



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



**EFFECTO DE LA SANIDAD MAMARIA SOBRE LA
FERTILIDAD A LA INSEMINACIÓN EN VACAS LECHERAS**

PABLO SILVA BOLOÑA

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Fomento de la
Producción Animal

PROFESOR GUÍA: MARIO DUCHENS ARANCIBIA

**Santiago, Chile
2013**



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



EFFECTO DE LA SANIDAD MAMARIA SOBRE LA FERTILIDAD A LA INSEMINACIÓN EN VACAS LECHERAS

PABLO SILVA BOLOÑA

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Fomento de la
Producción Animal

NOTA FINAL:

		NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA	: MARIO DUCHENS ARANCIBIA
PROFESOR CONSEJERO	: HERNÁN AGÜERO EGUILUZ
PROFESOR CONSEJERO	: BESSIE URQUIETA MANGIOLA

Santiago, Chile
2013

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
2.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
	2.1 Mastitis clínica y fertilidad.....	5
	2.2 Mastitis subclínica y fertilidad.....	8
3.	HIPÓTESIS.....	12
4.	OBJETIVOS.....	12
	4.1 Objetivo general.....	12
	4.2 Objetivos específicos.....	12
5.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	13
	5.1 Manejos generales.....	13
	5.2 Manejos reproductivos.....	13
	5.3 Manejo de la mastitis.....	14
	5.4 Recolección y procesamiento de la información.....	15
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	18
	6.1 Fertilidad.....	18
	6.2 Incidencia predial de mastitis clínica.....	20
	6.3 Inseminaciones asociadas a mastitis clínica.....	21
	6.4 Efecto de la mastitis clínica sobre la fertilidad a la inseminación.....	25
	6.4.1 Efecto de la mastitis clínica sobre la probabilidad de preñez.....	40
	6.5 Efecto de la mastitis subclínica sobre la fertilidad a la inseminación.....	48
	6.5.1 Efecto de la mastitis subclínica sobre la probabilidad de preñez.....	54
7.	IMPLICANCIAS.....	57
8.	CONCLUSIONES.....	60
9.	REFERENCIAS.....	61

RESUMEN

Las mastitis, en todas sus formas de presentación, es una enfermedad que genera numerosas pérdidas en la industria lechera. Estas pueden deberse a la menor cantidad de leche producida por parte de la vaca, la alteración en la calidad de ésta y los costos de tratamientos, eliminación y reemplazo de animales.

La fertilidad en lecherías de alta producción es un aspecto muy importante de los manejos que se deben realizar en los predios. Esto se debe principalmente a que luego de paridas, es importante preñar a las vacas lo antes posible (siempre considerando un tiempo de espera voluntario) para que de esta manera se aproveche de manera más eficiente la curva de la lactancia de las vacas. Dicho de otra manera, es importante tener preñadas a las vacas para que su lactancia no se alargue demasiado y de esta manera no tener animales con bajas producciones producto de lactancias muy largas.

Algunos autores han propuesto que la mastitis podría tener un efecto en la fertilidad de las vacas lecheras de alta producción. Esto sería válido para el cuadro clínico y subclínico de la enfermedad. Por lo tanto el presente estudio tuvo como propósito determinar el efecto de alteraciones en la sanidad mamaria (mastitis clínica o subclínica) en la fertilidad a la inseminación de vacas lecheras de alta producción.

Para este estudio se utilizaron los registros de más de 5000 inseminaciones provenientes de 2 predios lecheros ubicados en la región de Valparaíso. Para el caso de las mastitis clínicas se consideraron inseminaciones que estuvieran asociadas a un caso de mastitis entre 10 días previos a ésta y entre la IA y el diagnóstico de gestación. Se dividieron los datos de acuerdo al periodo en que se presentó el caso en relación a la IA en antes de la IA, durante la IA y después de la IA. También se analizó el efecto de la severidad del cuadro sobre la fertilidad a la IA.

Para analizar el efecto de la mastitis subclínica sobre la fertilidad se utilizó el puntaje lineal de células somáticas como indicador de mastitis subclínica ($\geq 4,5$) y se registró este puntaje en el control más cercano a la IA considerando que para ambos predios se realizaban muestreos periódicamente (cada 30 días aproximadamente).

Para analizar los datos se compararon las tasas de concepción de animales que presentaron la enfermedad (el cuadro clínico y subclínico por separado) con animales sanos mediante el método de chi cuadrado. Además se realizaron análisis de regresión logística para determinar si existía un efecto de la enfermedad en la probabilidad de preñez comparado con animales sanos.

Para el caso de la mastitis clínica los resultados mostraron que cuando se consideraba a las inseminaciones asociadas a mastitis en un período 10 días antes de la IA hasta el diagnóstico de gestación no se presentaron diferencias significativas en la tasa de concepción (TC) de animales sanos comparado con animales enfermos (TC= 35,4% vs 32,8% respectivamente; $p=0,13$). Para determinar de mejor manera el efecto que podría tener la mastitis se decidió restringir el periodo en que se consideraban inseminaciones asociadas a mastitis entre los 5 días previos a la IA y los 20 días posteriores a ésta. Esta vez los resultados mostraron que existía un efecto marcado de la enfermedad en la tasa de concepción (35,6% en animales sanos vs 29,7% para vacas enfermas; $p=0,002$) y en la probabilidad de preñez (OR: 0,76; IC 95%= 0,64 - 0,91; $p=0,002$).

Otros parámetros estudiados, una vez restringido los periodos seleccionables para considerar una inseminación asociada a mastitis clínica, fueron el efecto del momento de presentación del cuadro y la severidad de éste. Para el efecto del momento de presentación de la enfermedad sobre la fertilidad se pudo apreciar que animales enfermos tenían menores tasas de concepción cuando la enfermedad se presentaba durante la IA y después de ésta (Durante: TC=25,7%, $p= 0,006$; Después: TC=30,7%, $p= 0,05$ comparado con TC=35,6% de animales sanos). Para la severidad de la mastitis se vio que las mastitis grado 2 y 3 presentaban menores tasas de concepción comparado con la ausencia de mastitis (Grado 2: TC=29%, $p=0,006$; Grado 3: TC=29,7%, $p=0,05$).

Los resultados para el análisis de la mastitis subclínica no arrojaron diferencias significativas en la tasa de concepción vacas con mastitis subclínica comparado con animales sanos (TC= 35,8 vs. 35,4 respectivamente; $p=0,61$). El análisis de regresión logística tampoco mostró diferencias significativas en la probabilidad de preñez de

animales sanos comparado con animales enfermos (OR: 0,94; IC 95% = 0,76 - 1,18; p=0,6).

Existiría un efecto negativo de la mastitis clínica en la tasa de concepción de vacas lecheras, en un periodo cercano a la IA. También se aprecia un efecto negativo dependiendo del momento de presentación de la enfermedad en la tasa de concepción. La severidad del cuadro también afectó negativamente la fertilidad a la inseminación. Para el caso de la mastitis subclínica no existiría un efecto negativo de esta en la tasa de concepción de vacas lecheras.

ABSTRACT

Mastitis is a disease that can lead to great economic loss in the dairy industry. These losses can be due to reduced milk yield, alterations in milk quality and costs from treatment of clinical cases, culling and replacement of the cows.

Fertility is also a very important aspect in high producing dairy farms. This is mainly because, after calving, cows must become pregnant as soon as possible (always considering a voluntary waiting period) so that this way there's efficient seizing of the lactating curve. Or, to say it differently, it's important to get the cow pregnant so that lactation doesn't last too long because this means more cows with low milk yields.

Some researchers have proposed that mastitis could have a negative effect on fertility of high producing dairy cows. This would be valid to both clinical and subclinical forms of presentation of the disease. The objective of the present study was to determine the effect of alterations in mammary health (clinical or subclinical mastitis) and fertility of high producing dairy cows.

For the present study over 5000 registers of artificial inseminations (AI) from 2 dairy farms located in the Valparaíso region were used. For the study of clinical mastitis inseminations associated with a case of mastitis from 10 days prior to the AI to the pregnancy diagnosis were used. There was also a division according to the moment of presentation of the case

in before AI, during AI and after AI. There was also an analysis of the effect of the severity of the case on fertility to AI.

For the analysis of the effect of subclinical mastitis on fertility, the linear somatic cell score was used as an indicator of subclinical mastitis ($\geq 4,5$). Registers of the linear score from the nearest AI control were used, considering that for both farms these scores were measured periodically (approximately every 30 days).

For the analysis, conception rates were compared between cows with mastitis (clinical and subclinical cases studied separately) and healthy cows using the chi square test. Logistic regression analysis was also used to determine if there was an effect of the disease in the probability of conception compared with healthy cows.

The results for the clinical mastitis analysis showed that for inseminations associated with mastitis between 10 days prior to AI to pregnancy diagnosis were considered there was no significant differences in conception rates (CR) between healthy cows compared with cows that had the disease (CR= 35,4% vs. 32,8% respectively; $p=0,13$). To better determine the effect that mastitis could have on fertility, it was decided to restrict the period in which AI was considered associated with mastitis to 5 days prior to AI to 20 days after AI. The results showed that this time there was a pronounced effect of the disease in conception rate (CR= 35,6% in healthy cows vs. 29,7% for sick cows; $p=0,002$) and in the risk of becoming pregnant (OR: 0,76; CI 95%= 0,64 - 0,91; $p=0,002$).

Other parameters studied, once the period for considering AI associated with clinical mastitis was restricted, where the effect of the moment of presentation of the case and its severity. The results for the effect of the moment of presentation of the disease on fertility showed that cows had lower conception rates when the disease presented during the AI and after it (CR during AI= 25,7%, $p= 0,006$; CR after AI= 30,7%, $p= 0,05$ compared with CR=35,6% for healthy cows).

The results for the subclinical mastitis analysis didn't show any significant differences in conception rates of cows with subclinical mastitis compared with healthy cows (35,8 vs. 35,4 respectively; $p=0,61$). Logistic regression analysis also didn't show any significant

differences in the risk of becoming pregnant between healthy cows compared with cows with subclinical mastitis (OR: 0,94; CI 95% = 0,76 - 1,18; p=0,6).

There's a negative effect of clinical mastitis around AI in conception rates of dairy cows. Also, there's a negative effect of the moment of presentation of the disease in conception rates. Severity of the case negatively affected fertility to AI.

Subclinical mastitis wouldn't have a negative effect on conception rates of dairy cows.

1. INTRODUCCIÓN

En el contexto actual de la producción láctea, existen numerosos factores que tanto productores como veterinarios asesores deben considerar para lograr la mayor eficiencia productiva de las vacas lecheras que se encuentran sometidas a una exigencia muy alta.

Asociado al stress productivo al que están sometidos las vacas de alto rendimiento, se describen una serie de factores que afectan su “performance” en cuanto a producción láctea. Muchos de estos factores dicen relación con enfermedades que pueden, directa o indirectamente, afectar su producción y por lo tanto el retorno económico de la explotación lechera.

La mastitis es una de las enfermedades más importantes del ganado lechero ya que afecta de manera considerable la producción de leche y la calidad de ésta, afectándose el retorno económico. Además, se generan costos debido a penalizaciones, tratamientos y eliminación o muerte de animales afectados. Existen numerosos estudios en relación al efecto directo que tiene la mastitis sobre la cantidad de leche producida y sobre sus pérdidas económicas asociadas. Es tanto su efecto que se estima que la mastitis es la enfermedad que mayores costos genera en los rebaños lecheros en Estados Unidos de Norteamérica (Shrick et al., 2001) y probablemente, en todo el mundo. Una de las principales fuentes de pérdida es la merma en la producción de leche, seguido por los costos de reposición de animales descartados. Esto sumado, según lo reportado por la *National Mastitis Council* (1996), puede explicar hasta un 80% de las pérdidas asociadas a mastitis que en promedio alcanzan unos USD 180 por cada caso de mastitis. Es esta una enfermedad que debe ser prevenida dentro de lo posible para mejorar el rendimiento productivo de los animales, por lo que existen pautas estratégicas para el control de la mastitis, las que consideran, entre otros, establecer metas de salud mamaria y usar procedimientos de ordeña correctos.

Pero el efecto de la mastitis no queda circunscrito exclusivamente al ámbito productivo. Investigaciones realizadas por Moore et al. (1991), Barker et al. (1998) y Shrick et al. (2001) evidencian que la afección de la glándula mamaria incide además sobre el rendimiento reproductivo de los animales, disminuyendo la tasa de concepción,

postergando el inicio de la preñez e incluso que las preñeces que se logran se vean interrumpidas tempranamente.

El rendimiento reproductivo de los animales es fundamental para poder obtener una mayor y más eficiente producción láctea. Luego de un periodo de espera voluntario (generalmente de 50 días post parto) la meta es que las vacas se preñen pronto para que así el lapso interparto sea el menor posible. De esta manera se aprovecha más eficientemente la curva de lactancia y se obtiene la mayor relación entre producción/ retorno económico.

A nivel nacional existen pocos estudios que han relacionado el efecto tanto de la mastitis clínica como subclínica sobre la reproducción (Pinedo et al., 2009; Meléndez y Pinedo, 2010). Por lo anterior, es importante generar información que se pueda aplicar al ámbito productivo local con miras a optimizar y mejorar la eficiencia reproductiva de los rebaños con todas las consecuencias positivas que ello conlleva.

En esta revisión se analizan de manera general, las características de la mastitis, la reproducción y las relaciones entre mayor producción láctea y la alteración de ésta, además de esclarecer cómo es que mayores producciones predisponen a mayores incidencias de afecciones de la glándula mamaria y finalmente cómo éstas repercuten en la reproducción.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La mastitis corresponde a cualquier proceso inflamatorio que se produzca en uno o más cuartos de la glándula mamaria y que mayoritariamente es producido por microorganismos infecciosos (IDF, 1999).

Esta enfermedad puede ser clasificada de diferentes maneras. Una de ellas se realiza de acuerdo a su forma de presentación diferenciándola en un cuadro clínico, en el cual se aprecian signos en la leche y/o en el cuarto o cuartos afectados y otro subclínico, el cual es detectable exclusivamente mediante el recuento de células somáticas en leche (que corresponden principalmente a leucocitos que se encuentran aumentados principalmente por presencia de agentes infecciosos). Además la mastitis puede comportarse como un cuadro agudo o como un cuadro crónico (IDF, 1999).

La mastitis clínica, a su vez, también puede ser clasificada según la severidad del cuadro (IDF, 1999). Esta clasificación separa los casos de mastitis en: leve (grado 1), moderada (grado 2) y severa (grado 3). En los casos leves de mastitis clínica se aprecian únicamente alteraciones en la leche. Los casos moderados presentan alteraciones en la leche y en el cuarto mamario, afectado tales como tumoración, alteración de la temperatura normal e induración del tejido mamario. Las mastitis severas son aquellas en que se aprecian alteraciones en la leche, en el cuarto mamario afectado, y además, se observan signos clínicos sistémicos como fiebre, depresión, decúbito e incluso muerte.

La reproducción constituye otro aspecto fundamental del ámbito productivo. Buenos manejos y rendimientos reproductivos se traducen en un aprovechamiento más eficiente del ciclo productivo de la vaca y si no es bien manejada puede ser potencial de pérdidas en producción anual de leche y pérdidas económicas (Olds et al., 1979; Call y Stevenson, 1985). Se reporta que las tasas de concepción de las vacas en lactancia han ido disminuyendo considerablemente desde los años '50 en Estados Unidos (Butler y Smith, 1989) y probablemente en todo el mundo. A su vez, la producción láctea ha ido en aumento desde esa misma época, incluso triplicando las producciones (Lucy, 2001).

Este efecto antagónico entre mayor producción láctea y reproducción también se puede apreciar en los estudios de Oltenacu et al. (1996), Buckley et al. (2003), y Eiker et al.

(1996) quienes argumentan que mientras mayor sea el balance energético negativo (propio de vacas con altas producciones de leche) menor es la fertilidad.

La relación entre altas producciones de leche y disminución de la fertilidad ha sido ampliamente estudiada, como en el trabajo de Buckley et al. (2003) donde se indica que animales que alcanzan el peak de lactancia antes, logran mejores tasas de preñez a la primera inseminación, debido a que logran recuperar condición corporal antes. Por lo tanto, la condición corporal de las vacas al parto es fundamental para obtener buenos resultados reproductivos posteriores.

Existen algunos autores que concluyen de sus estudios que no existe relación entre los niveles de producción y la fertilidad, como Gröhn et al. (1995). Sin embargo, en este mismo estudio se demostró que existe relación entre la presencia de cetosis y retención de membranas fetales, la que a su vez genera un mayor riesgo de contraer metritis. Como uno de los factores de riesgo de la cetosis son altos niveles productivos y el balance energético negativo, se podría asociar indirectamente los niveles de producción con alteraciones del tracto reproductivo.

