



EFFECTO DE LOS MINERALES TRAZA SOBRE EL RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN VACAS HOLSTEIN POST PARTO

Luis Palacios

Estudiante de Medicina Veterinaria
Corporación Universitaria Remington

Johan Castañeda

Estudiante de Medicina Veterinaria
Corporación Universitaria Remington

Leonardo Duque, MV, MSc.

Docente Facultad de Medicina Veterinaria
Corporación Universitaria Remington

Raúl Mazo, MV, Esp.

Docente Facultad de Medicina Veterinaria
Corporación Universitaria Remington

EFECTO DE LOS MINERALES TRAZA SOBRE EL RECUESTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN VACAS HOLSTEIN POST PARTO

Resumen

Antecedentes: Los minerales son elementos químicos simples cuya presencia es indispensable para la actividad celular. Una buena ingesta y absorción de minerales traza es necesaria para obtener una buena respuesta inmune, reproductiva y de crecimiento. Los minerales traza identificados como microminerales son importantes para un desarrollo normal de la función inmune y de la resistencia a las enfermedades dentro de los cuales están el zinc, cobre, manganeso, hierro y selenio, el déficit de uno o varios de estos minerales puede generar inmunodeficiencias en las vacas en producción. **Objetivo:** Evaluar el efecto de los minerales traza sobre el recuento de células somáticas en vacas Holstein postparto. **Métodos:** Se evaluaron 86 vacas Holstein las cuales fueron divididas en 2 grupos, un grupo tratamiento de 44 vacas a las cuales se les suministro 2 bolos intrareticulares de minerales traza de liberación lenta, 60 días antes del parto. Y otro grupo no tratadas de 42 vacas, a las cuales se les realizo recuento de células somáticas (RCS) mensuales durante 4 meses con el fin de encontrar diferencias entre ambos grupos. Los resultados de ambos grupos fueron analizados y comparados a través de un análisis estadístico transversal, en el cual las variables cualitativas se presentan como frecuencia absoluta y relativa, las variables cuantitativas se reportaron promedios y su desviación estándar para aquellas con distribución homogénea, aquellas heterogéneas se reportarán medianas con su respectivo rango intercuartílico. **Resultados:** No se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos tratado y el no tratado ($p > 0.05$). **Conclusiones:** La suplementación con dos bolos de minerales traza intrareticulares de liberación lenta no mostro diferencias estadísticamente significativa en el recuento de células somáticas entre las vacas tratadas y las vacas no tratadas en esta población. La nutrición es fundamental para una buena respuesta inmune, sin embargo, hay que tener en cuenta los factores que influyen en RCS elevados como lo es el medio ambiente, rutina de ordeño, aseo y desinfección de las instalaciones etc. Los cuales deben ser vigilados por un profesional que realice un manejo integral para lograr bajos RCS en el hato.

Palabras clave: CMT, glándula mamaria, Minerales traza, recuento de células somáticas.

TWELVE YEARS OF TREATMENTS FOR CLINICAL ENDOMETRITIS IN BOVINES: SYSTEMATIC REVIEW.

Abstract

Background: Minerals are simple chemical elements whose presence is indispensable for cellular activity. A good intake and absorption of trace minerals is necessary to obtain a good immune, reproductive and growth response. Trace minerals identified as microminerals are important for a normal development of immune function and resistance to diseases within which zinc, copper, manganese, iron and selenium are present, the deficit of one or more of these minerals can generate Immunodeficiencies in cows in production. **Objective:** To evaluate the effect of trace minerals on the somatic cell count in postpartum Holstein cows. **Methods:** Eighty-six Holstein cows were divided into 2 groups, a treatment group of 44 cows fed 2 intra-articular boluses of slow-release trace minerals 60 days before delivery. And another group not treated of 42 cows, who were counted somatic cells (SCC) monthly for 4 months in order to find differences between both groups. The results of both groups were analyzed and compared through a transverse statistical analysis, in which the qualitative variables are presented as absolute and relative frequency, the quantitative variables were reported averages and their standard deviation for those with homogeneous distribution, those heterogeneous Will report medians with their respective interquartile range. **Results:** No statistically significant differences were found between the treated and untreated groups ($p > 0.05$). **Conclusions:** Supplementation with two boluses of slow release intrarecticular trace minerals did not show statistically significant differences in the somatic cell count between treated and untreated cows in this population. Nutrition is essential for a good immune response, however, it is necessary to take into account factors that influence high CRS such as the environment, routine milking, toilet and disinfection of facilities etc. These should be monitored by a professional who performs an integral management to achieve RCS low in the herd.

