

## Uso del sulfato de cobre por vía parenteral en vacas hipocuprémicas con mastitis y su efecto en la fertilidad

Parenteral use of copper sulfate in hypocupremic cows with mastitis and its effect on fertility

Gelda Torres Rosas<sup>\*1</sup>, Reynel Páez<sup>1</sup>, José Luis Azúm<sup>2</sup>, Felicia Roller Gutierrez<sup>2</sup>, Noelia González Cabrera<sup>1</sup>, Jorge Acosta Albiol<sup>1</sup>, Rodolfo Pedroso Sosa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones para el Mejoramiento Animal de la Ganadería Tropical. La Habana, Cuba.

<sup>2</sup> Universidad Técnica de Manabí. Portoviejo, Manabí, Ecuador.

\* **Correspondencia para el autor:** gtorres@ip.co.cu

### Resumen

La deficiencia de cobre y la mastitis afectan a las vacas lechereas en pastoreo. Durante seis meses (mayo–octubre 2015) se determinó la prevalencia y relación de la mastitis subclínica con la deficiencia de cobre y los trastornos de la fertilidad en un grupo de 335 vacas, 231 de la raza Jersey y 104 del genotipo Siboney; también, en 240 vacas Siboney se evaluó el efecto de la suplementación de cobre oral en la salud de la ubre y los trastornos reproductivos. Se diagnosticó la mastitis por la prueba de California, en tanto que el cobre en suero sanguíneo se determinó por espectrometría de absorción atómica. Se encontró una alta prevalencia de mastitis en vacas hipocuprémicas, asociada al anestro y las repeticiones del servicio; la suplementación de cobre en dosis de 50 mg por vía subcutánea redujo significativamente  $p < 0.05$ , la tasa de anestro, aumentó la fertilidad y disminuyó la severidad de la mastitis.

**Palabras clave:** anestro, deficiencia de cobre, fertilidad, reproducción, vaca lechera.

### Abstract

Copper deficiency and mastitis affect grazing dairy cows. During six month (May –October 2015), the prevalence of subclinical mastitis and its relation with copper deficiency and fertility disorders in a group of 335 cows, 231 of the Jersey breed and 104 of the Siboney genotype, while among 240 Siboney cows the effect of oral copper supplements on udder health and reproductive disorders was evaluated. Mastitis was diagnosed by the California Test, and copper in blood serum was determined by atomic absorption spectrometry. A high prevalence of mastitis in copper deficient cows was found, this being associated also with anestrus and repeated breeding. Subcutaneously administered copper supplements in doses of 50 mg reduced significantly ( $p < 0.05$ ) the rate of anestrus, increased fertility, and reduced the severity of the mastitis.

**Key words:** anestrus, copper deficiency, fertility, milking cow, reproduction.



**Recibido:** 31 de marzo, 2016  
**Aceptado:** 31 de mayo, 2016

## Introducción

La mastitis bovina es la enfermedad más importante desde el punto de vista económico en el ganado productor de leche, porque es un problema global que afecta la salud animal, la calidad y el nivel de producción de leche, el comportamiento reproductivo y la eliminación prematura de las vacas de los hatos ganaderos (Asaf *et al.*, 2013).

Esta enfermedad de la glándula mamaria tiene una elevada prevalencia y su causa es multifactorial (Olechnowicz & Jaskowski, 2013). Las pérdidas económicas que genera son calculadas fundamentalmente en la disminución de la producción de leche, el desecho de las vacas y el valor de los fármacos utilizados en el tratamiento. Las mermas en dólares en los Estados Unidos de América ascienden a 1.7 billones de dólares anuales, en Nueva Zelanda a 800 millones y en la India a 6 532 millones (Hamadani *et al.*, 2013). Sin embargo, en la mayoría de estos cálculos, no se incluye el impacto sobre el comportamiento reproductivo de las vacas afectadas (Fodor & László, 2014)

Los minerales trazas y especialmente el cobre juegan un importante papel en la salud y el comportamiento reproductivo de la hembra bovina, su deficiencia disminuye la capacidad de respuesta del sistema inmunológico (Spears, Williams & Weiss, 2008; Jóźwik *et al.*, 2012; Arthington, 2015) y se asocia con diversos trastornos de la fertilidad en las vacas lecheras (García *et al.*, 2012).