Además de los problemas reproductivos en vacas lecheras de alta producción, también existen otras alteraciones asociadas. Así, se describe que las altas producciones son un factor de riesgo para la presencia de mastitis. Se ha visto que existe una correlación positiva entre la mayor producción y goteo de leche post ordeña y, a su vez, una relación entre éste y el riesgo de presentar mastitis (Gröhn et al., 1995). Este mismo autor señala que también se han encontrado correlaciones genéticas entre alta producción y el riesgo de mastitis.

A su vez, diversos autores han evidenciado que existe una relación negativa entre la presencia de mastitis y la actividad reproductiva, tanto directa como indirectamente.

Una relación indirecta entre mastitis y fertilidad se evidencia en el estudio de Gröhn et al. (1995) donde se señala que altas producciones pueden asociarse a un mayor riesgo de presentar mastitis y, a su vez, se asocia la presencia de mastitis a un aumento de casi el doble en la probabilidad de presentar quistes ováricos, los que se asocian con un retardo de 6 a 11 días al primer servicio y también con un incremento en 20 a 30 días para lograr la preñez (Fourichon et al., 2000).

Existiría además una relación directa entre la presencia de mastitis y alteraciones en la fertilidad (Barker et al. 1998; Shrick et al. 2001). A continuación se revisará esta

asociación, descrita en la literatura, que existe entre el evento, tanto de mastitis clínica como subclínica, con la fertilidad de las vacas en producción de leche.

2.1 Mastitis clínica y fertilidad

Desde principios de la década de los '90 se empieza a comentar que existiría una relación entre la mastitis clínica y la alteración de ciertos parámetros reproductivos (Moore et al., 1993) y se empiezan a formular hipótesis sobre por qué estos factores se ven afectados con la ocurrencia de esta enfermedad.

Al respecto, Barker et al. (1998) observaron que el periodo entre el parto y la primera inseminación artificial es alrededor de 20 días prolongado en vacas que presentaron mastitis clínica en la lactancia temprana, comparado con animales sanos.

Lo anterior se explicaría por diversos mecanismos. Uno de ellos indica que existirían alteraciones en el desarrollo folicular, anovulación (dado por un bloqueo de la secreción de LH) y disminución de la síntesis de estrógenos y, por tanto, menor evidencia conductual del celo (Barker et al., 1998). Según Barker et al. (1998), estos resultados podrían deberse a una luteólisis prematura con la posterior caída en los niveles de progesterona y la consecuente pérdida embrionaria. Esta luteólisis sería consecuencia de la respuesta inflamatoria que se produce en la glándula mamaria cuando se expone a organismos patógenos y también de las endotoxinas que producen ciertos microorganismos y que son capaces de ser absorbidas hacia la circulación. Lo anterior se apoya en los resultados de otros estudios que indican que el cuarto afectado por una mastitis clínica produce una mayor cantidad de prostaglandina F_{2a} (PGF_{2a}) que puede inducir la luteólisis (Soto et al., 2003). También se ha demostrado que concentraciones sub luteolíticas de PGF_{2a} podrían comprometer el desarrollo embrionario temprano (Schrick et al., 1993). En el estudio realizado por Barker et al. (1998) también se evidenció que el número de servicios por concepción fue significativamente mayor en vacas que presentaron mastitis clínica posterior a la primera inseminación artificial, que en vacas que presentaban esta condición antes de la inseminación. Lo anterior indica que no sólo existe una relación entre esta condición patológica y la fertilidad, sino que también existiría un factor importante en relación al momento de ocurrencia de este evento.

Se ha demostrado que en las mastitis provocadas por bacterias Gram (-) se libera una endotoxina, que es un lipopolisacárido de membrana, cuando ocurre la lisis de la bacteria (Moore et al., 1993). A su vez se sugiere que la endotoxina de este tipo de bacterias puede inducir la luteólisis y, por tanto, una muerte embrionaria temprana (Barker et al., 1998). Esto se produciría particularmente por la síntesis de mediadores inflamatorios como la $\text{PGF}_{2\alpha}$, glucocorticoides, ACTH, interleukina-1 (Barker et al., 1998) y la disminución en la liberación de GnRH. Al respecto, Battaglia et al. (1996) detectaron una disminución de los pulsos de GnRH en animales que habían sido inyectados con endotoxinas. Este fenómeno ocasionaría un menor desarrollo folicular y, por lo tanto, una menor producción de estrógeno causando anovulación (Barker et al., 1998).

Como se mencionó anteriormente, al existir una mastitis por agentes que poseen endotoxinas se produciría un aumento de los glucocorticoides y de interleukina-1, esta última es producida en la glándula mamaria, pero podría ser absorbida hacia el sistema circulatorio. Se sugiere que la interleukina-1, en elevadas concentraciones, podría reducir las concentraciones de receptores de LH, aumentar las concentraciones de ACTH y aumentar la esteroidogénesis en la glándula adrenal (Moore et al., 1993). Lo anterior llevaría a un aumento en las concentraciones de cortisol que, en combinación con concentraciones reducidas de receptores para LH produce un bloqueo del *peak* de LH, además de inhibir los signos clínicos del estro (Barker et al., 1998).

Moore et al. (1991) observaron un intervalo interestro alterado en vacas con mastitis en rebaños cuya causa principal eran agentes Gram (-) en comparación con las vacas que no presentaban la enfermedad. A su vez, en este estudio no se apreciaron diferencias en el intervalo interestro entre vacas con mastitis clínica y vacas sanas en un rebaño cuyas mastitis eran ocasionadas principalmente por agentes Gram (+). Lo anterior indicaría un mayor efecto de la mastitis producida por agentes productores de endotoxinas.

Sin embargo, otros autores no han observado diferencias en el efecto de la mastitis sobre la fertilidad en los cuadros producidos por agentes Gram (-) comparados con los producidos por Gram (+) (Barker et al., 1998).

Otro mecanismo que influiría en una alteración de los parámetros reproductivos sería la piresis o fiebre ocasionada por endotoxinas, peptoglicanos (contenidos en la pared celular

de agentes Gram (+) o por septicemia lo cual resulta en un ambiente poco óptimo para lograr una anidación efectiva (Barker et al., 1998).

Los estudios revisados, se enfocaban en determinar la relación entre la mastitis clínica y la fertilidad en la primera inseminación post parto, sin embargo, otros estudios (Kelton et al. 2001; Hertl et al. 2010) llevaron a cabo investigaciones donde se analizaba la asociación entre mastitis clínica y preñez en cualquier inseminación.

En el estudio de Kelton et al. (2001) se quiso estimar si la mastitis clínica dentro de los primeros 30 días post inseminación afectaban la tasa de concepción. Para esto se tomó un promedio de la tasa de concepción en un rebaño dado (que fue de 45%). Del rebaño que estaba para ser inseminado se constató que un 10% presentaba mastitis clínica. Estos animales se analizaron para ver si las inseminaciones resultaban en una preñez. En los animales sin mastitis clínica posterior a la inseminación, la tasa de concepción fue 46%, mientras que en los animales que presentaron mastitis clínica en el periodo indicado, la tasa de concepción fue de 38%. La mayor diferencia se presentó cuando el evento se produjo posterior al primer servicio. Se concluyó que vacas sin mastitis clínica tenían 1,4 más posibilidades de preñarse que las que presentaban el cuadro (Kelton et al., 2001).

Una investigación realizada por Hertl et al. (2010) analizó el efecto de la mastitis clínica sobre la probabilidad de concepción en vacas Holstein de alta producción. Este estudio también utilizó animales sin importar su número de inseminación. Se observó un efecto negativo de la mastitis clínica sobre la fertilidad desde los 14 días previos hasta los 35 días posteriores a la IA. Cuando la mastitis se produjo 1 a 7 días previos a la IA la probabilidad de concepción fue un 50% menor comparado con vacas sin mastitis. También se pudo ver un mayor efecto negativo de la mastitis sobre la probabilidad de concepción cuando ésta era ocasionada por agentes Gram (-) comparado con Gram (+) aún cuando éstas mastitis también arrojaron efectos negativos que fueron significativos. Hasta un 80% de reducción en la probabilidad de concepción se observó cuando las mastitis ocurrían 0 a 7 días posterior a la IA y eran causadas por agentes Gram (-) siendo el efecto detrimental el mayor detectado.

2.2 Mastitis subclínica y fertilidad

Con respecto a la mastitis subclínica, existe mayor controversia sobre cómo puede afectar a la reproducción. Si bien corresponde a un evento de infección intramamaria, existen ciertas dificultades prácticas para esclarecer sus relaciones con la fertilidad. Uno de ellos es que la mayoría de las veces que se estudia se utiliza el conteo de células somáticas (CCS) presentes en la leche, que tiene relación con el grado de infección intramamaria, pero que presenta algunos problemas debido a que existe un porcentaje de animales que tienen conteos superiores a 200.000 cel/mL (límite que generalmente se establece para considerar a una vaca como que presenta mastitis subclínica) que no presentan infección intramamaria (Erskine, 2001). Otro problema para relacionar el CCS con la fertilidad es que éste puede aumentar muy rápido y de manera fugaz, por lo que es muy difícil correlacionar esto con un evento en particular. Es importante destacar que en algunos estudios (Miller et al. 2001; Pinedo et al. 2009) se realiza una transformación logarítmica del conteo de células somáticas para convertirlo en un puntaje lineal (Puntaje lineal de células somáticas).

No obstante lo comentado, existen estudios que intentan esclarecer la relación entre mastitis subclínica y fertilidad. Un ejemplo es el trabajo realizado por Schrick et al. (2001) en vacas Jersey, sobre la influencia de la mastitis subclínica y clínica en la lactancia temprana sobre la fertilidad, donde se muestra que existe una relación similar entre ambos tipos de mastitis y su efecto negativo en la reproducción.

Rekik et al. (2008) observaron que un aumento en el puntaje lineal de células somáticas (SCS del inglés “Somatic Cell Score”) prolongaba el intervalo parto primer servicio (1,3 días por cada unidad de aumento en el SCS) comparado con vacas sin SCS altos y también aumentaba en 2 días por cada unidad de aumento en el SCS el intervalo parto-preñez. Las explicaciones otorgadas se relacionan con lo explicado por Barker et al. (1998) para la mastitis clínica, donde un aumento del SCS podría afectar negativamente la frecuencia de pulsos de LH y retrasar la ovulación, además de favorecer la producción de prostaglandina $F_{2\alpha}$ con los efectos que se explicaron para la mastitis clínica.

En un estudio realizado en Chile por Meléndez y Pinedo (2010), en el que se realizó un análisis de datos históricos obtenidos de estanque de leche, se observó que no existía influencia significativa del conteo de células somáticas con algunos parámetros reproductivos como el lapso interparto, lapso parto primer servicio, ni servicios por

concepción. Lo anterior contrasta con los resultados del estudio de Schrick et al. (2001), que estableció un efecto significativamente negativo sobre los mismos parámetros reproductivos, viéndose aumentados los lapsos antes mencionados y el número de servicios por concepción de manera similar a lo que ocurría con las mastitis clínicas en el estudio desarrollado por Barker et al. (1998).

La aparente diferencia con lo observado por Meléndez y Pinedo (2010) podría deberse principalmente al diseño del estudio donde, a diferencia del estudio de Schrick et al. (2001), se tomaron datos prediales y no individuales para los análisis respectivos y, por lo mismo, estos no son tan sensibles pues algunas variables podrían quedar enmascaradas. Sin embargo, Meléndez y Pinedo (2010) argumentan que tomando una cantidad de datos tan alta y en un periodo tan prolongado de tiempo esta baja en la sensibilidad debiese haber sido opacada.

Se reporta además en este estudio, una disminución sostenida a lo largo de los años en los conteos de células somáticas, que puede ser explicada por diversas razones tales como los bonos y penalizaciones que ha implementado la industria lechera en Chile, los diversos manejos que se han implementado en la rutina de ordeño como el despunte, “dipping”, secado de pezones (Meléndez y Pinedo, 2010) y un efecto de dilución reportado por algunos autores (Emanuelson y Funke, 1991; Van Schaik et al., 2002) debido a que la producción de leche ha ido aumentando sostenidamente, lo que enmascararía de cierta manera los recuentos de células somáticas.

Sin embargo, en un estudio previo con datos obtenidos de la zona centro-sur de Chile, Pinedo et al. (2009) evidenciaron un efecto de la mastitis subclínica, expresada como puntaje lineal de células somáticas (SCS) $> 4,0$ (equivalente a un conteo de células somáticas superior a 200.000 cel/mL), sobre algunos parámetros reproductivos. Se observó que con un SCS alto ($\geq 4,5$) existió un efecto negativo en el intervalo parto-primer servicio (86,1 vs 107,9 días para el grupo control y el grupo con SCS alto, respectivamente). A su vez, el intervalo parto-preñez también aumentó con un puntaje alto (120,6 vs 169,3 días) al igual que los servicios por concepción, en que animales con puntajes altos requirieron 0,49 servicios más que animales con bajo puntaje.

Esto demuestra el efecto de la mastitis subclínica sobre algunos parámetros reproductivos pero, además, indica que el puntaje lineal de células somáticas es un mejor indicador del

estado de infección intramamaria que el CCS y que permite más fácilmente relacionar el evento de mastitis subclínica con fertilidad.

La importancia práctica de conocer el efecto de la mastitis en los parámetros reproductivos radica en poder establecer estrategias de manejo preventivas como podría ser retrasar la fecha de la inseminación (aumentar el tiempo de espera voluntario) hasta que los signos clínicos o el SCS hayan disminuido. Considerando esto, Miller et al. (2001) consideraron datos de 284.450 lactancias de vacas Holstein y Jersey y determinaron la relación entre algunos parámetros de fertilidad (tasa de no retorno al celo a los 70 días post inseminación, días abiertos y días al primer servicio) y el SCS. Todo esto se vería condicionado a que la asociación del SCS y la tasa de concepción sea lo suficientemente significativo como para justificar un retraso en la primera inseminación. Otra razón por la cual no se midió el SCS posterior a la inseminación es que una vaca que tenga una repetición de celo, lo más probable es que se vuelva a inseminar independientemente del puntaje, a menos que haya sido designada para la eliminación (Miller et al., 2001). En el estudio hubo una relación negativa de los altos SCS sobre la tasa de no retorno al celo en vacas Holstein mientras que en vacas Jersey este efecto no fue significativo. Una posible explicación sería que el periodo post inseminación de desarrollo embrionario temprano sería más susceptible que previo a la inseminación como lo analizó Barker et al. (1998).

Adicionalmente, Miller et al. (2001) reportaron que la relación entre el SCS y los días al primer servicio fue significativa tanto para Holstein como para Jersey, apreciando que en valores altos pero no excesivos de SCS los días al primer servicio disminuyeron, mientras que al incrementarse más los valores de SCS, los días al primer servicio aumentaron. Finalmente, la relación entre días abiertos y SCS no fue significativa en una regresión cuadrática en vacas Holstein pero sí lo fue en una relación lineal que arrojó que por cada unidad de aumento en el puntaje lineal de células somáticas los días abiertos aumentaron en 0,5 días (Miller et al., 2001).

De la literatura consultada, se aprecia que existen muchas relaciones y riesgos para todo tipo de condiciones y todo tipo de enfermedades en el ganado lechero. Muchas veces es difícil establecer si existe una relación causa-efecto entre éstas o si simplemente son asociaciones estadísticas. Lo cierto es que todos los factores parecen estar conectados y presentes a la hora de analizar uno en particular.

Además es importante destacar que pareciera existir una relación entre el momento en que se produce un evento de alteración de la sanidad mamaria y su efecto en la fertilidad, es por esto que se hace necesario no sólo poner en manifiesto el evento en sí sino también en qué momento se produce.

3. HIPÓTESIS

La presencia de inflamación, clínica o subclínica, en la glándula mamaria afecta negativamente el éxito de la inseminación artificial.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Determinar el efecto de las alteraciones en la sanidad mamaria en el desempeño reproductivo de vacas lecheras.

4.2 Objetivos específicos

Relacionar un evento de inseminación con la presencia de mastitis clínica y su efecto en el éxito de esa inseminación.

Evidenciar el efecto del momento de aparición de la mastitis clínica, previo o posterior a la inseminación, con el resultado de ésta.

Determinar el efecto de la severidad de los casos de mastitis clínica y la frecuencia de presentación sobre la fertilidad a la inseminación.

Asociar un evento de inseminación con el puntaje de células somáticas más cercano a ésta y su efecto en el éxito de la inseminación.

Determinar el efecto del momento de presentación de un puntaje elevado de células somáticas en relación a la inseminación sobre la fertilidad de las vacas.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

Se obtuvo información de dos lecherías ubicadas en la Región de Valparaíso en la zona central de Chile.

5.1 Manejos generales

Corresponden a lecherías de confinamiento permanente y 3 ordeñas diarias. El primer plantel cuenta con alrededor de 800 vacas en ordeña y un nivel productivo de 12.300 litros promedio por lactancia. Posee un sistema de confinamiento de cubículos individuales techados con cama de arena. Los niveles de células somáticas alcanzan las 300.000 cel/mL promedio y la incidencia mensual de mastitis clínica es de 6%.