Palabras clave: CMT, mammary gland, trace minerals, somatic cell count

INTRODUCCIÓN

Los minerales son los elementos químicos simples cuya presencia es indispensable para la actividad celular. Una buena ingesta y absorción de minerales traza es necesaria para obtener una buena respuesta inmune, reproductiva y de crecimiento. Sin embargo, detectar las deficiencias de estos minerales es difícil en el caso de deficiencias subclínicas o marginales ya que los síntomas clínicos específicos no son lo suficientemente evidentes para el productor como para reconocer la deficiencia. Los minerales traza identificados como microminerales son importantes para un desarrollo normal de la función inmune y de la resistencia a las enfermedades dentro de los cuales están el zinc, cobre, manganeso, hierro y selenio (Underwood, 1977).

Una deficiencia de uno o varios de estos minerales puede comprometer la inmunodeficiencia. La primera barrera de defensa del cuerpo es la piel, el zinc y el manganeso son elementos clave para mantener la integridad del tejido epitelial. Cabe tener en cuenta que el revestimiento del tracto respiratorio, pulmones, tracto gastrointestinal y aparato reproductivo son también tejido epitelial y que el mantenimiento de la integridad y salud de estas zonas puede reducir la infiltración de patógenos (Underwood, 1977).

Estos nutrientes participan en muchas rutas metabólicas, cuando no hay un aporte adecuado a través de la dieta se ven afectadas diversas funciones biológicas. Estudios recientes han demostrado que algunos de estos nutrientes, adicional a los mecanismos de acción ya conocidos, participan también en la regulación del ciclo celular y que son elementos moduladores de los procesos de replicación y diferenciación celular, por lo que un buen balance de estos nutrientes puede jugar un papel muy importante en la integridad de aquellos tejidos de recambio rápido como son los epitelios como el de la glándula mamaria y el sistema inmunológico involucrado en la defensa de la misma (Fisher, 2008).

En la mastitis clínica o subclínica, el estado inmunitario de la vaca juega un papel muy importante ya que las células somáticas son células blancas propias del organismo que le sirven como defensa a la glándula mamaria de la vaca contra organismos patógenos. Algunos nutrientes, como los minerales traza, son de vital importancia para el desarrollo de la respuesta inmune que combate la infección. Con el fin de reducir los tratamientos antibióticos, minimizar los efectos producidos por las mastitis y mejorar

el estado inmunitario de los animales, es fundamental un mayor conocimiento de la función de los minerales como mediadores de la respuesta inmune. (NRC, 2001).

Con esta investigación se evaluó el efecto de los minerales traza en el recuento de células somáticas (RCS), mediante el suministro de dos bolos intrareticulares de liberación lenta a un grupo de 44 vacas Holstein los cuales se les harán RCS, y se analizarán con los del grupo no tratadas, con el objetivo de evaluar si el suplemento es efectivo en el RCS.

MATERIALES Y METODOS

Este estudio se realizó en el año 2016, entre los meses de agosto a noviembre en la finca sabanas ubicado en el municipio de Entrerrios Antioquia, (Colombia), a 2300 metros sobre el nivel del mar, con una temperatura promedio de 16°C. La finca cuenta con 292 vacas de la raza Holstein de las cuales 200 se encuentran en producción con un promedio de 20 Lt/día, utilizan ordeño mecánico 2 veces al día, los animales son suplementados con concentrado Sollaleche 14® y su dieta principal se basa el consumo de pasto kikuyo bajo el sistema de pastoreo rotacional.

Para el desarrollo de este proyecto se realizó un estudio estadístico transversal en el cual se seleccionaron 86 vacas con características muy homogéneas en cuanto a promedio de 4 partos y condición corporal promedio 3.25, que cumplieran con los criterios de inclusión (animales de 2 a 6 partos, animales que no hubiesen sufrido mastitis, previo a el secado, animales gestantes próximos a parto). Los cuales fueron dividido en dos grupos aleatoriamente, un grupo no tratadas de 42 animales, y un grupo tratamiento conformado por 44 vacas Holstein a las cuales se les suministro a través de un aplicador intrareticular dos bolos de minerales traza de liberación lenta, producto comercial ALL TRACE® con peso de 107 gramos cada unidad y compuesto por:

- Cobre 135.5 mg
- Cobalto 2.0 mg
- Selenio 2.1 mg
- Manganeson 69.0 mg
- Zinc 111.0 mg

- Yodo 4.1 mg
- Vitamina A 4.457.0 UI
- Vitamina E 9.1 UI
- Vitamina D3 909.0 UI

Los cuales se suministraron 60 días antes de la fecha probable de parto. Durante el postparto se realizó recuento de células somáticas en ambos grupos, tanto cualitativas (CMT - california mastitis test), como cuantitativas con la ayuda del dispositivo PortaSCC® el cual brinda un conteo rápido y confiable de células somáticas presente en la leche.

