

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



EL COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE VACAS HOLSTEIN FRIESIAN
EN CONDICIONES SEMIDESÉRTICAS SE AFECTA POR EL NIVEL DE
CÉLULAS SOMÁTICAS

Tesis

Que presenta JUAN ROBERTO ESTEBAN ANDRES

como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

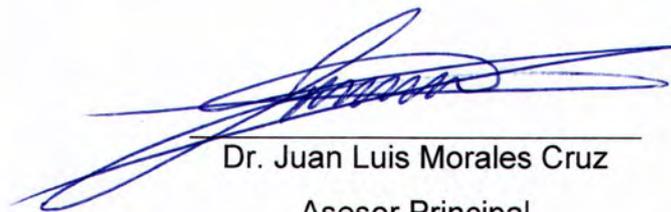
Torreón, Coahuila

Diciembre 2021

EL COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE VACAS HOLSTEIN FRIESIAN
EN CONDICIONES SEMIDESÉRTICAS SE AFECTA POR EL NIVEL DE
CÉLULAS SOMÁTICAS

Tesis

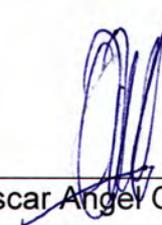
Que presenta JUAN ROBERTO ESTEBAN ANDRES como requisito parcial para
obtener el grado de Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria con la
supervisión y aprobación del comité de asesoría.



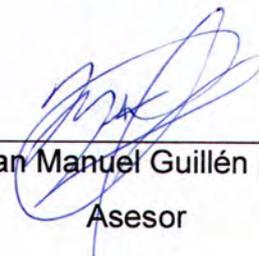
Dr. Juan Luis Morales Cruz
Asesor Principal



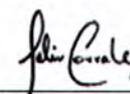
Dr. Carlos Leyva Orasma
Asesor



Dr. Oscar Angel Garcia
Asesor



Dr. Juan Manuel Guillén Muñoz
Asesor



Dr. Alex Solís Corrales
Asesor



Dra. Leticia Romana Gaytán Alemán
Jefa del Departamento de Postgrado



Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente
Subdirector de Postgrado

AGRADECIMIENTOS

A DIOS, por brindarme salud, sabiduría, y ayudarme a sobreponerme de las dificultades que en el camino surgieron, por haberme permitido realizar y culminar esta etapa tan importante de mi vida.

A mis Padres, Alfredo Esteban Figueroa y Silvia Andres Mendoza, los amo con el corazón, gracias por brindarme siempre amor y apoyo condicional, por inculcarme buenos valores que han forjado a la persona que actualmente soy, me formaron con reglas y con algunas libertades, pero siempre me motivaron para realizar mis anhelos, han sido la guía para poder llegar a este punto de mi vida, no existe un solo día que no piense en ustedes, por eso y muchas cosas más, muchas gracias.

A mi Esposa e Hijos, Melisa López, el apoyo incondicional que me has brindado ha sido sumamente importante en este caminar, estuviste a mi lado inclusive en momentos tormentosos y difíciles, siempre apoyándome para no rendirme, me has ayudado hasta donde te era posible, incluso más que eso. Emilio, Mateo y Desirée, me han cambiado la vida totalmente, han sido mi más grande inspiración para salir adelante y sobreponerme a las adversidades, son la fuerza que necesito todos los días y la más hermosa responsabilidad que la vida me regalo, ustedes son mi principal motivación, los amo con el corazón.

A mis hermanos, Paty, Roció, Alexander, Silvia (Lulú) les agradezco infinitamente todo el apoyo brindado, su amor, comprensión y la confianza que depositan en mi para seguir superándome día a día, tanto en mi vida personal como profesional, mis sobrinos adorados, Paola, Marisol, Laura, Alfredo, María José, Alexander y Silvia Alexa, sé que saben el gran amor que siento por ustedes, los amo con el corazón.

A mi Alma Mater UAAAN-UL, por darme la oportunidad de formarme como profesionista en sus aulas. A los investigadores y docentes del postgrado en Ciencias en Producción Agropecuaria, por sus clases y enseñanzas.

A mi Asesor principal, el Dr. Juan Luis Morales Cruz, por las enseñanzas, dedicación y apoyo que me ha brindado para la realización de este trabajo de investigación, junto con mis compañeros del laboratorio del CBR, Hugo Guerrero, Bertha Pereda, gracias por compartir sus conocimientos, y a todos con los que compartí grandes experiencias de aprendizaje en el laboratorio y trabajos en campo.

A CONACYT, por su apoyo brindado para realizar esta maestría y trabajo de investigación.

A todos, Muchas gracias.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Hipótesis	3
1.2. Objetivo general.....	3
1.3. Objetivos específicos	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Definición de la Mastitis	4
2.2. Clasificación de la Mastitis	4
2.2.1. Mastitis Subclínica	5
2.2.2. Mastitis Clínica	5
2.3. Factores de riesgo de aumento de células somáticas en la leche.....	8
2.4. Algunas pruebas para medición de células somáticas.....	9
2.5. Efecto de la mastitis bovina en el comportamiento de los indicadores reproductivos.....	11
2.6. Respuesta sistémica y perfil endocrino de vacas afectadas por mastitis.....	14
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
3.1. General.....	16
3.2. Localización y condiciones climáticas de la región donde se desarrolló el estudio.....	16
3.3. Animales experimentales.	17
3.4. Diseño experimental.....	18
3.5. Variables evaluadas	18
3.6. Análisis estadísticos:	18
4. RESULTADOS	20
5. DISCUSION.....	21

6. CONCLUSION.....	25
7. LITERATURA CITADA	26

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Efecto del nivel de células somáticas entre el día del parto a la gestación \pm EE en el comportamiento reproductivo de vacas Holstein Friesian.....	20
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. FACTORES DE RIESGO DE LA ENFERMEDAD QUE SE CLASIFICAN EN TRES GRUPOS: HUÉSPED (VACA O BÚFALO), PATÓGENO (MICROORGANISMOS) Y MEDIO AMBIENTE.	9
FIGURA 2. DIAGRAMA DE FLUJO QUE MUESTRA EL POSIBLE MECANISMO EN EL EFECTO DE LA MASTITIS EN LA REPRODUCCIÓN EN GANADO LECHERO. ¡ ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.	
FIGURA 3. LOCALIZACIÓN DE LA REGIÓN DONDE SE DESARROLLO EL ESTUDIO... ..	17

RESUMEN

EL COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE VACAS HOLSTEIN FRIESIAN EN CONDICIONES SEMIDESÉRTICAS SE AFECTA POR EL NIVEL DE CÉLULAS SOMÁTICAS.

Por:

Juan Roberto Esteban Andres

Para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna

Director de tesis: Dr. Juan Luis Morales Cruz

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar los niveles de células somáticas en el comportamiento reproductivo de vacas Holstein Friesian en condiciones semidesérticas. Se realizó un estudio retrospectivo de un año (2015) empleándose para estos una muestra de 884 dividas por el nivel de conteo de células somáticas (CCS), sanas (n= 584) con CCS expresado en miles de <200 células/ml de leche; con mastitis subclínica (n= 105) con nivel de 200-400 células/ml de leche y con mastitis clínica (n= 195) con nivel >400 células/ml. de leche. Se utilizó el modelo GLIMMIX presente en el SAS Versión 9.3. Se probaron las distribuciones para lograr un mejor ajuste (Normal, Binomial, Poisson y Gamma), la distribución de mejor ajuste fue, Gamma con su correspondiente función de enlace que en este caso fue el log (logaritmo natural). Para la tasa de concepción Se utilizó un análisis de Chi cuadrado. El paquete estadístico utilizado fue el Infostat. Versión 2012. En las vacas afectadas de mastitis subclínica y clínica se incrementaron los días abiertos ($P<0.0001$), el número de servicios por concepción ($P<0.0001$) y disminuyó significativamente la tasa de concepción al primer servicio ($P<0.001$) y segundo servicio ($P<0.01$), con respecto a las sanas. La severidad del proceso inflamatorio de la glándula mamaria expresado por el

nivel de células somáticas, ejerce un efecto deletéreo en el comportamiento reproductivo de las vacas Holstein Friesian en sistema de producción intensivo en condiciones climáticas semidesérticas.