El segundo plantel cuenta con alrededor de 700 vacas en ordeña y un nivel productivo de 11.500 litros por lactancia aproximadamente. Los animales son manejados en corrales de tierra. El promedio de células somáticas del predio es de 400.000 cel./mL y la incidencia mensual de mastitis clínica alcanza el 8%.

Los animales son alimentados de acuerdo a su condición productiva (pre parto, post parto temprano, etc.) y considerando los estándares fijados por el *National Research Council* (NRC, 2001). Los insumos son entregados mediante carro mezclador y corresponden principalmente a ensilado de maíz, soiling o heno de alfalfa, concentrados y aditivos.

5.2 Manejos reproductivos

Las vacas son encastadas luego de un periodo de espera voluntario de 50 días post parto mediante inseminación artificial posterior a la detección de celo (8-12 horas después según la regla AM/PM) o protocolo de inseminación a tiempo fijo. Las vaquillas son encastadas a partir de los 14 meses y con un peso mínimo de 370 Kg.

El diagnóstico de preñez se realiza mediante ultrasonografía 30 a 36 días posterior a la inseminación. Existe un segundo examen confirmatorio de preñez realizado entre los días 60-66 post inseminación mediante palpación rectal. Un último examen de gestación se realiza alrededor de los 150 días de gestación.

Se realizan exámenes a los animales en el post parto temprano donde se registra temperatura corporal, evaluación de la actitud, retención de membranas fetales o alguna secreción anormal, examen de la glándula mamaria, monitoreo de leche y examen digestivo que incluye la prueba para la pesquisa de desplazamiento de abomaso. Se realiza un examen de secreciones vaginales para detectar alteraciones en el tracto reproductivo dentro de los 28-35 días post parto.

5.3 Manejo de la mastitis

La rutina de ordeña consta de la aplicación de “predipping”, secado de pezones, colocación de la unidad de ordeño, retirado automático y aplicación de “dipping”.

Para la detección de mastitis clínica se realiza una inspección visual de la leche en un recipiente de fondo oscuro, mientras se realiza la preparación para la ordeña. Los animales que presentan alteraciones en la secreción láctea se apartan de la ordeña y se les realiza un examen clínico donde se establece si existe, además de alteración en la leche, afección de la glándula mamaria y compromiso general del animal con el propósito de clasificar la mastitis según severidad según lo estipulado por la *International Dairy Federation* (IDF, 1999). Esta clasificación separa los casos de mastitis en: leve (grado 1), moderada (grado 2) y severa (grado 3). En los casos leves de mastitis clínica se aprecian únicamente alteraciones en la leche. Los casos moderados presentan alteraciones en la leche y en el cuarto mamario afectado tales como tumoración, alteración de la temperatura normal e induración del tejido mamario. Las mastitis severas son aquellas en que se aprecian alteraciones en la leche, en el cuarto mamario afectado y además se observan signos clínicos sistémicos como fiebre, depresión, decúbito e incluso muerte. Se anotan los datos de las vacas afectadas, registrando el grado de la mastitis, el cuarto afectado, el tratamiento y la fecha de inicio y de alta de la mastitis. Se toma una muestra de leche para análisis bacteriológico en aproximadamente 50% de los casos de mastitis.

Al final de la lactancia se les realiza una terapia de secado a todas las vacas y se les aplica un sellador interno de pezones (Orbeseal®, Pfizer Inc). Las vacas se vacunan con una bacteria de *Escherichia coli* de la cepa mutante J5 (Enviracor®; Pfizer Inc) según lo recomendado por

el fabricante, en tres dosis; la primera al inicio del periodo de secado (aproximadamente 60 días antes del parto), la segunda 21 días antes del parto y la última 7 días después del parto.

5.4 Recolección y procesamiento de la información

Se recolectó información de las inseminaciones realizadas en un periodo de 12 meses comprendido entre julio de 2010 y junio de 2011.

Para cada inseminación se registró la identificación del animal, la fecha de parto, fecha de la inseminación, días del parto a la inseminación (o días en leche), número de la lactancia, fecha de la mastitis clínica (si hubo), fecha de alta de la mastitis clínica, puntaje lineal individual de células somáticas en el control previo y el posterior a la inseminación, producción de leche en el día de la inseminación y resultado de la inseminación. Para facilitar el análisis, las variables continuas producción de leche y días en leche a la inseminación fueron categorizadas formándose en cada caso 5 niveles o quintiles, cada uno con un número similar de observaciones.

Se registró la presencia de mastitis clínica dentro de los 10 días previos a la inseminación y entre la inseminación y el diagnóstico de gestación (entre 30-35 días posterior a la IA) y se clasificó de acuerdo al período en que ocurrió: anterior a la IA, durante la IA (que haya comenzado antes y terminado posterior la IA) y posterior a la IA (que haya comenzado y terminado entre la IA y el diagnóstico de gestación).

Para el análisis de células somáticas se tomaban muestras mensuales a todas las vacas en leche y se enviaban al laboratorio de Cooprinsem. Para este estudio se utilizó el puntaje lineal de células somáticas (SCS), obtenido directamente desde el programa computacional de registros de la lechería. Se registró el SCS del control anterior y del posterior a la fecha de inseminación y se seleccionó el más próximo a la fecha de inseminación como mejor indicador del estado de salud mamaria. Basado en el estudio de Meléndez y Pinedo (2010) los SCS menores a 4,5 (aproximadamente 283.000 células/mL) se les asignó el número 1, considerado como ausencia de mastitis subclínica.

Con los datos recopilados se obtuvieron las frecuencias relativas de vacas preñadas que presentaban mastitis clínica en comparación a las que no lo presentaban. Esto se hizo para el total de los datos y posteriormente fue separado considerando las interacciones de

mastitis con los factores predio y número de lactancia. Lo mismo fue realizado para las mastitis subclínicas, con la diferencia que se utilizaron sólo los datos de las vacas que no presentaron mastitis clínica. Las frecuencias fueron comparadas mediante el estadístico Chi Cuadrado (χ^2) para probar la independencia de las variables.

Posteriormente se evaluó la probabilidad de ocurrencia de preñez después de la inseminación, considerando como fuentes de variación la presencia de mastitis (clínica y subclínica), el número ordinal de parto, producción de leche al día de la inseminación, el predio y el grado de mastitis. Para esto, la información fue analizada utilizando una regresión logística binaria de acuerdo al siguiente modelo.

$$p = \frac{1}{1 + \exp^{(-\alpha - \beta_i MC_i - \beta_j MS_j - \beta_k PK - \beta_l NI - \beta_m LI_m - \beta_n DL_n)}}$$

Donde:

Y = Presencia del evento (Preñez) (0: No; 1: Sí)

p = Probabilidad de que Y = 1

α = Intercepto

β_i = Pendiente de presencia de mastitis clínica

MC_i = Efecto del i-ésimo momento de presentación de la mastitis clínica (i= 0: sin mastitis clínica; 1: mastitis clínica previo a la IA; 2: mastitis clínica durante IA; 3: mastitis clínica posterior a IA)

β_j = Pendiente de presencia de mastitis subclínica

MS_j = Efecto de j-ésimo mastitis subclínica (i=0: ausencia mastitis subclínica; 1: presencia mastitis subclínica)

β_k = Pendiente de predio

P_k = Efecto de k-ésimo predio (i=1 o 2)

β_l = Pendiente de NOP

NI = Efecto del l-ésimo NOP (j= 1,2, ≥ 3)

β_m = Pendiente producción de leche al día de la inseminación

LI_m = Efecto de m-ésimo producción de leche al día de la inseminación

β_n = Pendiente de los días en leche (DEL) a la inseminación

DL_n = Efecto del n-ésimo día en leche a la inseminación

La información recopilada en el estudio se analizó utilizando el programa estadístico Infostat®.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Fertilidad

Se registró información de 5743 inseminaciones realizadas durante el periodo en estudio. Con el total de las inseminaciones, la tasa de concepción (TC) fue de 34,9%. La TC del predio 2 fue significativamente superior ($p=0,005$) a la del predio 1 (Tabla 1).

Tabla 1. Tasa de Concepción por predio.

<i>Predio</i>	<i>Nº Preñadas</i>	<i>Preñadas</i>
1	1001	33,2% ^a
2	1005	36,8% ^b
Total	2006	34,9%

Porcentajes con diferente superíndice son significativamente diferentes ($p\leq 0,05$)

En la Tabla 2 se muestra la distribución de las vacas de acuerdo a su número de lactancia y la fertilidad en cada estrato. Cerca de dos tercios de los animales son de primera y segunda lactancias.

Tabla 2. Distribución y tasa de concepción de vacas por número de lactancia

<i>Nº de Lactancia</i>	<i>Tasa de concepción</i>	<i>% de animales</i>
1	37,1% ^a	43%
2	33,5% ^b	24%
≥3	33,1% ^b	33%

Porcentajes con diferente superíndice son significativamente diferentes ($p\leq 0,05$)

El hecho de que exista un efecto del número de la lactancia en la fertilidad a la inseminación ha sido reportado por otros autores (Hillers et al., 1984) con la diferencia que en el estudio mencionado se encontraron diferencias para animales con 3 o más lactancias en comparación con los animales de primera o segunda lactancia, viendo en la primera categoría mencionada (3 o más lactancias) una menor fertilidad a la primera inseminación. En el presente estudio, sin embargo, se encontró una tasa de concepción menor para la segunda y tercera o más lactancias comparado con la primera y, a diferencia del estudio de

Hillers et al. (1984) no hubo diferencias en la tasa de concepción entre la segunda y tercera o más lactancias.

Al determinar la relación entre producción de leche y fertilidad no se observaron diferencias significativas para ninguna de las categorías, como se muestra en la Tabla 3. Se presenta en la tabla un menor número de animales que en datos anteriores debido a la ausencia de registro de producción de leche para algunas vacas.

Tabla 3. Efecto de la producción de leche al día de la IA en la tasa de concepción.

<i>Categoría de Producción de leche (litros)</i>	<i>Nº vacas</i>	<i>Preñadas</i>
1. 0-33	1093	36,1% ^a
2. 34-37	1087	36,7% ^a
3. 38-41	1102	34,8% ^a
4. 42-47	1134	35,3% ^a
5. 48-70	1141	31,6% ^a
Total	5557	34,9%

Porcentajes con diferente superíndice son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

En la literatura no existe consenso en cuanto al efecto de la producción láctea en la fertilidad. Mientras que existen algunos estudios que afirman que habría un efecto negativo de ésta en la fertilidad (Oltenacu et al., 1996; Buckley et al., 2003; Eicker et al., 1996) en otros no se aprecia ninguna diferencia por la producción láctea (Barker et al., 1998; Hertl et al., 2010, Grönh et al., 1995). En el presente estudio no se observaron diferencias estadísticamente significativas, pero si existiera un efecto en este caso podría no ser notorio debido a que la división en categoría de producción de leche se hizo de acuerdo al criterio de obtener un número similar de observaciones y no estableciéndose rangos de producción de leche que pudieran expresar diferencias. De esta forma se concentra la mayor cantidad de animales entre los grupos 2, 3 y 4 habiendo relativamente poca diferencia entre la producción de leche en esas categorías, lo cual no permitiría apreciar el efecto que tendría la producción láctea sobre la tasa de concepción.

No se observaron diferencias significativas en las tasas de concepción en relación a los días en leche (Tabla 4).

Tabla 4. Efecto de los días en leche a la IA en la tasa de concepción.

<i>Categoría DEL (días)</i>	<i>Nº vacas</i>	<i>Preñadas</i>
< 69	1130	34,2% ^a
69-90	1113	35,2% ^a
91-130	1179	34,8% ^a
131-191	1163	34,8% ^a
>191	1158	35,6% ^a
Total	5743	34,9%

Porcentajes con diferente superíndice son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

En la literatura se describe que podría haber un efecto negativo de los DEL en la fertilidad pero sería manifiesta en estratos extremos de este indicador (Loeffler et al., 1999). En predios donde existen manejos eficientes del pre y post parto que apunten a mejorar el balance energético de la vaca y prevenir enfermedades metabólicas no deberían manifestarse efectos del nivel productivo ni de los días en leche sobre la fertilidad. Los predios utilizados en el presente estudio son predios que consideran estos factores en sus manejos y podrían no observarse efectos negativos de las variables mencionadas sobre la fertilidad a la IA.

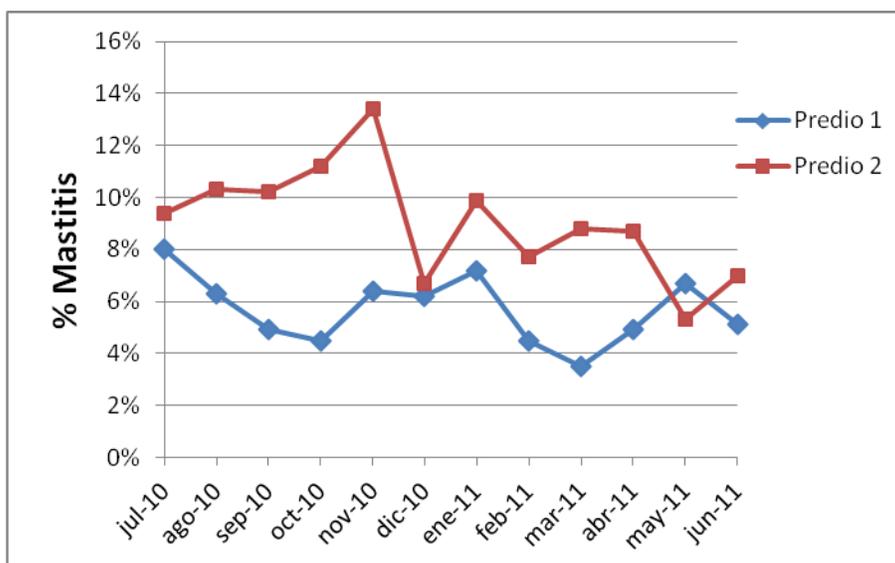
6.2 Incidencia predial de mastitis clínica

Se registraron 1.420 casos de mastitis en el periodo en estudio en un promedio de 1574 vacas en ordeña lo que representa una incidencia anual de 90,2% y una incidencia mensual de 7,5%.

El predio 1 presentó en el periodo estudiado un total de 549 casos de mastitis clínica de un promedio ponderado de 806 vacas en ordeña lo que arroja una incidencia anual de 68,1% o 5,68% mensual. En el predio 2 se presentaron 830 casos de mastitis de un total de 768 animales en ordeña durante el periodo, lo que corresponde a una incidencia anual de 108,1% o 9,0% al mes. En un estudio realizado por Moraga et al. (1994) se observó que la prevalencia de mastitis clínica para una lechería de la zona central era 65%, en cambio Azócar (2001) encontró una prevalencia anual de 88%.

En la Figura 1 se presenta la incidencia mensual de mastitis clínica en el periodo de estudio, separado por predio.

Figura 1. Incidencia mensual de mastitis clínica separada por predio.



Se puede apreciar que durante la mayoría de los meses los niveles de mastitis clínica fueron mayores en el predio 2, lo cual está de acuerdo con lo recopilado en los antecedentes en materiales y métodos. En el predio 2 se observó una disminución de los casos de mastitis entre los meses de abril a junio comparado con el periodo de julio a septiembre ($p=0,0004$). Para el predio 1 no se apreció una diferencia estacional en los casos de mastitis.

6.3 Inseminaciones asociadas a mastitis clínica

Para este estudio, se consideraron las inseminaciones realizadas durante un año y los casos de mastitis clínica asociados a ésta que ocurrían entre 10 días antes de la inseminación artificial (IA) y entre la IA y el diagnóstico de gestación (entre 30-35 días posterior a la IA). Por lo tanto, no se incluyen casos de mastitis que ocurrieron fuera del periodo, por ejemplo, durante el postparto o la gestación.

Para los animales inseminados en el periodo de julio de 2010 a junio de 2011, se presentó un porcentaje de inseminaciones asociadas a mastitis clínica de 16,8% que significó que de las 5743 inseminaciones ocurridas en este periodo hubo 964 casos de mastitis clínica en los

días alrededor de ésta. En la tabla 5 se muestran en porcentaje las inseminaciones que fueron asociadas a una mastitis clínica para ambos predios incluidos en el estudio.

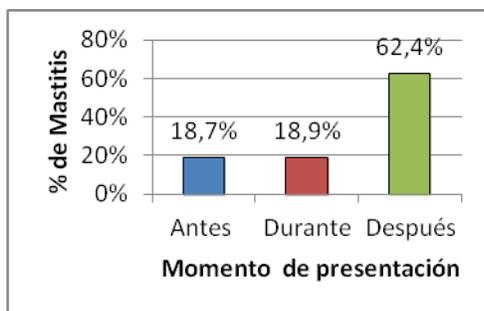
Tabla 5. Porcentaje de inseminaciones asociadas a un evento de mastitis clínica.

