2	2.0649	16.1369	n.s.
T_1 vs. T_3	3.4669	24.8609	n.s.
T_2 vs. T_3	1.401	17.049	n.s.

Debido a que en el ANCOVA los resultados salieron no significativos, también podemos concluir que la comparación entre pares de tratamientos resultan todos no significativos.

Recomendaciones.

Los resultados de no significancia del Coeficiente de Regresión nos indican que no es necesario utilizar ANCOVA y que el análisis se puede hacer en un ANVA con el mismo tipo de Diseño. No obstante se realizó el análisis de datos en un ANVA dando como resultado final la no diferencia significativa de los tratamientos.