Palabras clave: células somáticas, indicadores reproductivos, tasa de concepción, fertilidad, Holstein.

ABSTRACT

THE REPRODUCTIVE BEHAVIOR OF HOLSTEIN FRIESIAN COWS IN SEMI-DESERT CONDITIONS IS AFFECTED BY THE LEVEL OF SOMATIC CELLS.

By:

Juan Roberto Esteban Andres

To obtain the degree of Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna

Thesis director: Dr. Juan Luis Morales Cruz

The objective of this study was to evaluate the levels of somatic cells in the reproductive behavior of Holstein Friesian cows in semi-desert conditions. A one-year retrospective study (2015) was conducted using a sample of 884 divided by the level of somatic cell count (CCS), healthy (n = 584) with CCS expressed in thousands of <200 cells / ml of milk; with subclinical mastitis (n = 105) with a level of 200-400 cells / ml of milk and with clinical mastitis (n = 195) with a level > 400 cells / ml. milk. The GLIMMIX model present in SAS Verion 9.3 was used. The distributions were tested to achieve a better fit (Normal, Binomial, Poisson and Gamma), the distribution of best fit was, Gamma with its corresponding link function which in this case was the log (natural logarithm). For the conception rate, a Chi square analysis was used. The statistical package used was Infostat. Version 2012. In cows affected by subclinical and clinical mastitis, the days open (P <0.0001), the number of services per conception (P <0.0001) and the conception rate at the first service (P <0.001) decreased significantly (P <0.001) and second service (P <0.01), with respect to healthy ones. The severity of the inflammatory process of the mammary gland, expressed by the level of somatic cells, exerts a deleterious effect on the reproductive behavior of Holstein Friesian cows in an intensive production system under semi-desert climatic conditions.

Key words: somatic cells, reproductive parameters, conception rate, fertility, Holstein.

1. INTRODUCCIÓN

El comportamiento reproductivo del ganado se ve influenciado por múltiples factores, entre estos se encuentra la mastitis que es una inflamación de la glándula mamaria y es de las enfermedades con mayor incidencia y prevalencia en todo el mundo (Lavon *et al.*, 2010; Roth y Wolfenson 2016; Santos *et al.*, 2018) esta enfermedad puede tener etiología infecciosa y no infecciosa (Ahmadzadeh *et al.*, 2009; Wolfenson *et al.*, 2015). En cuanto a su diagnóstico se ha demostrado que el nivel de células somáticas en la leche es un indicador de la presencia de mastitis (Li, *et al.*, 2014). Desde el punto de vista económico la mastitis en el ganado productor de leche llega a costar aproximadamente \$2 billones anuales (Gómez-Cifuentes *et al.*, 2014) y en concordancia con el NMC (2009) las pérdidas por esta enfermedad oscilan entre 150.0 y 300.0 USD /vaca/año, mientras en la India se informaron mermas que alcanzan los 6532 millones de dólares anuales (Seeger *et al.*, 2003; Kumar *et al.*, 2017) y de acuerdo a Bedolla y Ponce de León (2008) las vacas producen 5% menos leche por cada 100,000 células somáticas en cada ml de leche. En consecuencia, se han implementado desde hace varias décadas programas que tratan sobre técnicas de manejo con el objetivo de disminuir la prevalencia de esta enfermedad (Bradley, 2002) dado el efecto negativo que ejerce esta condición en la cantidad, la calidad de la leche, y como causa importante de desechos del ganado productor de leche (Nielsen, 2009). En diversos países, y México no es la excepción, la prevalencia de esta enfermedad es elevada (Santos *et al.*, 2004). En la mayoría de los estudios, la relación entre el nivel de células somáticas y el comportamiento reproductivo no se abordan ampliamente (Saidi *et al.*, 2013) y pocas veces se reflexiona acerca de la relación existente entre los niveles mencionados y los indicadores reproductivos. La mastitis subclínica medida por el nivel de células somáticas (Li, *et al.*, 2014), tiene una elevada prevalencia en el ganado productor de leche y aún más en las vacas de alto potencial genético (Sharma *et al.*, 2017; Olechnowicz y Jaskowski, 2013). Es un problema global que afecta la salud animal (LeBlanc *et al.*, 2006; Asaf *et al.*, 2014; Wolfenson *et*

al., 2019) y al comportamiento reproductivo de acuerdo a mediciones de los indicadores reproductivos tradicionales como los días abiertos, servicios por concepción y tasa de concepción. En condiciones semidesérticas se ha observado que la presencia de mastitis subclínica o clínica conlleva a una disminución de la eficiencia del comportamiento reproductivo y también en la eficiencia en las biotecnologías de la reproducción como lo es la Inseminación Artificial (IA) y Producción *in vitro* de embriones (PIVE) (Chebel, 2007; Roth *et al.*, 2013; Morales *et al.*, 2016; Morales, 2018) pudiendo llegar a la eliminación prematura de las vacas (Santos y Ribeiro, 2014; Lavon *et al.*, 2016).

Las células somáticas son un predictor de la salud de la glándula mamaria, su aumento se relaciona con la presencia de mastitis subclínica (Morris *et al.*, 2013) por ello es importante controlar y monitorear sus niveles ya que podría pensarse que el aumento de los niveles de estas afecta la fertilidad, y al conocer los niveles de células somáticas y relacionarlo con el comportamiento reproductivo de los animales se podría tomar medidas de control y así coadyuvar en la eficiencia del comportamiento productivo y reproductivo de las vacas lecheras.

Sin embargo, en ganado Holstein Friesian alto productor en producción intensiva en condiciones semidesérticas son muy pocos los reportes que evidencian esta posible relación de la enfermedad y los niveles de células somáticas con la reproducción. Nosotros hipotetizamos que el comportamiento reproductivo disminuye conforme aumenta el nivel de células somáticas de vacas Holstein Friesian. El objetivo de este estudio fue evaluar los niveles de células somáticas en el comportamiento reproductivo de vacas Holstein Friesian en condiciones semidesérticas.

1.1. Hipótesis

Los altos niveles de células somáticas influyen negativamente sobre el comportamiento reproductivo en vacas Holstein Friesian.

1.2. Objetivo general.

Evaluar los niveles de células somáticas y su relación con el comportamiento reproductivo de vacas Holstein Friesian en condiciones semidesérticas.

1.3. Objetivos específicos

- Determinar los días abiertos (DA).
- Evaluar los Servicios por concepción (SC).
- Analizar la Tasas de concepción (TC) a 1er y 2do servicio.
- Evaluar la Tasa de concepción acumulativa (TCA).