Recientemente se ha demostrado que existe una asociación significativa entre las deficiencias de cobre y la prevalencia de mastitis (Scalletti & Harmon, 2012). Por consiguiente, en la estrategia actual de control y prevención de esta enfermedad se incluye, a menudo, el uso de la suplementación oral o parenteral de este micro elemento con el fin de restaurar los valores fisiológicos del cobre en el organismo, la capacidad de respuesta del sistema inmunológico de las vacas durante el período de transición (Yang & Shan, 2015)

y la optimización de los indicadores del comportamiento reproductivo.

Este trabajo tuvo como objetivo corroborar la relación existente entre la prevalencia de la mastitis y los trastornos reproductivos en vacas hipocuprémicas; también se estimaron las pérdidas económicas originadas por esta enfermedad en un rebaño de referencia de vacas lecheras de las razas Jersey y Siboney de Cuba, además de determinar el efecto de la suplementación parenteral de cobre, previo al parto, en la fertilidad posparto.

## Materiales y métodos

El estudio se realizó durante seis meses del período lluvioso (mayo – octubre del 2015) en la empresa pecuaria “Niña Bonita”, ubicada en Carretera Guatao, Km 1½, Punta Brava, La Habana, Cuba. Se tomaron los datos de los registros reproductivos de las vacas en los rebaños de referencia .

### Sistema de manejo, alimentación y control sanitario

En la investigación fueron utilizadas 335 vacas (231 Jersey y 104 Siboney de Cuba) de 6 a 9 años de edad con una condición corporal entre 2.5 a 3 puntos en escala de 0 a 5 puntos y con una producción promedio de leche de 6.0 litros diarios. El rebaño se encontraba bajo un sistema de explotación de pastoreo dirigido, doble ordeño mecanizado y cría artificial. Las vacas pastoreaban en la mañana (08h00-10h00) y por la tarde (05h00-20h00). La alimentación estuvo basada en pasto estrella (*Cynodon nlemfluensis*); concentrado con 13 % de proteína, suministrando 0.5 kg por cada litro posterior al quinto litro, y forraje verde King Grass (*Pennisetum purpureum*), en una disponibilidad 45 kg/diarios. Los rebaños estaban bajo sistema de vigilancia veterinaria según los programas vigentes del Instituto Medicina Veterinaria (IMV) y se encontraban libres de enfermedades infectocontagiosas, según aval de los registros correspondientes. El sistema de reproducción se basó en inseminación artificial con semen proveniente de toros probados.

### Método de diagnóstico de mastitis

El diagnóstico de la mastitis se realizó mediante exploración clínica al 100 % de las ubres de las vacas en producción. Para ello se utilizaron los métodos de inspección y palpación a fin de detectar cuartos con mastitis clínica (aguda) y crónica. La detección de mastitis subclínica fue efectuada empleando la Prueba de California realizada cada 15 días (2 veces al mes, durante el ordeño), según la metodología de Armenteros *et al.* (2001).

### Procedimiento para el diagnóstico reproductivo

El estado reproductivo individual y del rebaño fue determinado mediante la valoración de los registros reproductivos: intervalo parto-primer celo, parto-concepción, número de servicios por gestación e intervalo parto-parto. El estado clínico del aparato reproductor fue evaluado por un veterinario especializado en fisiopatología de la reproducción, mediante el método de inspección clínica descrito por Holy (1987) a partir de los 30 días posteriores al parto, a los 60 y 90 días en dos ocasiones a intervalo de  $9 \pm 1$  día. Se consideró como vacas anéstricas aquellas que no presentaron celo detectable durante los 85 días posteriores al parto y mostraron carencia de cuerpo lúteo y ausencia de folículos de un tamaño inferior a 10 mm, en dos exploraciones por palpación rectal a intervalos de  $9 \pm 1$  día.