Para la realización del CMT se utilizó la siguiente metodología:

Equipo: Se toma una muestra de leche de cada cuarto en una raqueta de CMT limpia. La raqueta tiene cuatro pequeños compartimientos marcados como A, B, C, y D para identificar los cuartos de los que proviene cada muestra. La solución C.M.T. lista para usar, producto comercial de laboratorio life, compuesto por Dedocil sodio sulfato 2% y cristal violeta 0.0033% en 1000 ml.

Procedimiento:

Paso 1: Tome aproximadamente 2 ml de leche de cada cuarto.

Paso 2: Agregue igual cantidad de solución CMT a cada compartimiento.

Paso 3: Rote la raqueta con movimientos circulares hasta mezclar totalmente el contenido.

Paso 4: se lee rápidamente la prueba. La reacción visible desaparece en unos 20 segundos. La reacción recibe una calificación visual. Entre más gel se forme, mayor es la calificación.

Lectura:

N = Negativo (No Infectado). No hay reacción de la mezcla. De 0 a 200.000 células somáticas.

+ = Posible infección. Ligera reacción de la mezcla. La reacción “Trazas” parece

desvanecerse con la rotación continua de la paleta. De 200.000 a 400.000 células somáticas. En este estudio las trazas se identifican con una cruz ya que nuestro objetivo es evaluar el efecto de los minerales traza en el RCS. Como un posible tratamiento a la mastitis subclínica más que clínica.

++ = Positivo débil (Infectado). Hay clara reacción de la mezcla, pero sin tendencia a formar gel. Si la paleta se rota por más de 20 segundos, la reacción puede desaparecer. De 400.000 a 1.200.000 células somáticas. Mastitis subclínica.

+++ = Positivo evidente (Infectado). Inmediata reacción de la mezcla con formación de gel. Cuando el movimiento se detiene, la mezcla se nivela y cubre todo el fondo de los pozuelos. 1.200.000 a 5.000.000 células somáticas.

Nota: La paleta se lava después de cada prueba.

La realización del conteo de células somáticas con el dispositivo PortaSCC® se hizo de la siguiente forma:

Materiales: Lector, tiras, pipetas plásticas, contenedores estériles, solución activadora y carta de color.

Procedimiento:

Paso 1: Se toman 1ml de leche de cada cuarto y se depositan en un contenedor estériles y se mezcla.

Paso 2: Se agrega 1 gota de leche en el poso de latir y 3 gotas de solución activadora.

Paso 3: Se espera 45 a 60 minutos y se introduce la tira en el lector digital.

Lectura:

El valor dado por el lector es multiplicado por 1'000.000, ejemplo $0.06 = 60.000$ células/ml.

Conteos bajos ≤ 50.000 celulas/ml y conteos altos $\geq 3'000.000$ células/ml.

Los resultados de ambos grupos fueron analizados y comparados a través de un análisis estadístico, en el cual las variables cualitativas se presentan como frecuencia absoluta y relativa, las variables cuantitativas se reportaron promedios y su desviación

estándar para aquellas con distribución homogénea, aquellas heterogéneas se reportarán medianas con su respectivo rango intercuartílico. Para observar la asociación entre las variables de interés y el desenlace, en las variables cuantitativas con distribución normal se utilizó una diferencia de medias mediante la prueba T de Student y en las variables con distribución no normal con la prueba U de Mann-Whitney, la normalidad se evaluó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, las variables cualitativas se midió la diferencia de proporciones mediante la prueba Chi cuadrado; se consideró un nivel de significación el valor $\alpha=0.05$.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en esta investigación para la prueba cualitativa CMT, obtenidos mediante la evaluación de los cuartos de la ubre de forma individual y clasificando su estado de salud según los valores dados durante la realización de la prueba en una cruz (+), dos cruces (++) , tres cruces (+++) , negativo (-) y clínico. Tanto en las vacas tratamiento como en las no tratadas fueron los siguientes:

Tabla 1. Tabla comparativa de los cuartos de las vacas tratadas y las vacas no tratadas.