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Definición de la Mastitis:

La mastitis bovina, es un proceso inflamatorio de la glándula mamaria, la cual se origina generalmente en respuesta al ingreso de microorganismos a través del pezón, esta enfermedad puede tener etiología infecciosa y no infecciosa, siendo la primera la más importante (Cheng *et al.*, 2010), que con frecuencia es provocada por diferentes tipos de microorganismos, como lo son bacterias, micoplasmas, hongos, levaduras y algunos virus, sin embargo, las bacterias de los géneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Escherichia coli* (*E. coli*) *Pseudomonas* spp, son responsables de la mayoría de casos clínicos y subclínicos (Ballou, 2012). Esta enfermedad daña el parénquima de la glándula mamaria, generalmente son bacterias que invaden la ubre, multiplicándose y produciendo toxinas que son dañinas para la glándula mamaria (Sharma *et al.*, 2006).

La mastitis es una de las enfermedades más comunes en las vacas lecheras y es la de mayor importancia por su impacto en pérdidas económicas en la industria lechera en todo el mundo (Viguiet *et al.*, 2009), se caracteriza por cambios físicos, químicos y generalmente bacteriológicos en la leche, además de provocar alteraciones patológicas en los tejidos de glándula mamaria, afectando la producción en la calidad y cantidad de leche, aumentando también los costos en el tratamiento de animales enfermos, y el riesgo de sacrificio de animales y aparición de otras enfermedades (Sharma, 2007), existen estudios que evidencian que sólo esta enfermedad puede representar hasta el 38 % de los costos de las enfermedades en un hato (Bradley, 2002).

2.2. Clasificación de la Mastitis:

Esta enfermedad tiene diversas formas de clasificación, y se toman en consideración muchos factores, como son: duración del proceso, apariencia clínica y etiología, curso, severidad y diseminación de la enfermedad. Sin embargo, la clasificación más generalizada se realiza de acuerdo con el grado de

inflamación según su curso o severidad (Novoa, 2003). El curso de esta enfermedad es muy variado, definiéndose dos formas principales de expresión; la subclínica que el diagnóstico se basa en niveles de células somáticas en la leche y la clínica basado en función de los signos cardinales de la inflamación y el estado general del animal. En ambos casos puede haber presentación súper aguda, aguda, sub-aguda y crónica (NMC, 1999).

2.2.1. Mastitis Subclínica:

La mastitis subclínica constituye un riesgo de transmisión de enfermedades zoonóticas a la especie humana (Bachaya *et al.*, 2011). Una de las principales características de esta enfermedad es que no presentan signos visibles, la vaca se ve saludable, la ubre no presenta ningún signo de inflamación ni de dolor y la leche es aparentemente normal, pero existe una disminución en la producción de secreción láctea y un aumento en el conteo de células somáticas, lo cual, nos indica la existencia de cierta inflamación, junto con un aumento del número de bacterias en la ubre, en la práctica este tipo de mastitis es muy difícil de detectar a tiempo y tiene un mayor impacto en animales con mayor número de lactaciones que en animales jóvenes (Saidi *et al.*, 2013). Esta presentación de mastitis se detecta solamente aplicando métodos de laboratorio para medir el conteo de células somáticas y realizar un cultivo bacteriológico (Hettinga *et al.*, 2008) de no realizarse las pruebas correspondientes, se corre con el riesgo de pérdidas económicas mayores.

2.2.2. Mastitis Clínica:

Es un proceso anormal de la glándula mamaria de la vaca o la leche, y los síntomas pueden ser fácilmente observable. Es caracterizada por presentarse de manera súbita, hay tumefacción, dolor y enrojecimiento de la ubre, disminución de la producción y alteraciones en la calidad de la leche de los cuartos afectados debido a la presencia de microorganismos. La leche puede presentar una apariencia anormal, con consistencia de agua o de color amarillenta, puede contener coágulos, grumos y en algunos casos los animales presentan un

aumento de la temperatura corporal, depresión y falta de apetito, lo cual afecta significativamente el rendimiento y la producción de los animales (Hillerton y Berry, 2005; Bolaños *et al.*, 2012). La mastitis clínica es diagnosticada como tal, cuando la inflamación de la ubre es acompañada de signos clínicos, puede presentarse de forma aguda y se caracteriza por su repentina aparición.

Mastitis crónica:

Se define como la inflamación del tejido glandular mamario, que presenta una infección de larga duración que pueden ser meses o incluso años, se presenta casi siempre en forma subclínica, y eventualmente tiene presencia con complicaciones clínicas, como por ejemplo la leche de apariencia anormal y cambios al realizar la palpación del tejido de la ubre que pueden ser del tipo fibrosis (Schrick *et al.*, 2001). Es una fuente importante de diseminación de la enfermedad en el hato y causa importante de eliminación de las vacas (Martin *et al.*, 2013).

Mastitis no bacteriana:

Se conoce también como mastitis aséptica o no específica, y se origina cuando existe inflamación mamaria, donde los microorganismos no pueden ser aislados a partir de muestras de leche y comúnmente se da por fallas en la presión de los pulsadores de la máquina de ordeño. Los casos pueden presentarse en forma subclínica o clínica (NMC., 1999).

La gran mayoría de los casos de mastitis son causados por un número de microorganismos específicos, y desde el punto de vista epidemiológico se pueden clasificar en: contagiosas, ambientales y otros estafilococos coagulasa negativos (SCN) (Shudan y Sharma, 2010).

Mastitis contagiosa:

Su fuente principal de diseminación son las máquinas de ordeño y se da en el momento que las vacas son ordeñadas, también al momento del secado de las ubres con manos sucias y trapos contaminados, esta se transmite de vaca a vaca

y de pezón a pezón, debido a que el agente infeccioso se encuentra habitando dentro de la glándula mamaria de los animales enfermos. Los principales agentes causales son: (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis*, especies de *Mycoplasma*), común en infecciones subclínicas y su prevalencia general es aproximadamente 60 – 70% de los casos (Barkema *et al.*, 2006).

Mastitis ambiental:

Los microorganismos que producen la mastitis ambiental, regularmente se encuentran alrededor de donde viven las vacas, los corrales, la cama, el piso, echaderos, el agua estancada, las instalaciones mal diseñadas pueden contribuir a una mayor incidencia de mastitis ambiental. Estos microorganismos se transmiten del medio ambiente donde viven las vacas, por ejemplo en las camas y echaderos y son transportados al pezón al momento del ordeño, y difícilmente puede ser eliminados del hato, por ser de naturaleza ambiental. Esta infección aumenta la carga de patógenos en el ambiente con el calor y en los meses de más humedad, generalmente estos microorganismos producen mastitis en el periodo seco, al principio de este, sobre todo cuando no hay un buen manejo al secado como la antibioterapia, o al final del periodo cuando inicia la colostrogénesis (Bradley y Green 2001). Los agentes causales en este tipo de mastitis son las especies de *Streptococcus* ambiental (*S. uberis*, *S. fecalis*, *S. disgalactiae*) y coliformes (habitantes del suelo e intestinos de las vacas). Producen toxinas y producen generalmente mastitis agudas: (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Enterobacter aerogenes* y *Citrobacter*). No obstante, en muchos países el *S. aureus* es el mayor causante de mastitis subclínica y el patógeno puramente ambiental que causa mastitis crónica (Zadoks *et al.*, 2011).