### Toma de sangre y análisis bioquímico

La toma de sangre para la determinación de los niveles de cobre se realizó por punción de la vena yugular al total de animales de la unidad, a los 8 meses de gestación. Los análisis se efectuaron en el laboratorio certificado de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central de Las Villas. El cobre se determinó en el suero sanguíneo mediante espectrofotometría de absorción atómica, empleando un equipo SP-9-Pye Unicam, con valores de referencia obtenidos de Mulligan, Grady, Rice y Doherty (2006). Estos autores establecieron tres niveles: Normal (mayores que  $10 \mu\text{mol/L}$ ), Hipocupremia Leve

( $4.7 - 10 \mu\text{mol/L}$ ) e Hipocupremia Grave (valores menores que  $4.7 \mu\text{mol/L}$ ).

### Suplementación de cobre

Se emplearon 240 vacas Siboney de Cuba. Los animales fueron divididos al azar en dos grupos de 120 animales cada uno, tratados y no tratados. El tratamiento se impuso durante cuatro semanas antes del parto. La suplementación de cobre fue realizada por vía parenteral utilizando la solución sulfato de cobre etilendinitrilotetracetato, en dosis de 50 mg por vía subcutánea.

### Valoración económica del resultado experimental

Para la valoración económica del resultado experimental en la reproducción se utilizaron los siguientes indicadores para Cuba:

- Costo de una vaca vacía desde 90 a 120 días posparto: USD 30
- Valor de la producción: USD 150 (valor del ternero destetado).
- Valor de la producción de leche en 305 días de lactancia: USD 0.27/ litro x litros en 305 días de lactancia.

Las pérdidas ocasionadas por cada vaca afectada por mastitis, se estimaron con los siguientes indicadores (Armenteros *et al.* 2001):

- Valor de las pérdidas en la producción de leche por cuartos afectados en 3 intervalos del período posparto (0-15, 16- 30 y 31-60 días posparto): Litros de leche dejados de producir por cuartos afectados, en cada uno de los intervalos mencionados x USD 0.27 / litro.
- Valor de las pérdidas ocasionadas por descarte y ausencia total de producción de leche: USD 1 540, 57 / vaca descartada.

### Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los resultados, en todos los casos se calcularon los estadígrafos

descriptivos (medias y desviaciones para las variables cuantitativas y frecuencias para las cualitativas). Se realizó un análisis de varianza simple para comparar el comportamiento reproductivo y los niveles de cobre sérico entre las razas investigadas. Se realizó un estudio observacional de diseño transversal para la determinación de la prevalencia de la mastitis (prevalencia de infecciones mamarias totales). La expresión de cálculo de este indicador epizootológico fue la siguiente:

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{Total de vacas afectadas}}{\text{Total de animales bajo riesgo de infección}} \times 100$$

Se efectuó un análisis de comparación de proporciones y una prueba de regresión simple para establecer la relación entre la mastitis y los trastornos reproductivos. Este método de análisis también se utilizó para calificar la eficiencia del tratamiento parenteral de cobre, comparando las proporciones de prevalencia y fertilidad de las vacas entre niveles de suplementación de este micro elemento. Los datos fueron procesados

con el paquete estadístico SAS (2001).

## Resultados

El 100 % de los animales tuvo valores de cobre en el suero sanguíneo por 10-12  $\mu\text{mol/L}$  y de ellos el 36 % mostró valores en rango de deficiencia ( $<10 \mu\text{mol/L}$ ). En relación a los indicadores reproductivos, el intervalo parto primer celo se encuentra dentro del rango óptimo, sin embargo, el período parto concepción es elevado (Tabla 1).

El 53.7% de las vacas tuvo trastornos reproductivos (180/335). De ese total, el 28.0 % (94/335) representa a las repetidoras del celo ( $> 3$  servicios por concepción) en tanto que el 25.0 % (86/335) mostró anestro posterior al parto. Además, en estas unidades, el 8.0 % de las vacas fue descartado por problemas reproductivos y mastitis crónica. La prevalencia total de mastitis subclínica fue del 44.17 % y en estas vacas fue más elevada la incidencia de los trastornos reproductivos ( $p<0.05$ ) especialmente en los casos de las vacas con anestro posterior al parto ( $p<0.05$ ), respecto a las no afectadas (Tabla 2).