EVALUACION POR CUARTOS DE LAS VACAS TRATADAS					
Cuartos	+	++	+++	Clínicos	Negativos
Anterior derecho	11	8	3	1	109
Anterior izquierdo	8	6	4	0	114
Posterior derecho	14	5	4	0	109
Posterior izquierdo	15	4	3	0	110
EVALUACION POR CUARTOS DE LAS VACAS NO TRATADAS					
Cuartos	+	++	+++	Clínicos	Negativos
Anterior derecho	17	19	10	1	79
Anterior izquierdo	19	21	9	0	77
Posterior derecho	26	9	7	0	84
Posterior izquierdo	15	15	8	1	87

Fuente: Elaboración propia

Los resultados obtenidos para las variables de interés fueron analizados mediante la prueba U de Mann Whitney, la cual para la variable RCS realizada por el dispositivo PortaSCC® se reporta un promedio de 431.506 células/ml. Y una desviación estándar de 397.787 células/ml en las vacas tratadas. Con respecto a las vacas no tratadas que reportaron un promedio de 403.920 células/ml. Y una desviación estándar de 282.936 células/ml. Y establece un valor $p=0.513$ con lo cual se concluye que no hay diferencia estadísticamente significativa entre las vacas tratadas y las no tratadas.

Tabla 2. Diferencia de medias U de Mann Witney.

VARIABLES	GRUPOS	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR	VALOR P*
Recuento de celulas somaticas	Tratadas	431.506	397.787	0.513
	No Tratadas.	403.920	282.936	

Fuente: Elaboración propia

DISCUSIÓN

En este estudio no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos, con respecto al trabajo realizado por Smith et al. (1985). Donde confirma que la suplementación con Selenio (0.3 ppm) y vitamina E (1.000 UI/d ingesta total) 60 días antes del parto y durante toda la lactancia es benéfica para aumentar la inmunidad de la glándula mamaria reduciendo la incidencia de cuartos infectados al momento del parto, reducción en la prevalencia de infecciones durante la lactancia, menos casos de mastitis clínica, infecciones de menor duración y menores RCS.

En este estudio a pesar que el bolo intrarecticular de liberación lenta contiene Se en cantidades de 2.1 mg y vitamina E 9.1 UI no se observó disminución en el recuento de células somáticas en las vacas que se les suministro estos componentes.

Scaletti et al. (2003) suplementaron novillas empezando a los 60 días pre-parto con 110 ppm de sulfato de Cobre, como suplemento pre-parto y 200 mg diarios post-parto. Se inoculo uno de los cuartos de todas las vacas con E.coli para inducir mastitis. Las vacas que recibieron sulfato de Cobre tuvieron un mayor recuento de glóbulos blancos, menos E. coli en la leche y mayor producción de leche, en comparación con los controles que no recibieron sulfato de Cobre.

Otros investigadores como Moyo et ál. (2005) realizaron un meta-análisis de 14 documentos entre 1984 y 2003 para estimar la magnitud y la importancia del efecto de la vitamina E en la salud de la ubre. Encontrando que los suplementos de vitamina E estaban en promedio asociados con una reducción del 14% en el riesgo de infecciones intramamarias (IIM), una reducción en el RCS en leche en un factor de 0,70 y una disminución del 30% en el riesgo de aparición de mastitis clínica (MC). Estos resultados apoyan la hipótesis de que los suplementos de vitamina E durante los períodos de lactancia seca y temprana se asocian con menos ocurrencias de IIM, RCS y MC. Sin embargo, la sola consideración de la vitamina E sería incorrecto ya que todos los componentes del sistema antioxidante parecen interactuar.

En estudios más recientes realizados por Machado et al. (2013). Reportan que la proporción de mastitis subclínicas fue de 1 a 3 veces mayor en las vacas en los grupos de control, en comparación con las tratadas con elementos traza inyectables (Se, Cobre, Zinc, Manganeso). Otros estudios realizados por Bayril et al, (2015). reportan que la suplementación con selenio y vitamina E tiene un efecto positivo sobre la salud de la ubre disminuyendo el RCS y la incidencia de metritis y mastitis subclínica, además aumenta la producción de leche y disminuye los días abiertos.