Mastitis por Estafilococos coagulasa negativos (SCN):

Los Estafilococos coagulasa negativa, regularmente son considerados como patógenos menores de mastitis, y son microorganismos que viven en la piel de

los pezones y pueden ser transportados de un lugar a otro por las manos del ordeñador. Objetos como jeringas, guantes y aguas contaminadas con estos agentes pueden ser fuente de infección constante. La mastitis causada por los SCN es muy leve y por lo regular la afectación que genera es de tipo subclínica, no obstante, no se debe de menospreciar su importancia, debido a que en diversos países ha sido una de las principales causantes de mastitis más comunes (Sharma *et al.*, 2012). Generalmente los agentes causales son: *Serratia* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, asteroides *Nocardia*, *Prototheca* spp, *Candida* spp, *Arcanobacterium pyogenes*, (Shudan y Sharma, 2010).

2.3. Factores de riesgo de aumento de células somáticas en la leche:

Existen diversos factores de riesgo para el aumento de las células somáticas como son: las prácticas de manejo con una incorrecta higiene, si no se realiza una correcta limpieza de toda la ubre y las glándulas mamarias, aumentara rápidamente la proliferación bacteriana (Armenteros *et al.*, 2002), el número de lactancias, la estación (Martin *et al.*, 2013), el huésped, en este caso la raza la Holstein Friesian por ejemplo, son muy susceptibles a elevar sus células somáticas y contraer mastitis, debido a que son animales con estándares de alta producción láctea, otros factores de riesgo son el método de ordeño e intervalo entre ordeños, el equipo de ordeño, la dieta (Cu, Co, Zn, Selenio y deficiencia de vitamina E), la profundidad del balance energético negativo (Risco, 2009), la prolongación del periodo seco (Pinedo *et al.*, 2011), los asociados con la herencia y la edad (Carlén, 2008), debido a que esta incidencia aumenta con la edad de la vaca (Sharma y Maiti, 2010), entre otros, se ha informado que son importantes en la prevalencia y epidemiología de la mastitis tanto clínica como subclínica, y el identificar estos factores de riesgo, puede ayudar al desarrollo de estrategias para el control, prevención y tratamiento de esta enfermedad.

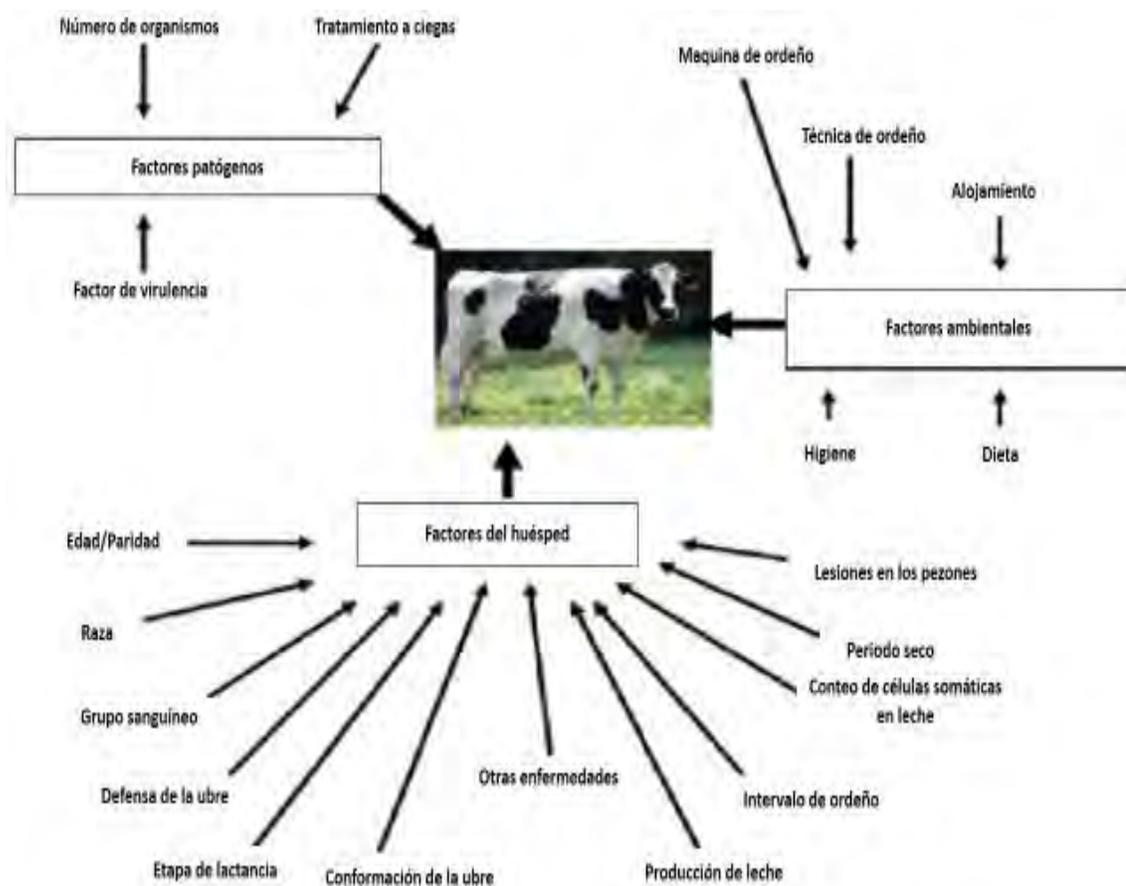


Figura 1. Factores de riesgo de la enfermedad que se clasifican en tres grupos: huésped (vaca o búfalo), patógeno (microorganismos) y medio ambiente, adaptado de Sharma *et al.*, 2012.

2.4. Algunas pruebas para medición de células somáticas

Debido a la importancia de esta enfermedad a nivel mundial, en todos los hatos lecheros se utilizan aspectos básicos para el diagnóstico de la mastitis bovina, como la observación de los niveles de células somáticas, de los signos clínicos del animal, los aspectos de la glándula mamaria, palpación de la ubre o cuarto afectado, como también cambios en la leche al momento del ordeño (Rahman *et al.*, 2010). En caso de mastitis crónica, se pueden observar algunos cambios que puedan sufrir en la glándula mamaria, como tumefacción, calor o dolor, aunado a alteraciones físicas en la leche, grumos, coágulos o secreciones anormales y a veces sanguinolenta (Bolaños *et al.*, 2012).

Prueba de California para Mastitis (CMT):

Este método de diagnóstico es muy práctico y económico, la prueba consiste en agregar un reactivo conocido como lauril sulfato de sodio al 3%, que se une al ADN de los leucocitos presentes en la ubre y estos a su vez con material proteico de la leche, convirtiéndose en estructuras fibrosas y de aspecto gelatinoso en la leche (Bedolla, 2007).

Esta técnica se ha empleado durante mucho tiempo y sigue siendo una de las más utilizadas y efectivas en pruebas de campo para la detección de mastitis en el ganado lechero, siendo una prueba muy sencilla y de rápida aplicación, no proporciona un resultado numérico, pero si valora el recuento de células en la leche, mientras más elevado sea el nivel de células se considera sospechoso de alguna infección, los resultados pueden observarse e interpretarse, desde el resultado negativo donde el reactivo junto con la leche no pierden su forma líquida, hasta encontrarse niveles de células más elevados, donde al mezclar la leche con el reactivo, se pueden encontrarse grumos o hasta perder su forma acuosa llegando a un estado gelatinoso (Bolaños *et al.*, 2012).

Prueba de Wisconsin para Mastitis (WMT):

Esta prueba se realiza en el laboratorio, y se utiliza una solución similar a la prueba de California para detectar el conteo de células somáticas en las muestras de leche, ya sea fresca o de los tanques de enfriamiento. Los resultados de esta prueba se miden cuantitativamente dependiendo del grado de viscosidad a diferencia de la prueba de California que se mide cualitativamente (Bedolla, 2004).