**Tabla 1.** Algunos índices del comportamiento reproductivo, bajas de la reproducción y prevalencia de mastitis en un rebaño de vacas Jersey y Siboney de Cuba, en sistema de producción de pastoreo rotacional (n=335).

Características	Raza		Significación
	Jersey	Siboney de Cuba	
Número de animales	231	104	//////////
Intervalo parto-primer servicio ( días)	62.0 $\pm$ 2.6	70.0 $\pm$ 3.5	P<0.05
Intervalo parto-gestación ( días)	150.0 $\pm$ 10.3	168.0 $\pm$ 16.0	NS
Intervalo parto-parto ( días)	425.7 $\pm$ 4.7	426.7 $\pm$ 0.82	NS
Número de servicio por gestación	2.45 $\pm$ 0.12	2.19 $\pm$ 1.15	NS
Porcentaje de bajas de la reproducción (%)	11.7	3.32	P<0.05
Niveles de cobre en el suero sanguíneo ( $\mu\text{mol/L}$ )	10.18 $\pm$ 1.75	10.61 $\pm$ 2.65	NS
Porcentaje de vacas con hipocupremia	45.4	44.0	NS
Porcentaje de vacas con mastitis subclínica	74.0	55.7	P<0.001

**Tabla 2.** Relación entre la prevalencia de mastitis, la frecuencia anestro y las repeticiones del celo en vacas lecheras Jersey y Siboney de Cuba, en pastoreo.

Variables	N	Con mastitis		Sin mastitis	
		N	%	N	%
Anéstricas	94	59	62.7 <sup>a</sup>	35	39.3 <sup>b</sup>
Repeticiones del celo	86	41	47.6	44	51.6
Totales	189	100	55.8 <sup>a</sup>	79	44.1 <sup>b</sup>

Letras diferentes por líneas difieren entre sí  $p<0.05$

El análisis de regresión entre la presencia de mastitis subclínica y el estado reproductivo (anéstricas y repeticiones de celo), mostró una relación positiva  $r = 0.526$  ( $p < 0.05$ ) entre el anestro y la ocurrencia de mastitis en vacas lecheras hipocuprémicas.

### Pérdidas económicas estimadas por mastitis y trastornos reproductivos

En las unidades de referencia, las mermas económicas asociadas a la prevalencia de mastitis, ocasionada por los descartes y trastornos reproductivos (repetición del celo y el anestro posparto), generaron pérdidas estimadas globales anuales por USD 57 443 en todo el rebaño y 337.9 por vaca afectada (Tabla 3).

**Tabla 3.** Estimación global anual de las pérdidas del rebaño objeto de estudio por la prevalencia de mastitis y trastornos reproductivos

Características	Razas		Totales
	Jersey	Siboney de Cuba	
Pérdidas globales (USD)			
Número de animales	231	104	335
Número de cuartos afectados	416	266	682
Pérdidas de leche (kg x 305 días de lactancia)	23 964	9 553	33 517
Descarte	18 975	1 981	20 956
Pérdidas por vacas vacías	1 350	1 620	2 970
Subtotales	44 289	13 154	57 443

### Efecto de la suplementación de cobre en la prevalencia de mastitis y trastornos reproductivos

Se observa que en las vacas del grupo suplementado con cobre aumentó la tasa de preñez, el porcentaje de hembras inseminadas y redujo significativamente el porcentaje de vacas anéstricas respecto al grupo control (Tabla 4). Sin embargo, la prevalencia de mastitis fue superior en el grupo tratado respecto al control (56 % frente al 43 %, respectivamente,  $P < 0.05$ ). Por otro lado, en el grupo control, el 96 % de los animales afectados por la enfermedad mostró mastitis

clínica mientras que en el grupo suplementado con cobre (Tratamiento) solo el 49.3 % ( $P < 0.05$ ).

**Tabla 4.** Efecto de la suplementación con cobre parenteral cuatro semanas antes del parto en el comportamiento reproductivo y prevalencia de mastitis en vacas lecheras bajo sistema de producción de pastoreo rotacional y doble ordeño.