<i>Predio</i>	<i>% Mastitis Clínica</i>
1	13,9% ^a
2	19,9% ^b
Total	964

Porcentajes con diferente superíndice son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Se puede apreciar una mayor frecuencia de inseminaciones asociadas a casos de mastitis clínica en el predio 2, similar a lo que se vio para la incidencia de mastitis por predio. Esto implica que en ambos predios una parte importante de las inseminaciones fueron realizadas en vacas que presentaron mastitis en algún momento cerca de la inseminación. Sin embargo, es importante destacar que debido a que se consideró un periodo de tiempo relativamente extenso para considerar un caso de mastitis como relacionado a la inseminación (desde 10 días antes hasta aproximadamente 35 días posterior a la IA) se decidió dividir este periodo según el momento relativo a la IA en que se presentó la mastitis. Se dividió en un periodo “Antes”, en el cual se registraron los casos de mastitis que hayan tenido el alta entre 10 días antes de la IA y 1 día previo a ésta. En el segundo periodo “Durante” se incluyeron los casos de mastitis que comenzaron antes de la IA y terminaron posterior a ésta. En el tercer periodo “Después”, se consideró una fecha de inicio de la mastitis posterior a la IA y hasta el diagnóstico de la gestación. Se observó que un alto número de inseminaciones parece asociado a mastitis. Sin embargo, algunas mastitis registradas no eran mastitis en curso durante la inseminación sino que ocurrieron antes o posterior a ella. La figura 2 muestra la frecuencia de distribución de la mastitis clínica en vacas inseminadas de acuerdo al momento de su presentación.

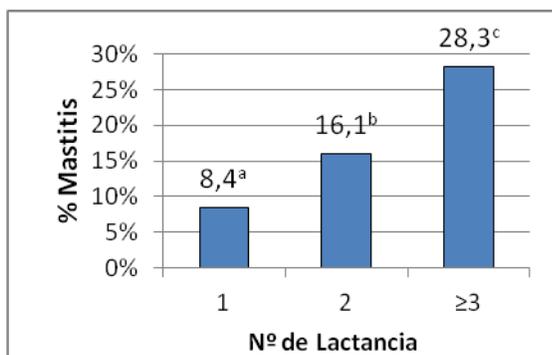
Figura 2. Distribución de mastitis clínica de acuerdo al momento de presentación en relación a la IA.



Como se aprecia en la Figura 2, la mayoría de los casos de mastitis se presentaron después de la inseminación, y el resto se dividió en un porcentaje similar entre casos que se iniciaron y terminaron antes de la inseminación y los que iniciaron antes de la IA y terminaron posterior a ésta (durante).

Las inseminaciones asociadas a un caso de mastitis clínica se vieron afectada por varios factores. Uno de ellos fue el número de lactancia, donde se observó un aumento en el número de inseminaciones relacionadas a un caso de mastitis con el aumento del número de la lactancia. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de inseminaciones relacionadas a casos de mastitis en animales de primera lactancia comparado con animales de segunda y tercera o más lactancias, siendo estos últimos los que presentaron la mayor frecuencia. Esto se muestra en la Figura 3.

Figura 3. Efecto del número de lactancia en la frecuencia de inseminaciones asociadas a un caso de mastitis clínica. Letras distintas señalan diferencias significativas.



Los resultados mostrados en la Figura 3 son consistentes con los mostrados en la Tabla 2 sobre el efecto del número de lactancia sobre la preñez. Como se discutió anteriormente, existe un marcado efecto del número de lactancia sobre la tasa de concepción de las vacas, y a su vez existe un marcado efecto del número de lactancia sobre las inseminaciones asociadas a mastitis clínica. En otras palabras, La mayor prevalencia de mastitis clínica alrededor de la IA pertenecía a los grupos de mayores lactancias y, por lo tanto, el efecto detrimental del número de lactancia en la tasa de concepción podría estar influenciado por una mayor proporción de vacas que presentan mastitis clínica cercana a la IA en los animales de más lactancias. Se hace necesario entonces aislar el efecto de los factores número de lactancia y mastitis sobre la fertilidad a la inseminación, que se analizará más adelante.

Se menciona que otro factor relacionado a la presencia de mastitis es el momento de la lactancia. Uno de los períodos críticos en la presentación de mastitis se da al inicio de la lactancia (Barker et al., 1998). En este estudio son pocos los animales que se inseminaron con menos de 50 días en leche, debido a que en general se recomienda inseminar después de un período de espera voluntario, que generalmente se define en 50 o 60 días. Por esto, este periodo tan crítico de presentación de mastitis no está considerado con los datos obtenidos en el presente estudio. La tabla 6 muestra el efecto de los días en leche en el porcentaje de animales inseminados que presentaron mastitis.

Tabla 6. Efecto de DEL en el porcentaje de animales inseminados que presentaron mastitis.

<i>Categoría DEL</i>	<i>Mastitis</i>	<i>Nº inseminaciones</i>
< 69	12,4% ^a	1130
69-90	17,5% ^b	1113
91-130	17,8% ^b	1179
131-191	18,9% ^b	1163
>191	17,2% ^b	1158
Total		5743

Porcentajes con diferente superíndice son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

La tabla 6 muestra que la mayor frecuencia de inseminaciones asociadas a mastitis se presentó en las vacas inseminadas después de los 69 DEL, donde la frecuencia de casos es significativamente mayor en cualquiera de las siguientes categorías en comparación con la primera. Esto podría indicar que existe alguna diferencia entre los animales que recién están comenzando su periodo de IA con los que pueden haber recibido más inseminaciones.

6.4 Efecto de la mastitis clínica sobre la fertilidad a la inseminación

Varios estudios señalan que en general existe un efecto negativo de la presentación de un cuadro de mastitis clínica sobre la fertilidad a la inseminación (Barker et al., 1998; Shrick et al., 2001; Hertl et al., 2010). Una diferencia con estos estudios fue que, en el presente estudio se utilizaron todas las inseminaciones realizadas en un periodo determinado. En el estudio de Barker et al. (1998) y de Shrick et al. (2001) se consideró solamente la primera inseminación post parto. En la revisión de literatura, se encontraron 2 estudios en los cuales se utilizaron más inseminaciones y en los que se aprecia un efecto del número de la inseminación sobre la probabilidad de preñez (Hertl et al., 2010; Kelton et al. 2001). En el presente estudio se consideraron todas las inseminaciones realizadas ya que la información obtenida en los predios muestra que no hay diferencias en la fertilidad obtenida con diferente número ordinal de la inseminación, lo que se complementa con informaciones de terreno (ABS, s/f) donde se aprecia un mayor efecto del número de la lactancia que del número ordinal de la IA.

Este modelo se asemeja en parte al utilizado por Hertl et al. (2010) donde se pudo apreciar un efecto negativo de la mastitis clínica sobre la fertilidad entre 14 días antes y 35 días posterior a la IA con diversos números ordinales de inseminación.

Teniendo en cuenta lo anterior, se presentan a continuación los resultados del efecto de la mastitis clínica en la fertilidad a la IA.

No se aprecia un efecto claro de la presencia de mastitis clínica en la tasa de concepción de las vacas cuando la mastitis se presenta en los periodos alrededor de la IA ya comentados. En la tabla 7 se presentan los resultados obtenidos para la tasa de concepción de las vacas que no presentaron la enfermedad comparado con aquellas que si la presentaron.

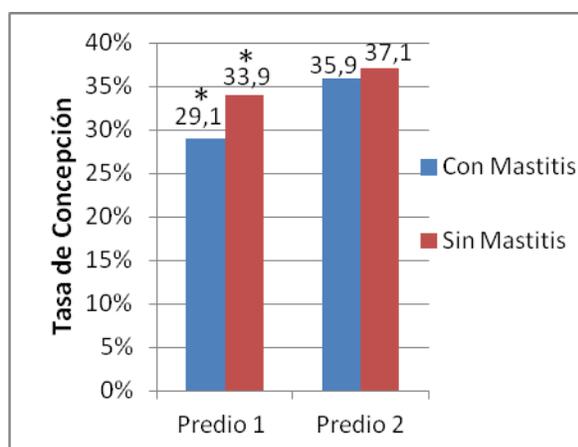
Tabla 7. Efecto de la presencia de mastitis clínica alrededor de la IA en la tasa de concepción.

<i>Mastitis</i>	<i>Preñadas</i>
No	35,4%
Sí	32,8%
	p=0,13

La información mostrada en la tabla 8, no es consistente con lo que se describe en la literatura (Barker et al., 1998; Shrick et al., 2001; Moore et al., 1993; Hertl et al., 2010) donde se reporta un marcado efecto de la mastitis sobre la fertilidad. En el presente estudio se observa sólo una tendencia a una menor fertilidad en las inseminaciones asociadas a mastitis. Posiblemente si se utilizara un mayor número de inseminaciones estas diferencias serían significativas.

Para determinar el efecto individual de cada predio y si éste efecto podría estar influenciando los resultados mostrados anteriormente se realizó la interacción por predio del efecto de la mastitis alrededor de la IA sobre la tasa de concepción de las vacas. Los resultados se muestran en la figura 4.

Figura 4. Efecto por predio de la mastitis clínica alrededor de la IA sobre la tasa de concepción. Datos con asterisco presentaron diferencias significativas entre sí ($p \leq 0,05$).



Se observó que para las vacas del predio 1, las inseminaciones asociadas a un evento de mastitis clínica disminuían significativamente ($p=0,05$) la tasa de concepción, a diferencia de lo encontrado para el predio 2, cuyos resultados no son diferentes estadísticamente

($p=0,6$). Para el análisis general, la ausencia de diferencias en el predio 2 puede haber influenciado que no se encontraran relaciones estadísticamente significativas.

Una posible explicación de estas diferencias entre predios podría ser que la causa de la mastitis sea diferente y por lo tanto que se comporten de manera diferente frente a la fertilidad, que la severidad de los cuadros sea distinta para cada predio o que la duración de los casos sean diferentes.

Considerando el momento de presentación de la mastitis relativa a la IA de acuerdo a lo definido previamente, se analizó si existía un efecto del momento de presentación sobre la fertilidad a la IA. Existe evidencia que menciona el efecto que tendría una mastitis en el momento inmediatamente anterior a la ovulación sobre el desarrollo endocrino y folicular normal que se traduciría en una disminución en la tasa de ovulación y en la expresión de celo, lo que significaría una menor tasa de concepción (Hockett et al., 2005). También se menciona el efecto inflamatorio y endotóxico en la gestación temprana (Moore et al., 1993). Los resultados para el efecto del momento de presentación de la mastitis relativo a la IA se presentan en la tabla 8.

Tabla 8. Tasa de concepción en relación al momento de ocurrencia de la mastitis.

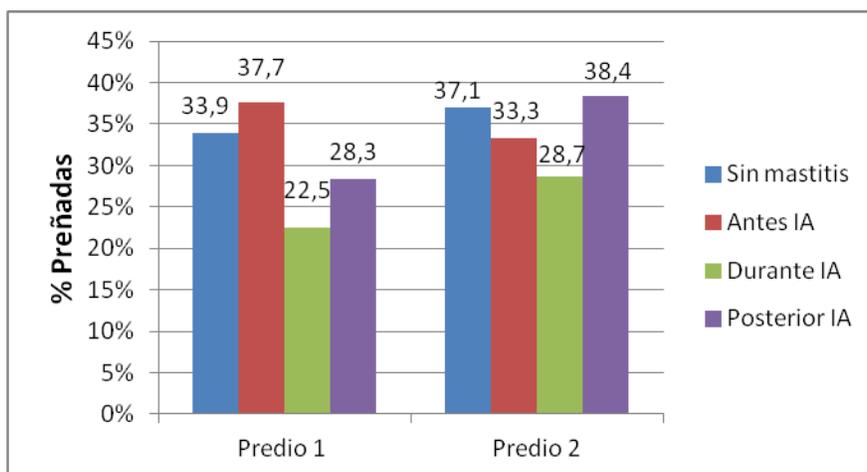
Momento Mastitis	%Preñadas	Nº Preñadas
Sin mastitis	35,4% ^a	1689
Antes IA	35,6% ^a	64
Durante IA	25,9% ^b	48
Posterior IA	34,1% ^a	205
Total	34,9%	2006

Porcentajes con diferente superíndice son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

De acuerdo a esto una mastitis presente al momento de la IA es la que mayor efecto tiene en la tasa de concepción (y es el único estadísticamente significativo). Un proceso activo de mastitis tendría un mayor efecto debido a la liberación de mediadores inflamatorios y los efectos que estos tendrían y que han sido descritos anteriormente (Moore et al., 1993). Los otros momentos de presentación no afectaron significativamente la tasa de concepción al compararlo con inseminaciones que no se asociaron a mastitis clínica. Sin embargo se evidenciaron diferencias entre la tasa de concepción de los periodos antes y después de la IA con respecto al periodo durante la inseminación, siendo esta última significativamente

menor. Para el periodo posterior a la IA se esperaba ver una menor fertilidad debido a que es un momento del desarrollo del concepto que también se puede ver afectado por los efectos de la inflamación y endotoxinas. Esto puede deberse nuevamente a las diferencias apreciadas entre predios. Para esto se determinó la tasa de concepción para cada predio por separado. Los resultados son los que se ilustran en la figura 5.

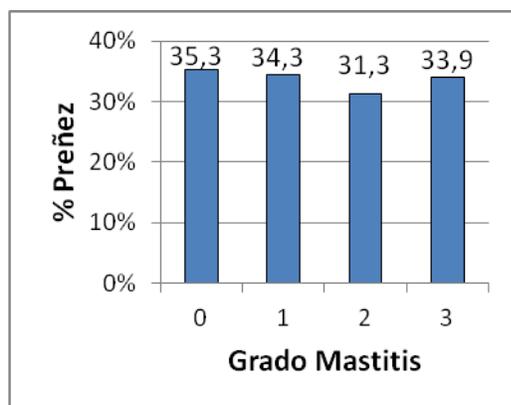
Figura 5. Tasa de concepción según momento de presentación de mastitis para cada predio.



Para el predio 1, la tasa de concepción fue significativamente menor si la mastitis ocurría durante el periodo de la IA ($p=0,03$) similar a lo observado para ambos predios combinados. Una diferencia es que en el predio 1 la tasa de concepción en inseminaciones donde se producía mastitis posterior a ésta tendió a ser menor ($p=0,08$) que en inseminaciones con ausencia de mastitis. Para el predio 2 la fertilidad en ninguno de los momentos de presentación de mastitis respecto a la IA evidenció diferencias significativas con respecto a la ausencia de mastitis.

Posteriormente se determinó si existía un efecto del grado de severidad de la mastitis. Al analizar el efecto del grado de mastitis sobre la tasa de concepción, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre cada uno de los grados de severidad ni tampoco si se comparaba cada uno de ellos con ausencia de mastitis. Estos resultados se presentan en la figura 6.

Figura 6. Efecto de la severidad del cuadro de mastitis asociado a la IA, en la tasa de concepción. El número 0 corresponde a ausencia de mastitis.



La severidad de la mastitis no presentó un efecto significativo sobre la tasa de concepción de las vacas. Por esto y, suponiendo un efecto similar a lo observado para la mastitis en general y para el momento de mastitis, se procedió a clasificar estos datos separándolos por predio. Los resultados se muestran en la tabla 9.

Tabla 9. Efecto del grado de severidad de mastitis asociado a la IA sobre la tasa de concepción para cada predio. El número 0 corresponde a ausencia de mastitis.

Grado Mastitis	Predio 1	Predio 2
	Preñadas	Preñadas
0	33,9% ^a	37,1% ^a
1	34,5% ^a	34,8% ^a
2	30,8% ^a	31,7% ^a
3	18,7% ^b	39,5% ^a

Porcentajes con diferente superíndice dentro de columnas son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Se pudo apreciar que hubo poca cantidad de animales en el predio 2 que fueron clasificados con grado 1 de mastitis ($n=23$), lo que podría indicar que se estén considerando como vacas sanas algunas mastitis leves. Esto podría explicar por qué no se aprecia un efecto de la mastitis sobre la fertilidad en el predio 2. Para ninguna de las explotaciones se manifestó un efecto significativo de los grados 1 y 2 de mastitis en la tasa de concepción comparados entre sí ni con respecto a la ausencia de mastitis. La única diferencia estadísticamente

significativa se apreció para el grado 3 de mastitis, donde para el predio 1 hubo una menor tasa de concepción comparado con los otros grados de mastitis y también en comparación con ausencia de la enfermedad ($p=0,001$) Para el predio 2 no hubo diferencias significativas, al igual que lo ocurrido en el análisis de momento de mastitis. Con respecto a la diferencia encontrada para el predio 1, ésta se encuentra en concordancia a lo expuesto previamente con respecto a que un estado más grave de mastitis clínica podría exacerbar el efecto que tendría la mastitis en la fertilidad a la inseminación, además que estados más graves tienen relación con estados inflamatorios más agresivos lo que generaría un mayor efecto detrimental de mediadores inflamatorios sobre la fertilidad. Para establecer la relación entre severidad del cuadro y momento de presentación, se realizó esta interacción cuyo resultado se muestra en la tabla 10.