Conteo de Células Somáticas (CCS):

Este método de diagnóstico es uno de los más exactos para la identificación de mastitis subclínica en el ganado bovino, y es de los más utilizados en los programas de control (Viguier *et al.*, 2009), consiste en la medición de células somáticas presentes en la leche, ya sea de tipo sanguíneo o epiteliales, esta medición nos sirve como indicador de procesos inflamatorios en la ubre, ya sea

de origen infeccioso o traumático. El conteo de estas células se encuentra en las vacas sanas a una concentración <200.000 células/ml de leche; con mastitis subclínica con nivel de 200.000-400.000 células/ml de leche y con mastitis clínica con nivel >400.000 células/ml de leche (Roth *et al.*, 2013).

También existen las pruebas físicas para el diagnóstico de mastitis bovina, como la prueba de la escudilla de ordeño, prueba del paño negro y la taza probadora, con muy buenos resultados cuando la mastitis es clínica, no siendo buena técnica de diagnóstico en mastitis subclínica (Bolaños *et al.*, 2012).

Otro método utilizado para el diagnóstico del nivel de células somáticas en la leche de bovinos es el de conteo electrónico celular, este método es utilizado en los laboratorios de control lechero dedicados al diagnóstico o investigación sobre la mastitis, se utilizan aparatos especializados que se encargan del conteo celular, midiendo con una alta precisión y exactitud los resultados y registrando los datos automáticamente, algunos de los aparatos más utilizados son: Bactoscan, Fossomatic (Foss Electric, Dinamarca) y el Counter Coulter (Coulter, Inglaterra) (Bedolla, 2004).

La termografía infrarroja (TRI) es otro procedimiento empleado para el diagnóstico en la mastitis bovina basado en el aumento de temperatura generado por la glándula mamaria. Esta prueba tiene un alto valor predictivo para diagnosticar los casos clínicos positivos de mastitis (95.0 %), similar al obtenido mediante el CCS (99.2%). Por consiguiente, es un procedimiento adecuado para determinar el inicio de la mastitis subclínica (Polat *et al.*, 2010).

2.5. Efecto de la Mastitis bovina en el comportamiento de los indicadores reproductivos:

Las afectaciones por la mastitis se pueden presentar de forma clínica, ya sea por cambios observables en la ubre o leche y de forma subclínica, por el aumento de las células somáticas en la leche, en ambos casos hay disminución de la producción de leche y afectaciones en el comportamiento reproductivo (Bradley, 2002).

El comportamiento reproductivo de las vacas lecheras, se puede ver afectado debido a mecanismos relacionados como la fiebre y a las citoquinas inflamatorias que aumentan en vacas con mastitis (Soto *et al.*, 2003a). Un predictor de salud de la ubre de las vacas son las células somáticas, el aumento de estas células en la leche es un indicativo de mastitis subclínica (Li, *et al.*, 2014), y aunque los signos no sean visibles, es existente una mala salud del animal y de la ubre, de ahí la importancia de monitorear y controlar sus niveles, para mejorar el comportamiento reproductivo y la producción de las vacas lecheras.

Diversos estudios han informado que animales con mastitis han presentado un aumento de días hasta el primer servicio, aumento de servicios por concepción y los días hasta la concepción, aunado a un aumento en abortos (Santos *et al.*, 2004; Ahmadzadeh *et al.*, 2009), Otros estudios reportaron que las vacas con mastitis clínica durante el posparto tuvieron un alargamiento en el periodo parto primer celo y el periodo parto concepción, aunado, a que el número de servicios por concepción aumento en las vacas afectadas con mastitis que en las vacas sanas (Gunay y Gunay, 2008). Estas incidencias son observables en ambas presentaciones de mastitis, clínica y subclínica, no obstante, cuando la mastitis subclínica avanza a casos clínicos, el impacto es mayor y el resultado del desempeño productivo y reproductivo es más deficiente (Schrick *et al.*, 2001).

Desde años atrás se han hecho estudios que han demostrado que la mastitis afecta la eficiencia reproductiva del ganado bovino, influyendo negativamente sobre la fertilidad (Risco *et al.*, 1999). Se han estudiado registros de hatos lecheros donde las vacas con mastitis presentan días abiertos más prolongados que las que no la padecieron, y las vacas que padecieron mastitis en la lactancia temprana tuvieron menos probabilidad de ser inseminadas por primera vez a los 60 días posparto, con un intervalo parto-primer servicio más prolongado (Oresnik, 1995; Eicker *et al.*, 1996).

Se ha corroborado que las vacas con cuadros de mastitis diagnosticadas gestantes al día 28 después de ser inseminadas artificialmente, tienen 2.4 veces más riesgo de pérdida de preñez a los 35 días que las vacas que no presentan

esta afectación (Moore *et al.*, 2005), también se ha verificado una correlación negativa entre la presencia de mastitis y el establecimiento de la preñez en vacas Holstein (Santos *et al.*, 2004).

Se ha analizado que las vacas afectadas con mastitis durante la lactación temprana, tienen la primera ovulación post-parto más retardada que las que no padecieron la enfermedad, de igual forma sucedió al evaluar el primer celo posterior al parto, en las vacas sanas fueron menos días y en las vacas enfermas más prolongadas (Huszenicza *et al.*, 2005).

Otras investigaciones han demostrado que las vacas con mastitis clínica antes del primer servicio, tuvieron un periodo parto primer celo más prolongado de 136 días, con respecto a las sanas con un periodo de 98 días, de igual manera, el periodo de parto concepción, tuvo un periodo significativamente más largo de 187 días en las vacas afectadas y 143 en las vacas sanas. Sin embargo, este suceso solo afectó el comportamiento reproductivo de las vacas multíparas cuando su ocurrencia se produjo en los primeros 62 días del inicio de la lactancia (Nava-Trujillo *et al.*, 2010).

La relación entre la mastitis subclínica con el aumento del nivel de células Somáticas, ha corroborado que tiene un efecto negativo en el aumento de pérdida embrionaria, abortos y problemas de gestación al primer servicio, cuando los niveles de células somáticas se registraron entre 200.000 y 399.000 células/ml, la tasa de preñez tuvo una disminución del 18%, y las vacas que presentaron un nivel de células somáticas mayor a 399.000 células/ml, la disminución fue de 26%, demostrando una afectación significativa en el comportamiento reproductivo (Hudson *et al.*, 2012). Esto demuestra que tanto la mastitis subclínica como la mastitis clínica tienen una relación negativa con el resultado reproductivo.

La prevención de la mastitis en lactancias tempranas tiene un efecto positivo en la eficiencia reproductiva de las vacas, mejorando los días a primer servicio

posparto, días a la concepción, servicios por concepción y los días de intervalo entre partos (Schrick *et al.*, 2001).

2.6. Respuesta sistémica y perfil endocrino de vacas afectadas por mastitis:

Existen evidencias que sustentan que la mastitis clínica y subclínica son causantes de diversos síntomas en el organismo del animal infectado, que aparte de provocar una serie de cambios en el sistema hormonal, afectan las funciones del ovario, tales como el aumento de la temperatura corporal, disminución de la motilidad del rumen y depresión general (Ballou, 2012), se ha demostrado que el aumento de la temperatura corporal provocado por mastitis en las vacas, puede causar una afectación sobre el crecimiento y desarrollo folicular ovárico y sobre la manifestación de celo, retrasa el periodo estro-ovulación, disminuye la capacidad de fertilización del ovocito y afecta el desarrollo del embrión *in vivo* o producido *in vitro* (Hansen, 2007).