Características	Grupo tratado	Grupo control	Significación
Número de animales	120	120	//////////
Prevalencia total de mastitis (%)	56	43	NS
Mastitis clínica (%)	49.6	96	$P < 0.05$
Mastitis subclínica (%)	50.4	4.0	$P < 0.001$
Trastornos reproductivos (%)	28.3	89.1	$P < 0.001$
Gestantes (%)	54.1	10.9	$P < 0.001$
Inseminadas (%)	15.5	0	$P < 0.001$

### Discusión

La deficiencia de cobre y la mastitis tienen una influencia negativa en el comportamiento reproductivo de las vacas lecheras. En la presente investigación, los niveles de cobre en el suero sanguíneo en el rebaño investigado tuvo valores en el rango de deficiencia, de acuerdo con los valores de referencia de Mulligan *et al.* (2006) y los planteados previamente por García *et al.* (2012). No hubo diferencias significativas en los valores e incidencia de esta deficiencia mineral entre los diferentes genotipos objeto de estudio.

La mastitis subclínica afectó al 68.65 % de las vacas estudiadas (229/335) en el transcurso de los primeros 60 días después del parto, lo cual concuerda con lo expuesto por Thatcher *et al.* (2010) y Meikel *et al.* (2013), quienes sustentan que en este período las vacas manifiestan el mayor estrés ocasionado por un desbalance energético y la depresión del sistema inmunológico. El hecho de que la frecuencia sea mayor en las vacas Jersey, pudiera estar asociada a la mayor intensidad de selección para la producción de leche en este genotipo respecto al ganado Siboney de Cuba, lo cual influye negativamente en su propensión a la mastitis.

Según los resultados, la incidencia del proceso inflamatorio de las glándulas mamarias es más baja que la informada por Armenteros *et al.* (2001), quienes hallaron una frecuencia de la enfermedad del 76.5 % en 56 rebaños de vacas mestizas Holstein x Cebú en similares condiciones de producción. Pero, los hallazgos se encuentran dentro del rango de los datos informados por Ruiz *et al.* (2011) en la región de Pernambuco (Brasil), aunque es más elevada que los resultados expuestos en Canadá por Riekerink, Barkema, Kelton y Scholl (2008) y en Estados Unidos de América por Hertl *et al.* (2010).

En esta investigación se presenta por primera vez la correlación que existe en el trópico húmedo entre hipocupremia, mastitis y el anestro posterior al parto. Estos hallazgos, por una parte, corroboran los informes referentes al efecto de la carencia de cobre en la reproducción de los bovinos (García *et al.* 2012) y, por otra, sustentan lo planteado por Ahmadzadeh *et al.* (2009), quienes enfatizan que las vacas afectadas por mastitis tienen menor posibilidad de concepción y por consiguiente se produce un incremento de los intervalos entre partos.

La mastitis, la respuesta inflamatoria y la activación del sistema inmunológico que la acompañan son causa de pérdidas embrionarias y cambios significativos en las funciones ováricas. Al respecto, Lavon *et al.* (2008) señalan que la infertilidad estaba relacionada con un bajo nivel del pico de la LH que induce un retraso en la maduración y ovulación del folículo preovulatorio. En ese sentido, Rahman *et al.* (2012) enfatizan que en las vacas con mastitis se produce una reducción significativa ( $p < 0.05$ ) en la expresión de la proteína GDF-9 dentro de los ovocitos preantrales y los folículos de diferentes tallas. Esta proteína estimula el reclutamiento, la proliferación y diferenciación de las células de la teca, especialmente durante el tránsito de folículo primario a folículo secundario. El hecho de que en las vacas con mastitis exista una carencia de esta proteína, explica la inhibición del movimiento del folículo primario a folículo y la presencia de anestro

en las vacas afectadas por esta enfermedad inflamatoria de las glándulas mamarias (Morris, *et al.*, 2013).