Tabla 10. Efecto de la severidad de la mastitis asociada a la IA sobre la tasa de concepción, según momento de ocurrencia.

<i>Grado</i>	<i>Tasa de Concepción</i>		
	<i>Antes IA</i>	<i>Durante IA</i>	<i>Después IA</i>
1	37,8% ^a	33,3% ^a	33,8% ^a
2	32,3% ^a	22,2% ^a	33,5% ^a
3	38,5% ^a	24,7% ^a	35,5% ^a

Porcentajes con diferente superíndice dentro de columnas son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

No se apreció un efecto significativo de la severidad de la mastitis relacionado al momento de presentación sobre la fertilidad, aún cuando las tasas de concepción más bajas correspondieron a los grados más severos del cuadro durante la IA. No se encontraron otros estudios que reporten la relación que pudiese existir entre la severidad de la mastitis y algunos parámetros de fertilidad.

Varias vacas presentaron más de un cuadro de mastitis durante su lactancia y en el periodo alrededor de la inseminación. Incluso hubo algunas vacas que presentaron 3 y 4 cuadros durante ese tiempo (para el último caso fueron 3 vacas). Es importante esclarecer si se trató de casos separados del cuadro o si fue uno que continuó. Pero para poder confirmar esto se necesita saber si era el mismo cuarto el afectado y contar con un cultivo para establecer qué patógeno lo afectó, datos que no se registraron en el presente estudio. Lo más probable es que hayan sido casos diferentes ya que es común que una vaca tenga más de un episodio de

mastitis en su lactancia. Otra alternativa es que no se realizaran los tratamientos como generalmente se indican y que hayan sido suspendidos cuando se apreció una remisión de los signos clínicos aunque no necesariamente había terminado la infección en la glándula mamaria. Considerando lo anterior se determinó el posible efecto del número de casos de mastitis alrededor de la inseminación en la tasa de concepción. Para esto se comparó la tasa de concepción entre las distintas veces que se presentó la enfermedad asociada a la IA y también con la ausencia del cuadro. Los resultados de este análisis se presentan en la tabla 11.

Tabla 11. Efecto de las veces que la vaca presentó mastitis alrededor de la IA sobre la tasa de concepción.

<i>Veces Mastitis</i>	<i>Preñadas</i>	<i>Nº Vacas</i>
0	35,3% ^a	4774
1	33,6% ^a	640
2	30,9% ^a	123
3	33,3% ^a	24
4	33,3% ^a	3

Porcentajes con diferente superíndice son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

No se registró un efecto significativo del número de casos previos de mastitis sobre la tasa de concepción y tampoco comparado con la ausencia de mastitis.

Los resultados presentados hasta este momento en general no apoyan la hipótesis de una influencia detrimental de la mastitis clínica sobre la tasa de concepción. No se ven efectos significativos para los datos de presencia o ausencia de mastitis, momento de presentación de la mastitis, grado de mastitis ni las veces que la vaca presentó mastitis. Sin embargo, se apreció que para el predio 1 se veían marcados efectos para todas las características antes mencionadas. Por el contrario, para el predio 2 no se apreciaron en ninguno de los análisis realizados, los efectos vistos para el predio 1. Por tanto no se puede concluir que exista un efecto negativo de la mastitis clínica en la fertilidad a la inseminación.

Para los resultados que sí presentaron un efecto, el periodo más crítico de presentación de la mastitis para el éxito de la IA fue durante ésta, debido a que es el periodo más cercano al evento estudiado. Esto también se vio en los estudios de Barker et al. (1998) y Shrick et al. (2001) donde también se apreció que los efectos más significativos ocurrían posterior a la primera inseminación, debido a que los otros periodos (antes de la primera inseminación y

posterior al diagnóstico de gestación) eran demasiado lejanos como para poder determinar claramente un efecto en los parámetros reproductivos estudiados.

Por esta razón es que se procedió a restringir más el periodo en que se consideró a la mastitis para ser considerada como influyente en la fertilidad. El período nuevo que se utilizó incluyó a todas las inseminaciones donde se presentaron como mínimo una fecha de alta de mastitis durante los 5 días anteriores a la IA y una fecha de inicio de mastitis dentro de los 20 días posteriores a ésta. Los datos que en el análisis anterior caían en la categoría de mastitis pero que luego del ajuste del periodo no lo hacían fueron rotulados como ausencia de mastitis en el periodo cercano a la IA. Se realizaron divisiones semejantes a las hechas para el periodo no restringido en cuanto al momento de la mastitis (antes, durante y después), grado de mastitis y veces que ocurrió la mastitis. Los resultados obtenidos se presentan a continuación.

Al reducir el periodo elegible de la mastitis clínica se vio que el porcentaje de inseminaciones asociadas a una mastitis fue de un 11,7% (674 inseminaciones) comparado con un 16,8% para los datos anteriores.

Los resultados para la tasa de concepción en vacas que presentaron mastitis clínica asociada a la IA comparada con las que no presentaron la enfermedad se muestran en la tabla 12.

Tabla 12. Efecto de la mastitis clínica alrededor de la IA en la tasa de concepción.

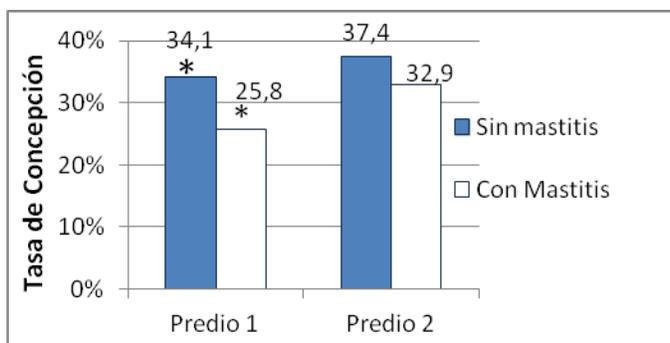
<i>Mastitis</i>	<i>Preñadas</i>	<i>n° Preñadas</i>
No	35,6% ^a	1806
Si	29,7% ^b	200

Porcentajes con diferente superíndice son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Con este ordenamiento de los datos se observó que existía un efecto negativo de las mastitis sobre la fertilidad a la inseminación. Es probable que al disminuir el periodo en que fueron consideradas las mastitis en relación a la IA, se consideraron los casos más relacionados con la IA y por eso en este caso se puede apreciar un efecto. Las vacas que presentaron mastitis tuvieron una menor tasa de concepción que las que no la presentaron, siendo estos resultados significativamente diferentes ($p=0,002$). Lo anterior coincide con lo descrito por autores como Barker et al. (1998) y Hertl et al. (2010) con respecto a que la mastitis clínica puede tener un efecto negativo en la fertilidad de las vacas de alta producción.

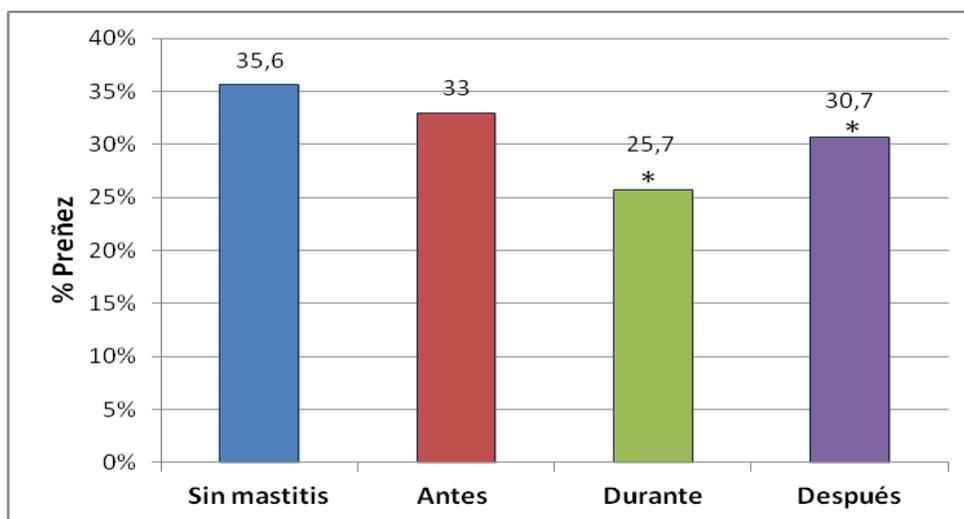
Para poder determinar si este efecto se manifiesta en ambos predio se realizó la interacción de los efectos predio e inseminaciones asociadas a mastitis sobre la tasa de concepción. Los resultados se muestran en la figura 7.

Figura 7. Efecto de la mastitis cercana a la IA sobre la tasa de concepción para ambos predios. Datos con asterisco presentaron diferencias significativas entre sí ($p \leq 0,05$).



Los resultados mostraron que se mantuvo la tendencia observada previamente para ambos predios, pero se aumentó la magnitud de los efectos. Para el predio 1 aumentó la diferencia en la tasa de concepción entre inseminaciones que se relacionaron a mastitis y las que no y la significancia ($p= 0,004$). Para el predio 2 se observó una tendencia ($p=0,09$) a una menor fertilidad en las inseminaciones asociadas a mastitis respecto a las que no la sufrieron. Posteriormente se procedió a determinar si existía algún efecto del momento de presentación de la mastitis con respecto a la inseminación. Los resultados que se obtuvieron son expuestos en la Figura 8.

Figura 8. Efecto del momento de la mastitis en la tasa de concepción. Datos con asterisco presentaron diferencias estadísticamente significativas comparado con ausencia de mastitis ($p \leq 0,05$).



Para el caso de los “datos nuevos” se pudo apreciar que el momento de presentación tenía un efecto importante en la fertilidad a la inseminación, siendo animales que presentaron mastitis clínica durante y posterior a la IA los que presentaban las menores tasas de concepción comparados con la ausencia de mastitis clínica. Esto se asemeja a lo que se describe en la literatura, donde Hertl et al. (2010) encontraron diferencias significativas en la tasa de concepción en animales que presentaban mastitis clínica 14 días previo y hasta 35 días posterior a la IA, siendo el periodo de 0 a 7 días posterior a la IA el que presentaba el mayor efecto. Los resultados de Hertl et al. (2010) mostraron diferencias de acuerdo a la etiología de la mastitis, factor que no se estudió en la presente memoria. Los resultados obtenidos en el presente estudio implican que uno de los periodos más sensibles a alteraciones en la fertilidad para los predios estudiados es el inicio de la gestación. Esto significa que al producirse una mastitis posterior a la fecundación o simultánea a ésta, el embrión queda expuesto a que se produzca una lisis del cuerpo lúteo o posiblemente una muerte embrionaria temprana causada directamente por factores inflamatorios o endotóxicos (Barker et al., 1998).

Al igual que en el análisis previo se evaluaron las diferencias que existían entre ambos predios con respecto al momento de presentación de la mastitis clínica. En la tabla 13, se muestra las diferencias por predio en las tasas de concepción de vacas con mastitis *versus* las sin mastitis.

Tabla 13. Efecto de la mastitis asociada a la IA sobre la tasa de concepción, por predio.

Momento Mastitis	% Preñadas		N° Preñadas	
	Predio 1	Predio 2	Predio 1	Predio 2
Sin mastitis	34,1% ^a	37,4% ^a	922	884
Antes de IA	34,8% ^{ab}	31,4% ^a	16	16
Durante IA	22,5% ^b	28,7% ^a	20	27
Posterior IA	25,1% ^b	35,0% ^a	43	78

Porcentajes con diferente superíndice dentro de columnas son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

Se observó una disminución significativa en la tasa de concepción producto del momento de presentación de la enfermedad sólo para el predio 1 y en los momentos durante ($p = 0,006$) y posterior a la IA ($p = 0,05$). También se observó una fuerte tendencia a una menor fertilidad en mastitis que ocurrían durante la IA para el predio 2 ($p = 0,09$). Al igual que para los datos no restringidos se siguen apreciando importantes diferencias entre ambos predios. Lo anterior puede tener múltiples explicaciones como son las diferentes incidencias, causas, severidad, manejo y tratamiento de los casos de mastitis entre los predios.

Posteriormente se analizó el efecto de la severidad de la mastitis sobre la fertilidad a la inseminación. Los resultados se muestran en la tabla 14.

Tabla 14. Efecto del grado de mastitis cercano a la IA sobre la tasa de concepción.

Grado Mastitis	Preñadas	n° Preñadas
0	35,6% ^a	1806
1	31,5% ^{ab}	51
2	29,0% ^b	65
3	29,7% ^b	83

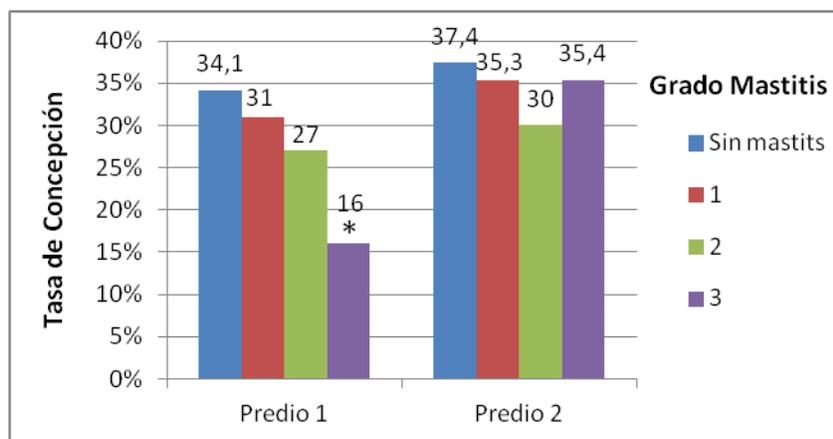
Porcentajes con diferente superíndice son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

Se manifestó una disminución de la tasa de concepción para animales que presentaron mastitis grados 2 y 3, probablemente debido al mayor grado de inflamación que representan. Las mastitis con grado 2 tuvieron menor tasa de concepción comparado con la

ausencia de mastitis ($p=0,006$) pero no así al compararlas con los otros niveles de severidad. Lo mismo ocurrió con las mastitis grado 3 ($p=0,05$).

Con estos resultados, se procedió a separar la información anterior por predios para poder apreciar el aporte de cada uno al efecto encontrado previamente. Los resultados se muestran en la figura 9.

Figura 9. Efecto del grado de mastitis sobre la tasa de concepción, por predio. Los datos con asterisco presentaron diferencias significativas comparado a ausencia de mastitis ($p\leq 0,05$).



Los resultados mostraron que para el predio 1 se evidenció una tendencia, aunque no fue significativa ($p=0,21$) a una menor tasa de concepción para animales con mastitis grado 2 comparado con ausencia de mastitis. Para el predio 2 se apreció una fuerte tendencia a una menor fertilidad en las mastitis clínicas grado 2 comparado con la ausencia de la enfermedad ($p=0,07$). Para las mastitis grado 3, en el predio 1 la fertilidad fue significativamente menor con respecto a la ausencia de mastitis ($p=0,001$) y con las mastitis grado 1 ($p=0,02$). Con las mastitis grado 2 hubo una tendencia a una menor fertilidad ($p=0,10$). Para el predio 2 no hubo otras diferencias en las tasas de concepción. Los resultados anteriores contrastan a los que se presentaron en la tabla 14, puesto que no se logra apreciar claramente el efecto de las mastitis grado 2.

Respecto al eventual efecto del grado de la mastitis sobre la tasa de concepción según el momento de presentación del cuadro los resultados se presentan en la tabla 15.

Tabla 15. Efecto del grado de mastitis sobre la tasa de concepción según momento de presentación.

Grado	Tasa de concepción		
	Antes IA	Durante IA	Después IA
1	27,8% ^a	33,3% ^a	31,4% ^a
2	38,2% ^a	22,2% ^a	29,4% ^a
3	31,8% ^a	24,7% ^a	31,8% ^a

Porcentajes con diferente superíndice dentro de columnas son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

No hubo diferencias significativas en la tasa de concepción independiente del grado de severidad y del momento de presentación aún cuando para las inseminaciones que coinciden con un evento de mastitis las tasas de concepción para los grados 2 y 3 fueron considerablemente más bajas, pero sin mostrar diferencias significativas ($p = 0,23$ para grado 2 y $p = 0,31$ para grado 3).

Finalmente se determinó el efecto que tenía el número de veces que la vaca había presentado mastitis alrededor de la IA sobre el porcentaje de preñez. Para este caso, todas las mastitis en que haya una fecha de alta y luego haya comenzado otra se clasificaron como casos separados de mastitis. Es posible que en algunos casos haya correspondido al mismo caso que no curó completamente, pero es poco probable debido que en ambos predios se seguían los protocolos y recomendaciones para dar de alta un caso. Además, en estos predios se consideraba un caso nuevo cuando había pasado sobre 14 días de terminado el caso anterior. Si el intervalo era menor el caso era considerado como el mismo caso anterior, cuando se producía en el mismo cuarto. Al realizar el nuevo ordenamiento de los datos, no hubo vacas que presentaran 4 veces mastitis alrededor de la IA sino que el máximo fue de 3 veces (7 inseminaciones). A continuación en la tabla 16 se exponen los resultados para ver la relación entre el número de veces que la vaca presentó mastitis clínica alrededor de la IA y la tasa de concepción.