La ocurrencia de mastitis ya sea inducida o natural, provoca un mal desempeño en el funcionamiento reproductivo de las vacas, esto podría deberse a que las endotoxinas como los polisacáridos que son generados por las bacterias Gram negativas que producen mastitis, favorecen a la síntesis de prostaglandinas $F2\alpha$ y el aumento del nivel del cortisol (Sugino, 2006), provocando alteraciones en el eje hipotalámico-pituitario en la disminución de secreción de hormonas que son responsables de la maduración de los ovocitos, la ovulación y la formación del cuerpo lúteo, estos mecanismos fisiopatológicos, afectan el desarrollo folicular en el ovario, el útero, la concepción y la viabilidad de la gestación (Schrick *et al.*, 2001).

La mastitis cuando es inducida libera mediadores de la inflamación, como el cortisol, citoquinas, interleucinas, prostaglandinas $F2\alpha$ y el óxido nítrico, ocasionando una disminución en la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), consecuentemente disminuye la secreción de las gonadotropinas folículo estimulante (FSH), la hormona luteinizante (LH) y

disminuye también los niveles de estradiol (Schrick *et al.*, 2001; Hansen *et al.*, 2004), estudios experimentales observaron que cuando se indujeron endotoxinas de *Escherichia Coli*, se produjo una liberación prolongada de prostaglandina F2 α , ocasionando un efecto luteolítico sobre el cuerpo lúteo y disminuyendo los niveles de progesterona (Lavon *et al.*, 2008)

Otro estudio indicó que el 30% de las vacas que presentaron mastitis clínica o subclínica, aumentaron los niveles de cortisol, se encontraron niveles bajos de estradiol y de LH, junto con un retraso del pico preovulatorio de LH, estos cambios estuvieron asociados con el retraso del periodo esto-ovulación. También se encontró que al momento de la inseminación la mastitis puede afectar la maduración del ovocito y la fertilización, después de la inseminación, puede tener una afectación sobre la regresión del cuerpo lúteo, disminuyendo los niveles de la progesterona, activando las funciones endometriales como la liberación de prostaglandinas F2 α y la eliminación del desarrollo embrionario (Lavon *et al.*, 2010).

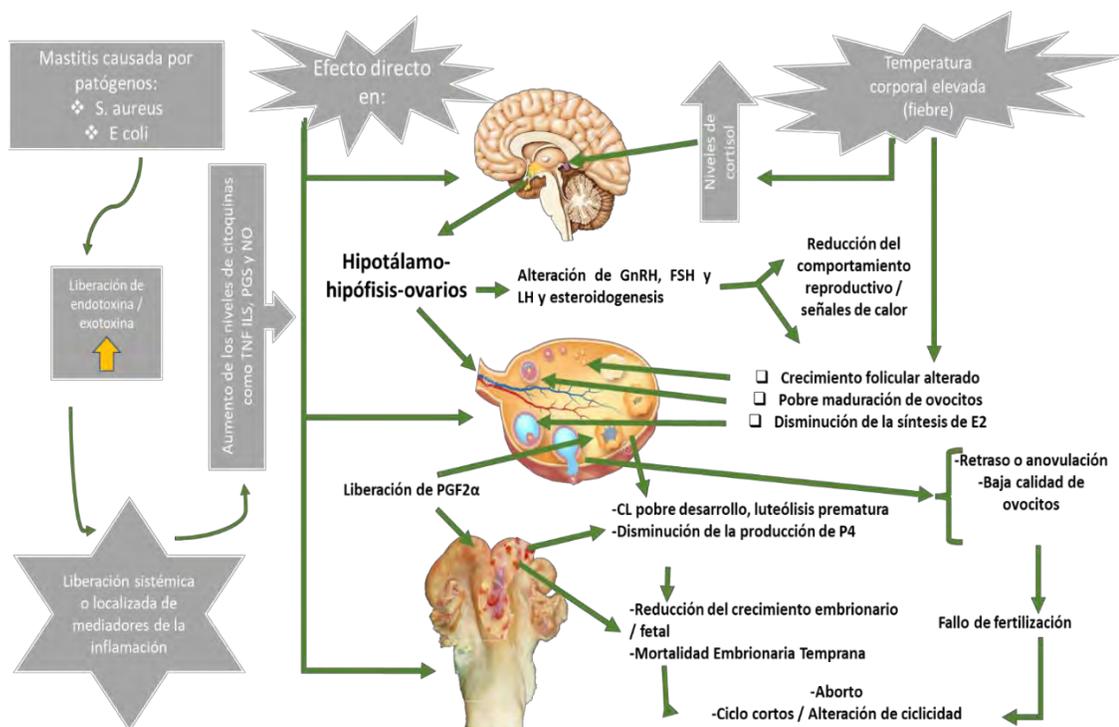


Figura 2. Diagrama de flujo que muestra el posible mecanismo en el efecto de la mastitis en la reproducción en ganado lechero adaptado de Kumar *et al.*, 2017.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. General

Todos los animales estuvieron sometidos bajo vigilancia veterinaria según lo dispuesto en el programa sanitario implementado de acuerdo a las normas vigentes en el Manual de Buenas Prácticas Pecuarias en Unidades de Producción de Leche Bovina (SAGARPA, 2010). Todo el manejo y mantenimiento de los animales utilizados en este estudio se realizó de acuerdo a los lineamientos para el uso ético, cuidado y bienestar de animales en investigación a nivel internacional (FASS, 2010) y nivel nacional (NAM, 2002) con número de referencia de aprobación institucional UAAAN-UL/ 033/21-BO-PR-LN.

3.2. Localización y condiciones climáticas de la región donde se desarrolló el estudio.

El presente estudio se realizó en el norte de México, en la región de la Comarca Lagunera en Torreón Coahuila, en un establo lechero comercial, situado en las coordenadas 25° 31' 41" latitud norte y 103° 13' 42" longitud oeste, a una altitud de 1,100 metros sobre el nivel del mar. Las condiciones climáticas en esta región semiárida son una precipitación media anual de 230 mm; temperatura máxima promedio de 41,4° C durante mayo y junio, y la mínima (-2° C) durante diciembre y enero, y una humedad relativa que oscila entre el 20 y el 55% (CONAGUA, 2015).



Figura 3. Localización de la región donde se desarrolló el estudio.

3.3. Animales experimentales.

Se realizó un estudio retrospectivo empleándose para esto una muestra de 884 registros de lactancias de vacas Holstein multíparas, para determinar la presencia de mastitis y su relación con el comportamiento reproductivo.

El rebaño de donde se obtuvieron los registros para este estudio, se manejó de manera rutinaria con tres ordeñas y reproductivamente a base de programas de sincronización de celos, detección de este, IA, y diagnóstico de gestación por ultrasonido. También existe un protocolo de manejo preventivo y análisis de riesgos de mastitis y otras enfermedades. Llevándose registros productivos y reproductivos almacenados en el software especializado el cual fue el Dairycom. Todas las vacas tenían entre 2 y 4 lactancias y una condición corporal de 3.5 en una escala de 1-5 (Bernabucci *et al.*, 2005). La alimentación y el equilibrio de la dieta fueron de acuerdo con los requisitos descritos por la NRC (2001) para vacas correspondiente al peso y producción en el caso de las vacas.