La suplementación de cobre, cuatro semanas antes del parto, tuvo un efecto positivo y significativo en los indicadores del comportamiento reproductivo y la severidad de la mastitis en el rebaño de referencia. Este efecto puede estar asociado, por una parte, al papel que tiene el cobre en el control de las funciones sexuales en la hembra bovina (Pedroso & Roller, 2009) y por la otra, a las funciones atribuidas en la diferenciación, maduración y activación de los distintos tipos de células que forman parte del sistema inmunológico, y la función como cofactor de la acción de varias enzimas que forman parte fundamental del sistema antioxidante del organismo (Scalletti & Harmon, 2012; Yang & Shan, 2015).

Estos resultados corroboran las observaciones de Pedroso, Roller y González (2014) y de García *et al.* (2012), quienes a través del suministro parenteral de cobre lograron en similares condiciones de manejo, mejorar los indicadores reproductivos. Por lo tanto, resulta apropiado efectuar la suplementación de cobre en vacas hipocuprémicas por vía parenteral antes y después del parto, como una estrategia para disminuir la prevalencia de esta deficiencia mineral, la prevalencia de mastitis posparto y el deterioro de los indicadores del comportamiento reproductivo, en hatos de vacas lecheras en condiciones de pastoreo y donde exista de forma endémica esta deficiencia mineral

## Conclusiones

Se encontró una elevada prevalencia de mastitis en los genotipos Jersey y Siboney de Cuba, en sistema de producción semi-intensivo con un alto porcentaje de trastornos reproductivos (anestro y repeticiones del celo). La suplementación de cobre en dosis de 50 mg por vía subcutánea redujo significativamente la tasa de anestro posparto, aumentó la fertilidad y disminuyó la severidad de la mastitis en las vacas hipocuprémicas tratadas con respecto

al grupo control. Se recomienda el tratamiento con sulfato de cobre de acción lenta, sulfato de cobre etilendinitrilotetracetato en dosis de 50 mg vía subcutánea en vacas hipocuprémicas por vía parenteral, cuatro semanas antes del parto, para mejorar el comportamiento reproductivo de vacas afectadas de mastitis y reducir la severidad de esta enfermedad en las condiciones del trópico húmedo.

## Referencias bibliográficas

- Ahmadzadeh, A., Frago, F., Shafii, B., Dalton, J.C., Price, W.J. & McGuire, M.A. (2009). Effect of clinical mastitis and other diseases on reproductive performance of Holstein cows. *Animal Reproduction Science*, 112 (3), 273-282.
- Arthington, J. (2015) *New concepts in Trace Mineral Supplementation of Grazing Cattle Hydroxy source injectable source and pasture application*. Florida Ruminant Nutrition Symposium. 26 Annual Meeting. Best Western Gateway Grand Gainseville Florida. .
- Armenteros, Mabelin, Peña, Janachy, Pulido, J.L. y Linares, Eliana (2001). Caracterización de la situación de la mastitis bovina en rebaños de lechería especializada en Cuba. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 9 (1), 1172-1176
- Asaf, S., Gabi, L., Ori, F., Lavon, Y., Dorit, K., Wolfenson, D., & Roth, Z. (2013). Effects of *Escherichia coli*- and *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in lactating cows on oocyte developmental competence. *Reproduction*. Recuperado de <http://www.reproduction-online.org/content/147/1/33>. full doi: 10.1530/REP-13-0383
- Fodor, I., & László, Ó. (2014). How to better use the resources available on dairy farms through herd health management. *Journal of Central European Green Innovation*, 2(1), 43-50.
- García, J.R., García, L., Cuesta, M., Figueredo, R.G., Faure, R., Pedroso, R., & Mollineda, F. (2012). Blood copper level and their influence on reproductive indicator of cows in tropical conditions. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 44 (3), 233-239,
- Hamadani, H., Khan, A.A., & Banday, M.T.; Ifat Ashraf, Nida Handoo, Asma Bashir, Hamadani, A. (2013). Bovine Mastitis - A Disease of Serious Concern for Dairy Farmers. *International Journal of Livestock Research*, 3(1), 52-55
- Hertl, J.A., Gröhn, Y.T., Leach, L.W., Bar, D., Bennet, G.J., González, R.N., Rauch, B.J., Welcome, F.L., Tauer, L.W., & Schukken, Y.H. (2010). Effects of clinical mastitis caused by gram-positive and gram-negative bacteria and other organisms on the probability of conception in New York State Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci*, 93 (4), 1551-1560.
- Holy, L. (1987). *Biología de la Reproducción Bovina*. Editorial Científico Técnica. La Habana. Cuba
- Jóźwik A; Krzyżewski J; Strzałkowska N; Poławska E; Bagnicka E; Wierzbicka A; Niemczuk K; Lipińska P; Horbańczuk J.O.(2012) Relations between the oxidative status, mastitis, milk quality and disorders of reproductive functions in dairy cows - a review. *Animal Science Papers and Reports*, 30 (4), 297-307.
- Lavon Y., Leitner G., Goshen T., Braw-Tal R., Jacoby, S., & Wolfenson, D. (2008). Exposure to endotoxin during estrus alters the timing of ovulation and hormonal concentrations in cows. *Theriogenology*, 70(6), 956-967.
- Meikel, Ana., Cavestany, D., Carriqui, M., Mendoza, A., Chilbroste, P. (2013). Avances en el conocimiento de la vaca lechera durante el período de transición. *Spermona*, 17(1), 150- 153.
- Morris, M. J., Kaneko, K., Uppal, S.K., Walker, S.L., Jones, D.N., Routly, J.E., Smith, R.F., & Dobson, H. (2013). Effects of high somatic cell counts in milk on reproductive hormones and oestrus behaviour in dairy cows with special reference to those with concurrent lameness. *Anim. Reprod. Sci*, 141(1-2), 20-25.
- Mulligan, F.J., Grady, L.O., Rice, D.A., & Doherty,