Tabla 16. Efecto de las veces que la vaca presentó mastitis sobre la tasa de concepción.

<i>Veces mastitis</i>	<i>Preñadas</i>	<i>n° Preñadas</i>
0	35,4% ^a	1688
1	30,3% ^b	159
2	24,2% ^{ab}	16
3	42,9% ^{ab}	3

Porcentajes con diferente superíndice son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

No se apreciaron diferencias significativas en la tasa de concepción cuando hubo 2 y 3 casos de presentación de mastitis con respecto a la ausencia de mastitis clínica ni entre las categorías. Para las vacas que tuvieron 2 veces mastitis alrededor de la inseminación se presentó un tendencia a una disminución en la tasa de concepción comparado con animales sin mastitis ($p=0,06$). El único valor significativo fueron los animales que presentaron mastitis una sola vez.

Considerando todos los resultados obtenidos, se apreció que hay diferencias significativas de los porcentajes de preñez entre los animales que presentaron mastitis comparado con lo que no la presentaron, siendo menores los primeros. Esto se hizo evidente únicamente cuando se realizó un cambio en los criterios para definir un caso de mastitis como asociado a la IA. Esto se debe probablemente a que en un principio se registraron casos que podían haber comenzado mucho antes de la IA. Aparentemente, estos casos ocurridos hasta 10 días antes de la IA no ejercen un efecto sobre la tasa de concepción. Una vez que se acortó el periodo de influencia de la mastitis sobre la IA, se pudieron apreciar diferencias importantes en las tasas de concepción. Los efectos observados para el periodo restringido de influencia de la mastitis alrededor de la IA, se encuentran de acuerdo a lo registrado por Hertl et al. (2010). En el presente estudio (al igual que en el de hertl et al., 2010) se determinó que existía una asociación significativa entre los porcentajes de preñez de vacas que no presentaron mastitis comparado con las que sí la presentaron. Esto implica que no sólo durante el inicio de la lactancia (que es donde más mastitis se producen) es importante el control de la mastitis sino que en todo momento de la producción porque los efectos que ésta puede tener, afectan negativamente el rendimiento reproductivo de las vacas de alta producción. El efecto de la mastitis clínica sobre la fertilidad a la IA varía de acuerdo al predio, siendo más marcado para el predio 1. Esto puede ser debido a que diferencias entre

incidencias, causalidad, severidad, manejo y tratamiento de los casos de mastitis entre los predios.

Además se debe considerar que el predio 2 presentó una mejor fertilidad a la inseminación, por lo que se podría concluir que los efectos negativos de una mastitis influyeron menos en la fertilidad a la inseminación.

También se apreció un efecto del momento de presentación de la mastitis en la fertilidad a la IA. Se evidenció una relación negativa entre animales que presentaban mastitis clínica durante y posterior a la IA y la tasa de concepción de esos animales. El efecto no fue manifiesto para las inseminaciones en que hubo mastitis previo a la IA lo que no es consistente con lo reportado por Hertl et al. (2010) quienes estimaron que casos ocurridos hasta 14 anteriores a la IA podían tener efecto negativo en el éxito de la inseminación. También esto se encuentra en oposición a lo manifestado por Moore et al. (1993), que discutía el efecto negativo de la mastitis sobre la expresión de celo y el peak de LH. Por otra parte la relación observada entre los momentos durante y posterior a la IA y la tasa de concepción de las vacas se encuentran en concordancia con las explicaciones fisiológicas entregadas por Moore et al. (1993) quienes expresaron que un proceso inflamatorio genera diferentes moléculas pro inflamatorias que pueden tener un efecto sobre la regulación hormonal del ciclo y la gestación temprana y también sobre el embrión.

Se pudo establecer además un efecto claro de la severidad de la mastitis sobre la fertilidad a la inseminación. No se tiene conocimiento de otros estudios que reporten la relación entre la severidad de la mastitis y la fertilidad de las vacas. La tasa de concepción en los grados más severos de mastitis (2 y 3) significativamente menor comparado con la ausencia de ésta. Esto podría tener relación con lo expresado por otros autores (Moore et al., 1993; Hertl et al., 2010) quienes explican que las mastitis producidas por agentes gram negativo generan un mayor grado de inflamación en la glándula mamaria y por lo tanto se podrían generar mastitis de mayor severidad, lo que afectaría más la tasa de concepción a la inseminación. A su vez, el efecto que generaron las mastitis grado 1 (leve) no fue significativo probablemente debido a que son cuadros de menor severidad.

Finalmente respecto al efecto del número de veces que un animal haya presentado la mastitis alrededor de la IA sobre la tasa de concepción, no se apreciaron diferencias tanto para los datos sin restringir como para los que se modificaron. Esto habla de que no

existiría relación entre un caso de mastitis ocurrido tiempo atrás sobre el éxito de la inseminación a diferencia de lo encontrado por otros autores (Hertl et al., 2010; Barker et al., 1998).

6.4.1 Efecto de la mastitis clínica sobre la probabilidad de preñez

En estos análisis se intentó cuantificar el efecto que tenía la mastitis y otros factores sobre la probabilidad de preñez de las vacas.

En primer lugar se realizó un análisis univariado (considera una sola variable) para poder determinar el riesgo o probabilidad de preñez de acuerdo a factores como el predio, el n° de la lactancia, los DEL, la producción láctea, la presencia de mastitis clínica, el momento de presentación de la mastitis clínica, la severidad de la mastitis y las veces que el animal presentó mastitis. Posteriormente, se incluyeron en un solo modelo (multivariado) todas las variables que presentaron un efecto significativo sobre la preñez. Los datos que se utilizaron fueron aquellas a los que se les restringió el periodo de la mastitis alrededor de la IA para ser elegible.

Primero se analizó el riesgo de preñez para cada uno de los predios estudiados. Los resultados se muestran en la tabla 17, donde se observó que para el predio 2 había un 17% más de probabilidades de obtener una preñez comparado con el predio 1.

Tabla 17. Resultados del análisis de regresión logística binaria para el efecto del predio sobre la preñez.

<i>Variable</i>	<i>Riesgo</i>	<i>IC (95%)</i>	<i>Valor -p</i>
Predio 1	Ref.	----	----
Predio 2	1,17	1,05 - 1,3	0,0046

A continuación se determinó la probabilidad de preñez para los estratos de número de lactancia (1, 2 y ≥ 3), donde se determinó que para la segunda y tercera lactancia la probabilidad de preñez era menor al compararla con la primera. Los animales de segunda lactancia presentaron un 85% de probabilidad de quedar preñadas comparado con animales de primera lactancia, siendo estos resultados significativos (IC 95% = 0,73 - 0,97; p=0,02). Los animales de 3 o más lactancias también presentaron un riesgo significativamente menor

de gestación con un 83% de probabilidades de quedar preñadas, comparado con vacas de 1^a lactancia (IC 95% = 0,73 - 0,94; p=0,004).

Posteriormente se analizó el efecto de las distintas categorías de producción de leche y de días en leche. Los resultados obtenidos se muestran en las tablas 18 y 19, respectivamente.

Tabla 18. Resultados del análisis de regresión logística binaria para la relación entre producción de leche al momento de la IA y la preñez.

<i>Variable</i>	<i>Riesgo</i>	<i>IC (95%)</i>	<i>Valor -p</i>
Producción de Leche (Its/día)			
0 -33	Ref.	----	----
34-37	1,03	0,86 - 1,23	0,75
38-41	0,95	0,79 - 1,13	0,53
42-47	0,97	0,81 - 1,15	0,70
48-70	0,82	0,69 - 0,98	0,03

Tabla 19. Resultados del análisis de regresión logística binaria para la probabilidad de preñez en relación a los días en leche al momento de la IA.

<i>Variable</i>	<i>Riesgo</i>	<i>IC (95%)</i>	<i>Valor -p</i>
DEL			
< 69	Ref.	----	----
69-90	1,03	0,86 - 1,22	0,77
91-130	1,01	0,85 - 1,20	0,90
131-191	1	0,84 - 1,19	0,97
>191	1,03	0,86 - 1,22	0,78

No se observó efecto de la producción de leche ni de los DEL al momento de la IA sobre el riesgo de preñez., excepto para las vacas de mayor producción de leche, donde el riesgo de preñez fue menor al de la categoría de menor producción.

Para determinar la probabilidad o riesgo de preñez de acuerdo a la presencia de mastitis clínica y si se hizo un primer análisis con todos los datos y luego se separaron por predio. En general las inseminaciones asociadas a la enfermedad tuvieron un 24% menos de probabilidades de terminar en preñez (IC 95%= 0,64 - 0,91; p=0,002) en comparación a las que no presentaban mastitis. Esto se encuentra de acuerdo a lo mostrado anteriormente en este estudio y lo discutido por otros autores (Barker et al., 1998; Shrick et al., 2001; Hertl et al., 2010). Respecto al efecto de la mastitis dentro de cada predio los resultados se muestran en la tabla 20.

Tabla 20. Resultados del análisis de regresión logística binaria para la probabilidad de preñez de acuerdo a la presencia o ausencia de mastitis clínica por predio.

<i>Variable</i>	<i>Riesgo</i>	<i>IC (95%)</i>	<i>Valor -p</i>
Mastitis Clínica			
No	Ref.	---	---
Si Predio 1	0,67	0,51 - 0,88	0,004
Predio 2	0,82	0,65 - 1,03	0,09

En el predio 1 las inseminaciones que se asociaron con un caso de mastitis tenían un 67% de probabilidad de preñez comparado con las que no presentaban la enfermedad. Para el predio 2, se observó una tendencia a una menor fertilidad para vacas con mastitis.

Este menor riesgo de preñez en animales que presentaron mastitis en los momentos cercanos a la inseminación coincide con lo expresado por Hertl et al. (2010) quienes reportaron un menor riesgo de preñez en los animales que presentaban mastitis. Sin embargo en ese estudio no se realizó una evaluación general si no que se fue evaluando el riesgo por momentos de ocurrencia de la mastitis.

Respecto al efecto del momento de ocurrencia de la mastitis sobre el riesgo de preñez, tanto para todos los datos juntos como para el detalle por predio, la probabilidad de preñez y la subdivisión por predios se presentan en las tablas 21 y 22.

Tabla 21. Resultados del análisis de regresión logística binaria para el efecto del momento de presentación de la mastitis sobre la preñez.

<i>Variable</i>	<i>Riesgo</i>	<i>IC (95%)</i>	<i>Valor -p</i>
Momento Mastitis			
Sin mastitis	Ref.	---	---
Antes IA	0,89	0,58 - 1,36	0,59
Durante IA	0,62	0,45 - 0,87	0,006
Posterior IA	0,80	0,64 - 1	0,05

Tabla 22. Resultados del análisis de regresión logística binaria para el efecto del momento de presentación de la mastitis sobre la preñez.

<i>Variable</i>		<i>Riesgo</i>	<i>IC (95%)</i>	<i>Valor -p</i>
Momento Mastitis				
Sin mastitis		Ref.	---	---
Antes IA	Predio 1	1,03	0,56 - 1,9	0,92
	Predio 2	0,76	0,42 - 1,39	0,38
Durante IA	Predio 1	0,56	0,34 - 0,93	0,02
	Predio 2	0,67	0,43 - 1,06	0,09
Posterior IA	Predio 1	0,65	0,46 - 0,93	0,02
	Predio 2	0,9	0,67 - 1,2	0,47

Los animales que presentaron mastitis durante la IA y posterior a ésta presentaron una menor probabilidad de quedar preñadas que animales que no presentaron mastitis. Esto se encuentra parcialmente relacionado con lo reportado por Hertl et al. (2010) quienes establecieron que para las mastitis ocurridas entre 1 y 7 días posterior a la IA el riesgo de preñez era un 50% menos ($p < 0,02$). En esta memoria también se apreció que en el momento de la mastitis más cercano a la IA (durante) fue donde disminuyó más la probabilidad de preñez aunque no alcanzó niveles tan bajos como los reportados por Hertl et al. (2010) En ese mismo estudio se observó además una disminución en la probabilidad de preñez en vacas que presentaron mastitis antes de la IA, siendo el riesgo de preñez de

hasta 32% menos ($p=0,05$), resultados que no se apreciaron en el presente estudio. La razón de esto puede estar en que la cantidad de animales que fueron considerados para el estudio de Hertl et al. (2010) fue mucho mayor que para el presente y por tanto el efecto individual de cada predio se ve disminuido.

A continuación se analizó el riesgo de preñez en animales que presentan diferente severidad del cuadro de mastitis. En general, comparado con vacas que no presentaron mastitis a la IA, la probabilidad de preñez para los animales que presentaron mastitis grado 2, fue menor con una probabilidad de 26% menor de quedar preñadas (IC 95% = 0,55 - 0,99; $p= 0,04$) y en las vacas que tuvieron mastitis grado 3, quienes tuvieron un riesgo de 0,77 de quedar preñadas (IC 95% = 0,59 - 1,00; $p= 0,05$). No hubo diferencias estadísticamente significativas para las mastitis grado 1.

Luego se analizaron los datos del riesgo de preñez con respecto a los grados de mastitis y su interacción por predio cuyos resultados se presentan en la tabla 23.

Tabla 23. Resultados del análisis de regresión logística binaria para el efecto de la severidad de la mastitis sobre la probabilidad de preñez.

<i>Variable</i>		<i>Riesgo</i>	<i>IC (95%)</i>	<i>Valor -p</i>
Mastitis Clínica				
No		Ref.	---	---
Grado 1	Predio 1	0,87	0,61 - 1,25	0,45
	Predio 2	0,91	0,34 - 2,47	0,86
Grado 2	Predio 1	0,72	0,43 - 1,2	0,21
	Predio 2	0,72	0,5 - 1,03	0,07
Grado 3	Predio 1	0,37	0,2 - 0,67	0,001
	Predio 2	0,91	0,68 - 1,24	0,56

Para el predio 1, se presentó un probabilidad de preñez significativamente menor solo para las mastitis más severas. En el predio 2 en cambio, en ningún caso se apreció una diferencia significativa, solo en las mastitis grado 2, donde hubo una fuerte ($p=0,07$) tendencia a una reducción de la probabilidad de preñez comparado con la ausencia de mastitis.

Finalmente se realizó un análisis de regresión logística para determinar la probabilidad de preñez en animales que cursaron más de una vez mastitis en el periodo establecido. A continuación se presentan los resultados para el riesgo de preñez de las vacas de acuerdo a las veces que presentaron mastitis.

Tabla 24. Resultados del análisis de regresión logística binaria para la relación entre el número de casos de mastitis alrededor de la IA y la preñez.

<i>Variable</i>	<i>Riesgo</i>	<i>IC (95%)</i>	<i>Valor -p</i>
Veces Mastitis			
0	Ref.	---	---
1	0,79	0,65 - 0,97	0,03
2	0,72	0,42 - 1,22	0,22
3	1,09	0,26 - 4,56	0,91

Sólo las vacas que presentaron una vez mastitis mostraron una probabilidad de preñez significativamente menor. No se apreciaron diferencias en la fertilidad para aquellas que presentaron 2 y 3 veces mastitis.

Con los efectos que mostraron significancia se realizó un modelo multivariado. Para un primer modelo multivariado se consideró el efecto del predio, el número de lactancia y la mastitis clínica (presencia/ausencia), cuyos resultados se presentan en la tabla 25.

Tabla 25. Resultados del análisis de regresión logística binaria para los diversos factores estudiados.

<i>Variables</i>	<i>Riesgo</i>	<i>IC (95%)</i>	<i>Valor -p</i>
Predio			
1	Ref.	---	---
2	1,21	1,09 - 1,35	0,0006
Nº Lactancia			
1	Ref.	---	---
2	0,84	0,73 - 0,97	0,02
≥3	0,84	0,73 - 0,95	0,007
Mastitis a la IA			
No	Ref.	---	---
Si	0,78	0,66 - 0,94	0,007

Para las inseminaciones donde se presentaron casos de mastitis clínica se hizo un análisis que consideró el momento de ocurrencia y grado de severidad de la mastitis. En la tabla 26 se muestra el resultado del análisis para los animales que presentaron mastitis clínica.

Tabla 26. Resultados del análisis de regresión logística binaria para la probabilidad de preñez en animales que presentaron mastitis clínica.

<i>Variables</i>	<i>Riesgo</i>	<i>IC (95%)</i>	<i>Valor -p</i>
Predio			
1	Ref.	---	---
2	1,73	1,14 - 2,63	0,01
Nº de Lactancia			
1	Ref.	---	---
2	1,41	0,85 - 2,33	0,18
≥3	0,88	0,56 - 1,38	0,58
Momento Mastitis			
Antes IA	Ref.	---	---
Durante IA	0,71	0,41 - 1,23	0,22
Posterior IA	0,87	0,54 - 1,41	0,57
Grado Mastitis			
1	Ref.	---	---
2	0,63	0,38 - 1,04	0,07
3	0,63	0,38 - 1,04	0,07

No hubo diferencias significativas en la probabilidad de preñez en las categorías de momento de ocurrencia de la mastitis y severidad del cuadro. Esto es debido a que esta vez no se comparaba con la ausencia de la enfermedad. Aun así para el caso de la severidad de la mastitis se apreció una fuerte tendencia a que la probabilidad de preñez fuera menor en estados más severos del cuadro comparado con el estado más leve. También se observa una tendencia a una menor fertilidad (OR=0,71) cuando la mastitis ocurre durante la inseminación.