3.4. Diseño experimental.

Los grupos se formaron de acuerdo a los niveles de células somáticas (Roth *et al.*, 2013). Quedando de la siguiente manera: con CCS expresado en miles de <200 células/ml de leche se consideraron sanas (n= 584); con nivel de 200-400 células/ml de leche se consideraron con mastitis subclínica (n= 105) y con nivel >400 células/ml. de leche fueron aquellas vacas que tuvieron a su vez mastitis clínica(n= 195)

3.5. Variables evaluadas:

Las variables que se analizaron en este trabajo fueron: días abiertos (DA), que fueron definidos como el intervalo de los días del parto a la gestación, servicios por concepción (SC), que fueron definidos como los servicios de inseminación que se requirieron para gestar el animal, Tasas de concepción (TC) a 1er y 2do servicio las cuales fueron la cantidad de animales que se inseminaron sobre los que quedaron gestantes, y el acumulativo fue la suma de la TCA de ambos servicios.

3.6. Análisis estadísticos:

Para el caso de las variables de días abiertos y servicios por concepción se utilizó el modelo lineal generalizado mixto, con el procedimiento GLIMMIX presente en el SAS Versión 9.3, con los datos se estudió las matrices de estructura varianza y covarianza [Toeplitz (TOEP), Varianza compuesta (VC), Compound (CS), Autoregressive (AR [1]), y Unstructured (UN)], con los criterios de información [(AIC) Akaike,(AICC) Akaike corregido y (BIC) Bayesiano, resultando (TOEP), la de mejor ajuste. Se probaron las distribuciones habitualmente utilizadas para lograr un mejor ajuste (Normal, Binomial, Poisson y Gamma), la distribución de mejor ajuste fue, Gamma con su correspondiente función de enlace que en este caso fue el log (logaritmo natural).

Se utilizó un análisis de varianza de Chi cuadrado para determinar la existencia de diferencias significativas por la presencia de mastitis subclínica y clínica y su efecto en la tasa de concepción. El paquete estadístico utilizado fue el Infostat. Versión 2012.

4. RESULTADOS

En la tabla 1, se muestra la severidad del proceso inflamatorio de la glándula mamaria expresado por el conteo de células somáticas. Donde se puede observar que fueron afectadas mayormente en todos los indicadores evaluados las vacas que tuvieron CCS mayor a 400.000 células/ml de leche.

En las vacas con un nivel mayor de 200,000 células somáticas/ml se incrementaron los días abiertos ($P<0.0001$), el número de servicios por concepción ($P<0.0001$) y disminuyó significativamente la tasa de concepción al primer servicio ($P<0.001$) y segundo servicio ($P<0.01$), con respecto a las sanas.

Tabla 2. Efecto del nivel de células somáticas entre el día del parto a la gestación \pm EE en el comportamiento reproductivo de vacas Holstein Friesian.

Nivel Cel / ml	<200	200-400	>400	
Condición	Sanas	Subclínicas	Clínicas	
n	584	105	195	Significancia
DA	129.3 \pm 0.02 ^a	173.9 \pm 0.05 ^b	183.3 \pm 0.03 ^b	P<0.0001
SC	3.0 \pm 0.02 ^a	4.0 \pm 0.06 ^b	4.4 \pm 0.04 ^b	P<0.0001
TC1 (Gestantes)	26.0 (152) ^a	11.4 (12) ^b	10.2 (20) ^b	P<0.001
TC2 (Gestantes)	33.3 (144) ^a	30.1 (28) ^a	18.8 (33) ^b	P<0.01
TCA (Gestantes)	59.3 (296) ^a	41.5 (40) ^b	29.0 (53) ^c	P<0.001

Cel / ml = Células somáticas en miles por mililitro de leche; DA= Días abiertos; SC= Servicios por concepción; TC1= Tasa de concepción a primer servicio; TC2= Tasa de concepción a segundo servicio; TCA= Tasa de concepción acumulativa del primer y segundo servicio; Significancia= Valor de la probabilidad. Literales distintas entre las columnas difieren estadísticamente.

5. DISCUSIÓN

En lo que respecta a los niveles de células somáticas y los indicadores reproductivos evaluados en el presente estudio, se observó claramente que, a medida que aumentaron los niveles celulares, se redujo la eficiencia reproductiva en las vacas que elevaron sus células somáticas por encima de >200,000 células/ml de leche. Los resultados concuerdan con estudios previos (Juozaitiene and Juozaitis, 2005; König *et al.*, 2006; Morris *et al.*, 2009). En los últimos años se han realizado estudios donde se relaciona la mastitis con el comportamiento reproductivo de las vacas lecheras (Gunay y Gunay, 2008; Hudson *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2012). En este sentido Hudson *et al.* (2012) y Roth *et al.* (2013), señalaron que las vacas que tuvieron niveles mayores de 200,000 células/ml de leche tuvieron afectación clínica y subclínica, por ello la respuesta inmunitaria a medida que se aumentó el conteo celular somático pudo ser mayor, ya que el aumento de las células somáticas coincidió con una disminución del comportamiento reproductivo en las vacas. En este mismo sentido Gomez Cifuentes *et al* (2014) evaluaron la asociación entre la mastitis subclínica y el comportamiento reproductivo de vacas con manejo basado en pastoreo y encontraron que el nivel alto de células somáticas interpretado como inflamación subclínica incremento el número de servicios por concepción.

En concordancia con lo encontrado en este estudio y en relación a la inflamación, pero de tipo clínica, Nava-Trujillo *et al.* (2010) y Khokon *et al.* (2017), reportaron que las vacas que presentaron mastitis tuvieron más días al primer servicio y más días abiertos cuando se compararon con vacas que no presentaron la enfermedad.

En este sentido se afirma, que en las vacas que manifiestan un mayor número de células somáticas (>200,000/ml.) durante los primeros 90 días del posparto y previa a la época de servicio (Boujenane *et al.*, 2015), se produce un aumento significativo de los intervalos interpartales (Gómez-Cifuentes *et al.*, 2014; Gunay y Gunay, 2008) y se incrementa el número de servicios por concepción (Lavon *et al.*, 2010; Ahmadzadeh *et al.*, 2009). Por lo tanto, cuando la mastitis ocurre

durante este período de riesgo, parece claro que, la influencia en la calidad del ovocito es menos importante pero toma mayor importancia el efecto sobre el embrión en desarrollo el cual puede verse afectado por el aumento del conteo celular somático o presencia de mastitis clínica y se puede poner en riesgo su viabilidad (Scenna *et al.*, 2008).