- M. L. (2006). A herd approach to dairy nutrition and production of transition cow. *Anim. Reprod. Sci.* 96 (3-4), 331- 353,
- Olechnowicz, J., & Jaskowski, M.J. (2013). A Connection between Mastitis During Early Lactation and Reproductive Performance of Dairy Cows – A Review. *Annals of Animal Science*, 13(3), 435-448.
- Pedroso, R., Roller, F., González, N. (2014). Efecto de la suplementación con cobre en la reproducción de la hembra bovina en pastoreo. *Revista La Técnica* 13(1),26-31
- Pedroso, R., & Roller, F. (2009). Eficiencia del cobre en la reproducción y eficacia de las nuevas biotecnologías reproductivas del ganado bovino en Cuba. Review. *Ciencia y Tecnología Ganadera*, 3(3), 101-109.
- Rahman, M.M., Mazzilli, M., Pennarossa, G., Brevini, T.A., Zeconi, A. & Gandolfi, F. (2012). Chronic mastitis is associated with altered ovarian follicle development in dairy cattle. *J. Dairy Sci*, 95 (4), 1885 –1893.
- Riekerink, O., Barkema, H.W., Kelton, D.F., & Scholl, D.T. (2008). Incidence rate of clinical mastitis on Canadian dairy farms *J. Dairy Sci.* 91(4), 1366–1377.
- Ruiz, A.K., Ponce, P., Gomes, G., Mota, R.A., Sampaio, E., Lucena, E.R., & Benone, S. (2011). Prevalencia de mastitis bovina subclínica y micro organismos asociados: comparación entre ordeño manual y mecánico en Pernambuco, Brasil. *Rev. Salud. Anim*, 33 (1),57-64.
- SAS (2001). System for Elementary Statistical Analysis, Second Edition. EUA.
- Scalletti, R.W., & Harmon, R.J. (2012). Effect of dietary copper source on response to coliform mastitis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95 (2), 654-662,
- Spears, J.W., Williams, P.A. & Weiss, W. P. (2008). Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *The Veterinary Journal*, 176(1),70–76.
- Thatcher, W. W., Santos, J.E., Silvestre, F.T., Kim, I.H., & Staples, C.R. (2010). Perspective on Physiological Endocrine and nutritional factors influencing fertility in post-partum dairy cows. *Reprod. Dom. Anim.* 45(3), 2-14.
- Yang, F.L., & Shan, L.X. (2015). Role of antioxidant vitamins and trace elements in mastitis in dairy cows. *J. Adv. Vet. Anim. Res*, 2 (1), 1-9.