En general en el presente estudio se pudo apreciar un efecto negativo de la presentación de la mastitis clínica sobre la fertilidad cuando es cercano a la IA resultados que están en concordancia con la literatura revisada. Se aprecia también que este efecto varía de acuerdo al momento de presentación de la mastitis, siendo los periodos durante la IA y posterior a ésta los periodos de mayor influencia. También existiría un efecto de la severidad del cuadro, siendo las mastitis más graves las que implicarían una menor fertilidad. Lo anterior se hace evidente cuando se restringe el periodo en que se considera la mastitis en relación a

la IA. Además se encontraron diferencias en estos efectos entre ambos predios estudiados lo que implica que el manejo predial puede hacer más o menos evidente este efecto negativo de la mastitis.

6.5 Efecto de la mastitis subclínica sobre la fertilidad a la inseminación

Para el análisis del efecto de la mastitis subclínica todas las inseminaciones con un caso cercano de mastitis clínica fueron excluidas de este análisis.

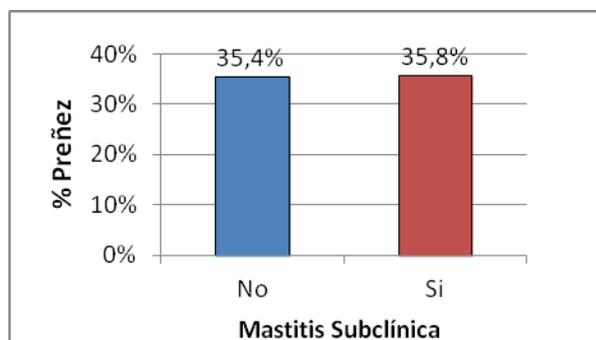
Los conteos de células somáticas fueron convertidos a la escala logarítmica por el programa computacional de las lecherías para obtener un puntaje lineal de células somáticas (SCS). Para considerar que un animal haya presentado mastitis subclínica se vio si presentó un puntaje mayor o igual a 4,5 en el control más cercano a la IA, lo que equivale a un conteo de células somáticas de aproximadamente 283.000 cel/ml. Esto se hizo basado en lo propuesto por Pinedo et al. (2009) en su estudio sobre la relación entre la mastitis subclínica y la fertilidad. Todos los animales bajo ese puntaje se clasificaron como con ausencia de la enfermedad.

Para el análisis de mastitis subclínica se consideraron 4235 inseminaciones en las cuales se presentó el cuadro en 553 casos, representando una frecuencia de 13,1%. Los datos de vacas que presentaron mastitis subclínica fueron subdivididos en 8 categorías de acuerdo al momento en que se realizó el control con respecto a la inseminación artificial para determinar si existía un efecto del momento en que se registraba la mastitis subclínica en la fertilidad. Las categorías iban desde ≥ 15 días previo a la IA hasta ≥ 15 días posterior a ésta.

La probabilidad de preñez para cada predio fue similar a lo observado en los casos de mastitis clínica, donde el predio 2 tuvo una mayor probabilidad de preñez (18% mayor, IC 95% = 1,04-1,35; $p=0,01$) y una mejor tasa de concepción (38% para el predio 2 versus 34% en el predio 1, $p=0,01$). También el número ordinal de lactancia afectó el riesgo de preñez donde las vacas con 2 y 3 o más lactancias presentaron una menor fertilidad (79%, IC 95% = 0,68-0,93; $p=0,004$ y 86%, IC 95% = 0,74-1,00; $p=0,05$ respectivamente).

A continuación se mostrarán los resultados del análisis del efecto de la presencia de mastitis subclínica sobre la fertilidad. Los resultados de las tasas de concepción de vacas con mastitis subclínica comparado con las que no la tuvieron se muestra en la figura 10.

Figura 10. Efecto de inseminaciones asociadas a mastitis subclínica en la tasa de concepción de vacas lecheras.



La tasa de concepción de animales que presentaban mastitis subclínica cercana a la IA no fue diferente de las que no la presentaban ($p=0,61$). Esto se encuentra en oposición a lo reportado por Pinedo et al. (2009) quienes apreciaron un efecto significativo de altos conteos de células somáticas sobre la fertilidad. Sin embargo en el estudio de Pinedo et al. (2009) se utilizaron métodos similares al utilizado por Barker et al. (1998) para la mastitis clínica, puesto que se consideraban solamente primeras inseminaciones a diferencia del presente estudio. Cabe destacar que el estudio de Pinedo et al. (2009) incluyó también un número mayor de animales, por un periodo más largo de tiempo.

Posteriormente se separó la información de mastitis subclínica y tasa de concepción por predio. Los resultados se presentan en la tabla 27.

Tabla 27. Efecto de la mastitis subclínica alrededor de la IA en la tasa de concepción por predio.

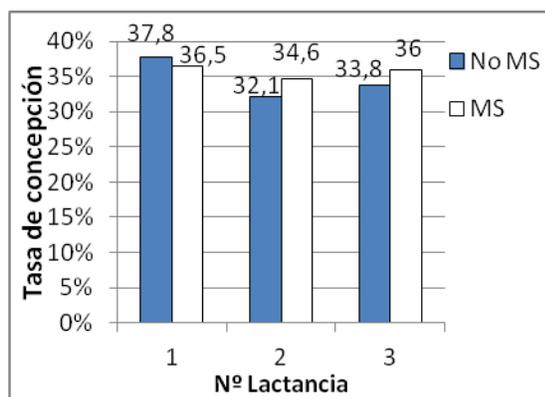
<i>Mastitis Subclínica</i>	<i>Tasa de Concepción</i>	
	Predio 1	Predio 2
No	34,2% ^a	37,3% ^a
Si	32,4% ^a	41,8% ^a

Porcentajes con diferente superíndice en columnas son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

En ambos predio no se observaron diferencias significativas en las tasas de concepción de acuerdo a la presencia de mastitis subclínica, por lo que se no existiría un efecto distinto para cada predio de la mastitis subclínicas sobre la fertilidad a la inseminación.

Luego se analizó el efecto de la mastitis subclínica sobre la fertilidad dentro de cada número de lactancia y los resultados se muestran en la figura 11.

Figura 11. Efecto de la mastitis subclínica (MS) en la tasa de concepción por número de lactancia.



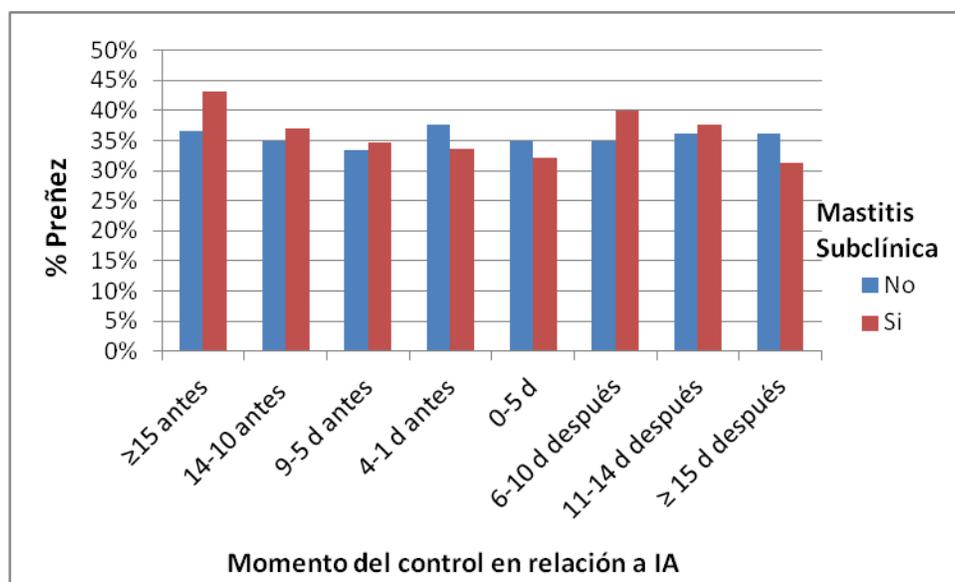
No se apreciaron diferencias en la tasa de concepción dentro de cada número de lactancia, de las vacas que no presentaron mastitis subclínica comparados con las que sí. Este resultado se encuentra en acuerdo con lo mostrado anteriormente en este estudio para la mastitis subclínica en general y para su interacción por predio donde no se pudo apreciar efectos significativos.

Considerando los efectos estudiados, no se observa un efecto significativo de la mastitis subclínica sobre la ocurrencia de gestación. Estos resultados no son consistentes con los reportados por Pinedo et al. (2009), Rezik et al. (2008) y Shrick et al. (2001). Las posibles causas podrían ser que se utilizó un menor número de animales, lo que hace necesario que para que se aprecien diferencias significativas en los análisis las diferencias en las tasas de concepción deben ser mayores. Estos resultados también podrían ser atribuibles a que se consideraron los controles más cercanos a la IA pero, como se realizan controles mensuales, el conteo podría haber sido tan alejado como 1 mes de la IA y por lo tanto no se habría manifestado el efecto en un periodo tan alejado. Otra posible explicación radica en que en estos predios las mastitis prevalentes son de origen ambiental y por lo tanto mayormente de corta duración y por tanto si las vacas cursaron con un cuadro de mastitis

subclínica ya podría haber curado la enfermedad al momento de la IA. Otra posible causa es que el presente estudio consideró animales que presentaron mastitis subclínica (puntaje mayor a 4,5) en un solo control, mientras que Shrick et al. (2001) definen una mastitis subclínica como la presencia del mismo patógeno en dos muestras consecutivas y de esta manera se tienen antecedentes mucho más específicos y confiables del estado de infección intramamaria. Sin embargo Pinedo et al. (2009) vieron efectos negativos con tan sólo un conteo elevado antes de la primera inseminación.

Los resultados para el análisis del efecto de la mastitis subclínica de acuerdo al momento del control en relación a la IA se muestran en la figura 11.

Figura 12. Efecto de la mastitis subclínica de acuerdo al momento del control relativo a la IA



No se pudo apreciar para ninguna de las 8 categorías un efecto significativo en la tasa de concepción de animales con mastitis comparados a los que no la presentaban.

Una de las razones que podría explicar la ausencia del efecto negativo es que un puntaje de células somáticas de 4,5 (equivalente a alrededor de 280.000 cel/ml) no es lo suficientemente alto como para influir en la fertilidad y no es muy diferente a puntajes menores. Esto porque se considera que no todos los animales que presentan puntajes superiores a 4,5 se encuentran cursando una infección. Por esta razón se dividió el nivel del

puntaje de células somáticas en rangos para poder determinar el efecto de las categorías más extremas del puntaje sobre la tasa de concepción de las vacas. Los resultados se muestran en la tabla 28.

Tabla 28. Efecto de los rangos de puntaje de células somáticas en la fertilidad a la inseminación.

<i>Categoría SCS</i>	<i>Preñadas</i>	<i>n° Preñadas</i>
<4,5	35,3% ^a	957
4,5-5,0	35,9% ^a	199
5,1-6,0	34,1% ^a	60
>6,0	32,5% ^a	74

Porcentajes con diferente superíndice son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

Nuevamente no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas en la fertilidad para ninguna de las categorías. Sin embargo para la categoría más extrema (>6,0) se aprecia una menor tasa de concepción pero que no fue estadísticamente significativa ($p = 0,8$).

Posteriormente se incrementó el nivel base del puntaje de células somáticas considerado como mastitis subclínica para apreciar un eventual efecto de un puntaje más elevado (donde es más probable encontrar animales que sí estén cursando una infección intramamaria) sobre la fertilidad. Para esto los datos se distribuyeron en 3 categorías considerando como límites un puntaje de $\leq 5,3$ en la escala logarítmica (equivalente a aproximadamente 500.000 cel/ml) y $\geq 6,3$ (equivalente a aproximadamente 1.000.000 cel/ml). En la tabla 29 se muestran los datos para las tasas de concepción ordenadas en estas categorías.

Tabla 29. Efecto de los niveles de células somáticas en la tasa de concepción.

<i>Categoría SCS</i>	<i>Preñadas</i>
$\leq 5,3$	35,3% ^a
5,4 - 6,3	32,8% ^a
> 6,3	33,7% ^a

Porcentajes con diferente superíndice son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

Con este ordenamiento de los datos se observaron leves diferencias entre la tasa de concepción de las categorías de mayor SCS comparado con la primera categoría (<5,3) pero los resultados no eran significativamente diferentes.

Finalmente se analizó este mismo nivel de puntaje, esta vez de acuerdo al predio (figura 12) y al número de la lactancia (figura 13).

Figura 13. Tasa de concepción por predio para las distintas categorías de SCS.

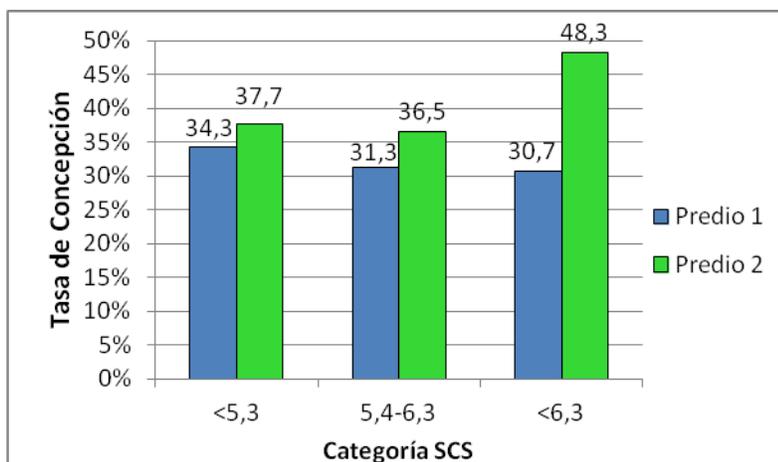
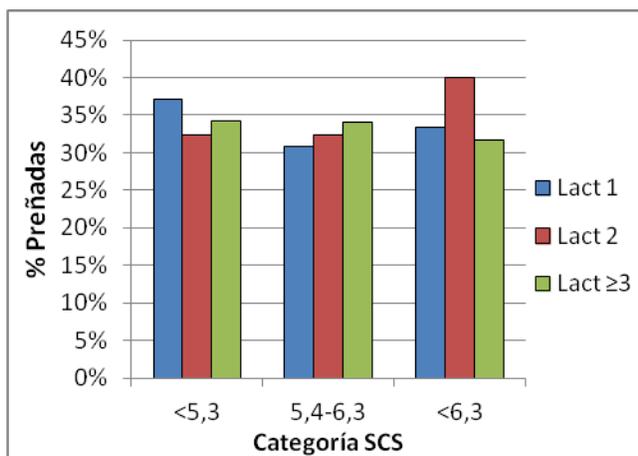


Figura 14. Tasa de concepción por número de lactancia para las distintas categorías de SCS.



Para ninguna de las dos interacciones mencionadas se apreció un efecto significativo sobre la fertilidad, ni una tendencia clara apreciándose incluso que para el predio 2 la tasa de concepción para el rango mayor de puntaje lineal fue la mayor de todas.

6.5.1 Efecto de la mastitis subclínica sobre la probabilidad de preñez

Por último se realizaron regresiones logísticas para analizar las probabilidades de preñez de acuerdo a la presencia de mastitis subclínica. Al igual que para la mastitis clínica, se realizaron análisis univariados y luego para las variables significativas se realizó un análisis multivariado.

Para la presencia o ausencia de mastitis subclínica no se presentaron resultados estadísticamente significativos que indicaran que la mastitis subclínica tenía un efecto sobre la probabilidad de preñez. Los animales que presentaron mastitis subclínica presentaron un riesgo de preñez de 94% (IC 95 = 0,76 - 1,18) comparado con los que no la presentaron (p= 0,6). Esto se encuentra de acuerdo a los resultados descritos previamente para las tasas de concepción en la prueba del chi cuadrado para la mastitis subclínica y puede verse explicado por los factores que se mencionaron en ese párrafo.

A continuación se evaluó el riesgo de preñez para ambas categorías de puntaje de células somáticas que se elaboraron, no encontrándose diferencias significativas. Estos resultados son acordes a lo encontrado previamente. En las tablas 30 y 31 se presentan los resultados para estas dos diferentes categorizaciones del puntaje de células somáticas.

Tabla 30. Resultados del análisis de regresión logística binaria para la probabilidad de preñez en relación al puntaje de células somáticas (4 categorías).