Como se observa en la tabla 1, las vacas tratadas, presentaban un grado de mastitis al inicio de la lactancia al igual que las vacas no tratadas, siendo más relevante en la que no tenían tratamiento.

Como lo reportan algunos autores los minerales traza como el selenio, cobre, zinc y la vitamina E administrados en la proporción adecuada mejora la respuesta inmune de la glándula mamaria reduciendo el RCS en el hato. El Selenio y vitamina E, protegen la membrana celular del daño oxidativo causado por los radicales libres (Rice y Kennedy 1988). El Selenio es un componente del glutatión peroxidasa, esta es una enzima que se encuentra dentro de las células que limita el daño oxidativo interno producido por los radicales libres (Diplock 1981; Erskine 1993).

El cobre desempeña una función importante en el sistema inmune pues los compuestos del cobre ayudan a reducir las infecciones y las enfermedades, acción antioxidante modula la respuesta inflamatoria como proteína de fase aguda en infecciones o estrés, oxidación del Fe+2 para que este pueda ser transportado hasta los tejidos hematopoyéticos por la transferrina y finalmente oxidación de aminas aromáticas (Scaletti, 2003).

El zinc es esencial para la cicatrización de heridas, la reparación del tejido epitelial y la conservación de la integridad celular. La queratina, es una sustancia que recubre el interior de los conductos de la ubre, ayuda a proteger contra patógenos actuando a manera de barrera física y química, y requiere del zinc para su formación (Spain et ál. 2005).

Es claro el mecanismo por el cual los minerales traza logran aumentar la inmunidad en la glándula mamaria, sin embargo, hay ciertos factores que influyen en el RCS tales como:

El medio ambiente que rodea el animal, deficiencia nutricional, mal aseo de instalaciones y equipos, una rutina de ordeño insuficiente, mal sellado de pezones y secado de las vacas al terminar el periodo de lactancia etc. Estos factores son de difícil verificación por parte de los investigadores ya que no se manejaron protocolos para la vigilancia de las rutinas de ordeños, las cuales están a cargo de los operarios del hato. Sin embargo, es necesario tener en cuenta estos factores para futuras investigación sobre este tema.

Es importante realizar estudios bromatológicos y pruebas sanguíneas para evaluar si hay deficiencias de minerales y vitaminas, para poder determinar si la cusa de RCS elevados en el hato se está presentando por deficiencias nutricionales o mal manejo por parte de los operarios.

DISCUSIÓN

La suplementación con dos bolos de minerales traza intrareticulares de liberación lenta no mostro diferencias estadísticamente significativa en el recuento de células somáticas entre las vacas tratadas y las vacas no tratadas en esta población.

Bayril et al. (2015) afirman que las vacas sometidas a tratamiento con Se y vitamina E, aumentan la producción de leche aumentando la descamación de las celulas epiteliales, aumentan la respuesta inmune y favoreciendo un mayor recuento de globulos blancos (Scaletti et al. 2003). Lo que puede sugerir un aumemeto en el recuento de celulas somaticas, debido a la respuesta eficiente del sistema inmune, frente a vacas que, como se menciono anteriormente, tenian algun grado de mastitis. Esto explicaria por que al momento de realizar el conteo final con ayuda del PortaSCC® las vacas tratadas mostraron un conteo superior en celulas somaticas, frente a las no

tratadas, que aunque no fue estadísticamente significativo, podría estar apoyando esta teoría.

Una adecuada nutrición puede influir en una buena respuesta inmunitaria de la vaca ante la invasión de agentes patógenos, sin embargo, hay que tener en cuenta que los pezones están expuestos constantemente ante estos agentes, es fundamental realizar una buena rutina de ordeño buen aseo de las instalaciones y equipos de ordeño, para realizar un manejo integral de la mastitis subclínica para obtener bajos RCS en el hato.

REFERENCIAS

Bayril T, Yildiz A, Akdemir F. et al. (2015) The Technical and Financial Effects of Parenteral Supplementation with Selenium and Vitamin E during Late Pregnancy and the Early Lactation Period on the Productivity of Dairy Cattle. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2015 Aug; 28(8): 1133–1139.

Bradley AJ, Leach KA, Breen JE et al. (2007) National intervention study of mastitis control in dairy herds in England and Wales. *Vet Rec* 160, 287-93.

Burvenich C, Paape MJ, Hill AW et al. (1994) Role of the neutrophil leucocyte in the local and systemic reactions during experimentally induced *E. coli* mastitis in cows immediately after calving. *Vet. Q* 16, 45-50.