<i>Variable</i>	<i>Riesgo</i>	<i>IC (95%)</i>	<i>Valor-p</i>
Puntaje CS			
< 4,5	Ref.	----	----
4,5 – 5	1,38	0,95 - 2,01	0,0953
5,1 – 6	1,03	0,77 - 1,38	0,8363
> 6	0,89	0,67 - 1,19	0,4346

Tabla 31. Resultados del análisis de regresión logística binaria para la probabilidad de preñez en relación al puntaje de células somáticas (3 categorías).

<i>Variable</i>	<i>Riesgo</i>	<i>IC (95%)</i>	<i>Valor-p</i>
Puntaje CS			
<5,3	Ref.	----	----
5,4 - 6,3	0,89	0,65 - 1,23	0,4831
>6,3	0,93	0,67 - 1,29	0,6704

Posteriormente se hicieron análisis univariados del riesgo de preñez para mastitis subclínica en relación a los factores predio y número de la lactancia. Se separó a los animales que tuvieron mastitis subclínica y se los dividió por predio (tabla 32) y por número de lactancia (tabla 33) y se los comparó con vacas que no presentaron la enfermedad. Los resultados no mostraron diferencias significativas en los riesgos de preñez para ninguna de las categorías.

Tabla 32. Resultados del análisis de regresión logística binaria para el efecto del predio sobre la mastitis subclínica.

<i>Variable</i>	<i>Riesgo</i>	<i>IC (95%)</i>	<i>Valor-p</i>
M. Subclínica			
No	Ref.	----	----
Si			
Predio 1	0,85	0,65 - 1,11	0,2381
Predio 2	1,28	0,86 - 1,9	0,2265

Tabla 33. Resultados del análisis de regresión logística binaria para el efecto del número de lactancia sobre la mastitis subclínica.

<i>Variable</i>	<i>Riesgo</i>	<i>IC (95%)</i>	<i>Valor-p</i>
M. Subclínica			
No	Ref.	----	----
Si			
Lact 1	0,94	0,67 - 1,32	0,7336
Lact 2	1,12	0,76 - 1,66	0,5720
Lact ≥ 3	1,1	0,83 - 1,46	0,5073

Finalmente se realizó un modelo multivariado para integrar los efectos de algunas variables. Las variables consideradas habían demostrado un efecto significativo en la tasa de concepción a la prueba del chi cuadrado para la mastitis subclínica y correspondían a la probabilidad de preñez en relación al predio y al número de la lactancia. A continuación se presentan los resultados del modelo multivariado para la mastitis subclínica.

Tabla 34. Resultados del análisis de regresión logística binaria para la probabilidad de preñez de acuerdo a las variables estudiadas.

<i>Variables</i>	<i>Riesgo</i>	<i>IC (95%)</i>	<i>Valor-p</i>
M. Subclínica			
No	Ref.	----	----
Si	1,06	0,88 - 1,29	0,52
Lactancia			
1	Ref.	----	----
2	0,77	0,66 - 0,91	0,002
≥3	0,83	0,71 - 0,97	0,02
Predio 1			
Ref.	Ref.	----	----
Predio 2			
1,22	1,22	1,07 - 1,39	0,003

En la tabla 34 se puede apreciar que la fertilidad a la IA está determinada fundamentalmente por el predio y el número de lactancia y no por la presencia de mastitis subclínica como está definida en este estudio.

Respecto al efecto de la mastitis subclínica sobre la tasa de concepción y la probabilidad de preñez, existen pocos estudios que logren relacionar la manifestación subclínica de la enfermedad con un efecto en la fertilidad (Shrick et al., 2001; Rekik et al., 2008; Pinedo et al., 2009). En esta investigación no se observaron efectos que relacionaran las tasas de concepción ni las probabilidades de preñez con respecto a la enfermedad. Posiblemente estos efectos no fueron apreciables en ninguno de los niveles estudiados debido a que eran un menor tamaño muestral con respecto a los estudios anteriores y por tanto diferencias en las tasa de concepción deben ser más agudas para arrojar significancias estadísticas. Pero fundamentalmente se hace muy difícil relacionar un evento que se mide una vez al mes, como el nivel de células somáticas, con la inseminación. Para esto sería recomendable monitorear 2 controles seguidos para poder tener una mejor referencia del estado de salud mamaria. Otros estudios detectaron eventos de mastitis subclínica previo a la primera inseminación y lo asociaron a parámetros reproductivos (Shrick et al., 2001; Pinedo et al., 2009). No se tiene conocimientos que hayan sido desarrollados estudios que utilicen cualquier inseminación.

7. IMPLICANCIAS

La mastitis, es una enfermedad muy común en el ganado lechero y su presencia tiene consecuencias importantes tanto para la producción y calidad de leche como para el retorno económico de las explotaciones lecheras. Esto es válido tanto para la manifestación clínica como subclínica de la enfermedad. El manejo de la mastitis requiere de un conjunto de medidas que comprende tratamientos oportunos, protocolos claros y una prevención adecuada.

Sin embargo, la influencia de la enfermedad sobre la producción de leche no está sólo circunscrito a sus efectos sobre la producción misma y los costos económicos por concepto de menor producción de leche, descarte de leche, penalizaciones por parte de la industria y la mortandad que puede producir la enfermedad (efectos directos), sino también se encuentra afectando otros aspectos de la producción láctea que son igualmente importantes. Diversos autores han podido demostrar que la mastitis, tanto clínica como subclínica, tiene un efecto negativo en la fertilidad posterior de los animales que la sufren. Además se ha visto que, para las hijas de vacas que hayan presentado mastitis durante la preñez, existe una menor concentración de la hormona anti muelleriana que se relaciona a la cantidad de folículos antrales que poseen esas hembras.

La mastitis, es un problema de gran importancia en lecherías y debe ser abordado de manera integral, más aún cuando se conoce que la mastitis no afecta solamente a la producción de leche, sino que además puede existir un efecto menor o indirecto que es de gran importancia y que se manifiesta en la fertilidad de las vacas lecheras.

La fertilidad es otro gran aspecto a considerar en el ámbito de la producción láctea debido a que, para lograr una buena eficiencia productiva, es necesario conseguir que las vacas queden preñadas en un periodo de tiempo más bien restringido después del parto ya que, de esa manera se aprovecha de forma más eficiente la curva de producción de leche lo que se traduce en una explotación más eficiente, con menores pérdidas económicas por concepto de infertilidad y de vacas con bajas producciones de leche.

Los efectos que la mastitis tiene sobre la fertilidad tienen relación con una serie de mediadores inflamatorios que tienen acción tanto directa en el embrión como en la regulación hormonal del ciclo estral. También se relaciona con la liberación endotoxinas de algunas de las bacterias que producen la mastitis, las que tienen un potencial de

desencadenar procesos inflamatorios y además tener efectos directos sobre el embrión y las hormonas del ciclo.

Es por esto que se hace necesario generar conocimiento con respecto a los potenciales efectos negativos que tiene la mastitis sobre la reproducción, con la finalidad de buscar una producción más eficiente y rentable.

En la presente memoria, se estudió el efecto que tiene la mastitis, en su forma clínica y subclínica, en la fertilidad a la inseminación de vacas lecheras de alta producción y se pudieron apreciar resultados variados.

Para la mastitis clínica en general, se determinó que existe un efecto negativo de la enfermedad en la fertilidad en un periodo específico alrededor de la inseminación. El presente estudio, difiere de la mayoría de los otros revisados, en que consideró varias inseminaciones y no sólo la primera y en catalogar las mastitis por periodos alrededor de la inseminación. Para el caso de la mastitis clínica también se pudo apreciar que el momento de mayor efecto negativo sobre la fertilidad era cuando éstas se encontraban activas al momento de la inseminación y por lo tanto se concluye que éste es un periodo muy sensible para poder obtener una buena fertilidad a la inseminación. Esta división se realizó en sólo un estudio revisado, encontrando resultados similares. También, en la presente memoria, se pudo apreciar que las vacas que presentaron una mastitis clínica grado 3 (la de mayor severidad), tienen menor probabilidad de lograr una preñez y por lo tanto es importante que los protocolos de diagnóstico y control de los casos de mastitis apunten a evitar que el cuadro se vuelva de mayor gravedad. A nuestro conocimiento, este es el único estudio que ha reportado la relación entre la severidad de la mastitis y la fertilidad.

Para el caso de la mastitis subclínica no se pudieron apreciar efectos negativos que pudieran contribuir con una reducción de la fertilidad, como sí han demostrado otros autores. Es posible que la cantidad de animales que fueron considerados no haya sido suficiente para apreciar un efecto o que la manera de realizar los registros no permita que se demuestren estas diferencias. Esto sin embargo no implica que la mastitis subclínica no tenga efectos sobre la fertilidad si no que más bien, de manera práctica, es difícil establecer la relación entre éstas debido a que la frecuencia de toma de muestra para evaluar la calidad de la leche es bastante separada en el tiempo (usualmente 30 días), y también es importante considerar que en el presente estudio se intentó apreciar el efecto de un solo conteo de células

somáticas alto sobre la fertilidad a la inseminación y lo más probable es que varios eventos consecutivos tengan mayor efecto que sólo uno. A nuestro conocimiento, el presente es el único estudio donde se evalúa el efecto de un conteo de células somáticas alto en la fertilidad a la inseminación sin importar el número de inseminación.

Es muy importante seguir generando conocimiento con respecto a los efectos que tiene la mastitis en la producción lechera para poder generar conciencia de la magnitud de los efectos negativos que ésta enfermedad aporta para así diseñar estrategias preventivas de la enfermedad de acuerdo a momentos clave de presentación del cuadro y poder minimizar sus efectos negativos, tanto directos como indirectos.

8. CONCLUSIONES

- La mastitis clínica alrededor de la inseminación (entre 5 días antes y 20 días posteriores a ésta) tiene efectos negativos en la fertilidad de las vacas lecheras de alta producción.
- Los casos de mastitis clínica que se produjeron durante la IA disminuyeron considerablemente la probabilidad de preñez de las vacas. Los animales que presentaron mastitis clínica posterior a la IA también presentaron un deterioro significativo de la fertilidad. No se apreció un efecto negativo de los casos de mastitis que ocurrían antes de la IA sobre la fertilidad.
- Las vacas que presentaron mastitis clínica de mayor severidad (grados 2 y 3) mostraron un deterioro significativo en la probabilidad de preñez comparado con la ausencia de mastitis. No se apreció un efecto significativo cuando se analizó la severidad de la mastitis según momento de presentación sobre la fertilidad.
- El número de casos previos de mastitis clínica alrededor de la IA no mostró efectos significativos en la fertilidad.
- La mastitis subclínica en el control más cercano a la IA no presentó efectos negativos sobre la tasa de concepción ni en la probabilidad de preñez de las vacas.
- No se apreció un efecto significativo del momento de presentación de un conteo alto sobre la tasa de concepción de las vacas ni en la probabilidad de preñez.

9. REFERENCIAS

Azócar, J.E. 2001. Prevalencia, incidencia y etiología de mastitis en un centro de acopio lechero, comuna de María Pinto, Región Metropolitana. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 124p.

Barker, A. R., Schrick F.N., Lewis M.J., Dowlen H.H., Oliver S.P. 1998. Influence of clinical mastitis during early lactation on reproductive performance of Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 81:1285–1290.

Battaglia, D. F., Bowen J.M., Krasa H.B., Thrun L.A., Viguie C., Karsch J.F. 1996. Immune stress and reproductive neuroendocrine function: physiologic evidence for profound inhibition of GnRH secretion. *Biol. Reprod.* 54(Suppl. 1): 93.

Buckley F., O' Sullivan K., Mee J. F., Evans R.D., Dillon P. 2003. Relationships among milk yield, body condition, cow weight, and reproduction in spring-calved Holstein-Friesians. *J. Dairy Sci.* 86: 2308-2319.

Butler W.R., Smith R.D. 1989. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 72(3): 767- 783.

Call E.P., Stevenson J.S. 1985. Current challenges in reproductive management. *J. Dairy Sci.* 68(10): 2799- 2805.

Eicker S.W., Gröhn Y.T., Hertl J.A. 1996. The association between cumulative milk yield, days open, and days to first breeding in New York Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 79:235–241.

Emanuelson U., Funke H. 1991. Effect of milk yield on relationship between bulk milk somatic cell count and prevalence of mastitis. *J. Dairy Sci.* 74: 2479-2483.

Erskine R. J. 2001. Mastitis control in dairy herds. **In:** Radostits O. M. (Ed.) *Herd Health* 3^a Ed.: Saunders & Co, Philadelphia, USA. 397-434.

Fourichon C., Seegers H., Malher X. 2000. Effect of disease on reproduction in the dairy cow: a meta-analysis. *Theriogenology*. 53:1729–1759.

Gröhn Y.T., Eicker S.W., Hertl J.A. 1995. The association between previous 305-day milk yield and disease in New York State dairy cows. *J. Dairy Sci.*78:1693–1702.

Hertl J.A., Gröhn Y.T., Leach J.D.G., Bar D., Bennett GJ, González RN, 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.*93:1551–1560.

Hillers J.K., Senger P.L., Darlington R.L., Fleming W.N. 1984. Effects of production, season, age of cow, days dry, and days in milk on conception to first service in large commercial dairy herds. *J. Dairy Sci.*67: 861.

Hockett M.E., Almeida R.A., Rohrbach N.R., Oliver S.P., Dowlen H.H., Schrick F.N. 2005. Effects of induced clinical mastitis during preovulation on endocrine and follicular function. *J Dairy Sci.*88:2422–2431.

International Dairy Federation. IDF. 1999. Suggested interpretation of mastitis terminology. *IDF Bulletin*. 338:3-20.

Kelton D.F., Petersson C.S., Leslie K.E., Hansen D. 2001. Associations between clinical mastitis and pregnancy on Ontario dairy farms. 2nd international Symposium on Mastitis and Milk Quality. Vancouver, BC, Canada.

Loeffler S.H., de Vries M.J., Schukken Y.H. 1999. The effects of time of disease occurrence, milk yield, and body condition on fertility of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:2589–2604.

Lucy M.C. 2001. Reproductive loss in high producing dairy cattle: where will it end?. *J. Dairy Sci.* 84(6): 1277- 1293.

Meléndez P., Pinedo P.J. 2010. Patrones temporales de recuento de células somáticas, grasa, proteína y nitrógeno ureico en leche de estanque y su asociación con fertilidad en ganado lechero en la zona centro-sur de Chile. *Arch. Med. Vet.* 42: 41-48.

Miller R.H., Clay J.S., Norman H.D. 2001. Relationship of somatic cell score with fertility measures. *J. Dairy Sci.* 84:2543–2548.

Moore, D. A., and M. L. O'Connor. 1993. Coliform mastitis: Its possible effects on reproduction in dairy cattle. Proceedings of the 32nd Annual Meeting. National Mastitis Council, Natl. Mastitis Council, Inc., Madison, WI. 162-166.

Moraga, L., Agüero, H., Bezama, B., Morales, M.A. 1994. Evolución de la prevalencia de mastitis bovina en lecherías de la Región Metropolitana, Chile. *Av. Cien. Vet.* 9: 24-28.

National Mastitis Council. 1996. Current concepts of bovine mastitis. 4^a ed. National Mastitis Council Inc., Madison WI.

National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Seventh revised edition. National Academy Press. 408 p.

Olds D., Cooper T., Thrift F.A. 1979. Effect of days open on economic aspects of current lactation. *J. Dairy Sci.* 62:1167.

Oltenacu P.A., Senatore, E. M., Butler W.R. 1996. Relationships between energy balance and postpartum ovarian activity and fertility in first lactation dairy cows. *J. Anim. Sci.* 62:17–23.

Pace M., Michael N. s/f. Dispelling the myths of artificial insemination. [en línea] <http://usa.absglobal.com/tech_serv/resources/resourcefiles/dairy/AIArticle.pdf>

[Consulta: 12-06-2010]

Pinedo, P., Meléndez, P., Villagomez-Cortes, J., Risco, C. 2009. Effect of high somatic cell counts on reproductive performance of Chilean dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 92:1575-1580.

Rekik, B., Ajili N., Belhani H., ben Gara A., Rouissi H. 2008. Effect of somatic cell count on milk and protein yields and female fertility in Tunisian Holstein dairy cows. *Livestock Sci.*, 116: 309-317.

Schrack F.N., Hockett M.E., Saxton A.M., Lewis M.J., Dowlen H.H., Oliver S.P. 2001. Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *J. Dairy Sci.* 84: 1407-12.

Soto, P., Natzke R. P., Hansen P.J. 2003. Identification of possible mediators of embryonic mortality caused by mastitis: actions of lipopolysaccharide, prostaglandin F₂ α , and the nitric oxide generator, sodium nitroprusside dihydrate, on oocyte maturation and embryonic development in cattle. *Am. J. Reprod. Immunol.* 50: 263-272.

Van Schaik G., Lotem M., Schukken Y.H. 2002. Trends in somatic cell counts, bacterial counts, and antibiotic residue violations in New York State during 1999-2000. *J. Dairy Sci.* 85: 782-789.