Chew BP, Hollen LL, Hillers JK et al. (1982) Relationship between vitamin A and -carotene in blood plasma and milk and mastitis in Holsteins. *J Dairy Sci* 65, 2111-2118. Chew BP, Johnston LA (1985) Effects of supplemental vitamin A and β -carotene on mastitis in dairy cows. *J Dairy Sci* 68 (1),191.

Diplock AT (1981) The role of vitamin E and selenium in the prevention of oxygen-induced tissue damage. In: *Selenium in Biology and Medicine.* p 303. Spallholz JE, Martin J L and Ganther HE (eds). AVI Publishing, Hartford, CT.

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.

Fisher, (2008). Micronutrients and animal nutrition and the link between the application of micronutrients to crops and animal health. *Turk. J. Agric. For.* 32: 221-

233.

Harrison, J. H., D. D. Hannonck, and H. R. Conrad. (1984). Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 67:123.

K. Larry Smith, J. S. Hogan, and W. P. Weiss. (1997). Dietary Vitamin E and Selenium Affect Mastitis and Milk Quality. *J. Anim. Sci.* 1997. 75:1659–1665

Machado et al. (2015). Efecto de un suplemento de minerales traza inyectable que contiene selenio, cobre, zinc y manganeso en la salud y la producción de vacas Holstein. *Vet J.* 2013; 197 : 451-456.

Malbe M, Klaassen M, Fang W et al. (1995) Comparisons of selenite and selenium yeast feed supplements on Se-incorporation, mastitis and leucocyte function in Se-deficient dairy cows. *Zentralbl Veterinarmed A* 42(2),111-21.

Mee JF, O'Farrell K and Rogers PAM (1993). Trace element deficiency in Irish dairy herds. *Irish Grassland and Animal Production Association Journal* 27,29-40.

Moyo N, Nielen M, Kruitwagen C et al. (2005) Vitamin E supplementation and udder health: A metaanalysis. In: *Mastitis in dairy production: Current knowledge and future solutions.* Hogeveen H (ed). Pp 159-165.

McKenzie. R.C. Rafferty and G.J. Beckett. (1998). Selenium: an essential element for immune function. *Immunol. Today* 9:342-345.

NRC (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Animals*, 7th ed. National Research Council/National Academy Press, Washington, DC, USA.

Oldham ER, Eberhart RJ and Muller LD (1991). Effects of supplemental vitamin A and β -carotene during the dry period and early lactation on udder health. *J Dairy Sci* 74, 3775-3781.

Rice DA, Kennedy S (1988) Assessment of vitamin E, selenium and polyunsaturated fatty acid interactions in the aetiology of disease in the bovine. *Proc Nutr Soc* 47,177-184.

Smith, KL, Conrad HR, Amiet BA et al. (1985) Incidence of environmental mastitis as influenced by vitamin E and selenium. *Kiel. Milchwirtsch. Forschungsber* 37,482.

Smith KL, Harrison JH, Hancock DD et al. (1984) Effect of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. *J Dairy Sci* 67,1293.

Smith KL, Hogan JS and Weiss WP (1997). Dietary Vitamin E and Selenium Affect Mastitis and Milk Quality. *J Anim Sci* 75,1659-1665. Spain JN, Jones CA, Rapp C et al. (2005) The effect of complexed zinc on keratin synthesis in the teat canal and the establishment and severity of experimentally induced *E. coli* mastitis in dairy cows. In: *Mastitis in dairy production: Current knowledge and future solutions*.

Scaletti RW, Trammell DS, Smith BA et al. (2003). Role of Dietary Copper in Enhancing Resistance to *Escherichia coli* Mastitis. *J Dairy Sci* 86,1240–1249.

Spain JN, Jones CA, Rapp C et al. (2005). The effect of complexed zinc on keratin synthesis in the teat canal and the establishment and severity of experimentally induced *E. coli* mastitis in dairy cows. In: *Mastitis in dairy production: Current knowledge and future solutions*.

Underwood, E.J. (1977). *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. 4th Edition, Academic Press, New York.

Wilson DJ, Gonzalez RN, Hertl J et al. (2004). Effect of clinical mastitis on the lactation curve: a mixed model estimation using daily milk weights. *J Dairy Sci* 87, 2073- 2084.

Zadoks RN (2006). The role of nutrition in udder health. High Plains Dairy Conference, Albuquerque, New Mexico. Pp 115-127.