En cuanto a la tasa de concepción en este estudio se observó que el aumento en el nivel de CCS tuvo un efecto adverso sobre este indicador al primer servicio pero no así al segundo servicio en el caso de las vacas consideradas subclínicas, sin embargo, disminuyó la tasa de concepción en las vacas consideradas clínicas, al respecto Fuenzalida *et al.* (2015), encontraron que la severidad de la inflamación fue asociada con un decremento en probabilidad de preñez al primer servicio, situación que concuerda con lo que se reporta en los resultados del presente estudio. En este mismo orden de ideas Hudson *et al.* (2012), demostraron que cuando la mastitis ocurre después del servicio de inseminación artificial, la tasa de preñez disminuye a medida que las células somáticas aumentan, además, Huszenicza *et al.* (2005), Moore *et al.* (2005) y Perrin *et al.* (2007) reportaron que las vacas afectadas con mastitis tienen 2.4 veces más riesgos de pérdidas de la preñez y una menor posibilidad de concepción (Hansen *et al.*, 2004; Cha *et al.*, 2013), independientemente de los microorganismos que la provocan (Schrick *et al.*, 2001; Fabián *et al.*, 2010; Lavon *et al.*, 2019). En este estudio el nivel de CCS afectó la tasa de concepción a primer servicio en las vacas con mastitis subclínicas y clínicas, y al segundo servicio se observó que el efecto negativo de la mastitis fue solamente en las vacas consideradas con afectación clínica, sin embargo, en la tasa de concepción acumulativa se observó diferencia entre los tres niveles de CCS, siendo mejor el resultado en las vacas con menos de 200,000/ml, esto podría deberse a la intensidad de la respuesta inmunitaria del organismo ante el proceso inflamatorio que provoca la mastitis (Wolfenson *et al.*, 2019) ya que se presentan en la circulación mayor cantidad de citoquinas inflamatorias. Y puede ser una de las causas que explique la alteración de los indicadores reproductivos en las vacas que tuvieron >200.000 células/ml

en este estudio, podría pensarse que la variedad de moléculas bioactivas producidas fuera del tracto reproductivo pueden potencialmente interrumpir tejidos del aparato reproductor aumentando los niveles de producción de citoquinas que tienen un efecto negativo en la foliculogénesis y en el eje-hipotálamo-hipófisis-gónadas (Wolfenson *et al.*, 2015; Soto *et al.*, 2003a; Soto *et al.*, 2003b).

Varias investigaciones se han trazado como objetivo estudiar los procesos inflamatorios fuera del aparato reproductor y poder averiguar si estos ejercen un efecto negativo en la calidad y el desarrollo del embrión pre implantado (Chebel, 2007; Fabián *et al.*, 2010). Estos estudios han sido la base para explicar los diversos mecanismos mediante los cuales la mastitis puede afectar la fertilidad del ganado, aunque los resultados expuestos son variados, la mayoría coincide en que el proceso inflamatorio de la ubre impacta negativamente en el comportamiento reproductivo.

En este estudio se pudo observar que las vacas con <200,000 células/ml tuvieron mayor tasa de concepción, esto puede ser posiblemente al perfil endocrino que juega un papel importante en la secreción de gonadotropinas que podría provocar en las vacas con altos niveles de CCS (>200.000 células/ml), un retraso en la maduración y ovulación del folículo preovulatorio y afectación en el ambiente uterino (Sharma *et al.*, 2017; Lavon *et al.*, 2019). Otros autores sustentan que la ocurrencia de mastitis, inducida o adquirida en campo, se caracteriza por el aumento del nivel de cortisol y la $PGF2\alpha$ (Scenna *et al.*, 2008; Sugino, 2006). Además, ocurre una disminución de los niveles plasmáticos de la hormona del crecimiento y el factor de crecimiento IGF-I (Rahman *et al.*, 2012), también se manifiestan alteraciones del eje hipotálamo-hipófisis-ovario con disminución en los patrones de secreción de las hormonas GnRH, FSH y LH (Schrick *et al.*, 2001), así como la disminución en la producción de 17β - estradiol que resulta en una menor expresión de los signos de celo en algunos animales. Estas transformaciones fisiopatológicas que acompañan al aumento de las células somáticas o inflamación subclínica pueden ser el origen de las modificaciones en

la función de los ovarios, del útero, del proceso de la fertilización, y en el crecimiento y desarrollo embrionario.

Los posibles efectos del aumento del nivel de las células somáticas en la respuesta a los tratamientos de inducción y sincronización de la ovulación en el presente estudio, pudieron evidenciar que a pesar de que las vacas con altos niveles de células somáticas (mastitis clínica y subclínica) fueron sincronizadas para su ovulación, tuvieron tasas de concepción más bajas comparadas con las de bajo nivel de células somáticas (sanas), lo que podría explicar la reducción de la fertilidad en las vacas que se afectan de la enfermedad (Lavon *et al.*, 2011). En resumen, estos hallazgos significan que las vacas que tienen células somáticas elevadas tienen una menor probabilidad de concebir posterior al estro independientemente si este es natural o sincronizado con programas hormonales, principalmente por la falta de sincronización entre el estro y la ovulación.

6. CONCLUSIÓN

La severidad del proceso inflamatorio de la glándula mamaria expresado por el nivel de células somáticas, ejerce un efecto negativo en el comportamiento reproductivo de las vacas Holstein Friesian en sistema de producción intensivo. Se deben realizar más estudios a nivel celular y molecular para determinar el grado de afectación de la mastitis a nivel del tracto reproductor, en los ovocitos y en el desarrollo del embrión.

7. LITERATURA CITADA

- Ahmadzadeh A, Frago F, Shafii B, Dalton JC, Price WJ, McGuire MA. Effect of clinical mastitis and other diseases on reproductive performance of Holstein cows. *Anim Reprod Sci* 2009; 112(3):273-282.2
- Armenteros, M., Peña, J., Pulido, J., Linares, E. 2002. Caracterización de la situación de la mastitis bovina en rebaños de lechería especializada en Cuba, *Revista de Salud Animal*; Vol. 24 (2), 99-105.
- Asaf S, Leitner G, Furman O, Lavon Y, Kalo D, Wolfenson D, et al. Effects of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in lactating cows on oocyte developmental competence. *Reproduction* 2014; 147(1):33-43.
- Bachaya, H.A., Raza, M.A., Murtaza, S., Akbar, I.U.R. (2011). Subclinical bovine mastitis in Muzaffar Garh district of Punjab (Pakistan). *J. Anim. Plant Sci.* 21:16-19.
- Ballou, M.A. (2012). Growth and development symposium: Inflammation: Role in the etiology and pathophysiology of clinical mastitis in dairy cows *J. Anim. Sci.* 90:1466–1478.
- Barkema, H.W., Schukken, Y.H., Zadokst, R.N. (2006) Invited Review: The Role of Cow, Pathogen, and Treatment Regimen in the Therapeutic Success of Bovine *Staphylococcus aureus* Mastitis. *J. Dairy Sci.* 89:1877–1895.
- Bedolla CC. 2004. Métodos de detección de la mastitis bovina. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Mimeo. 8pp.
- Bedolla, C. (2007). Métodos de detección de la mastitis bovina (Methods of detection of the bovine mastitis). *Redvet*, 3(9), 1–17.
- Bedolla, C. C., & de León, M. P. (2008). Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. *REDVET. Revista electrónica de Veterinaria*, 9(4), 1-26.

- Bernabucci U, Ronchi B, Lacetera N, Nardone A. Influence of Body Condition Score on Relationships Between Metabolic Status and Oxidative Stress in Periparturient Dairy Cows. *J dairy Sci* 2005; 88(6):2017-2026.
- Bolaños, F.O. 2012. Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico. *REDVET*; 13(11).
- Boujenane I, El Aimani J, By K. Effects of clinical mastitis on reproductive and milk performance of Holstein cows in Morocco. *Trop Anim Health Prod* 2015; 47(1):207-11.
- Bradley AJ. Bovine Mastitis: An Evolving Disease. *The Veterinary Journal* 2002; 164:116-128.
- Bradley, A. J., Green, M. J. (2001). Adaptation of *Escherichia coli* to the bovine mammary gland. *Journal of Clinical Microbiology*. 39: 1845-1849.
- Carlén, E. (2008). Genetic Evaluation of Clinical Mastitis in Dairy Cattle. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala.
- Cha E, Hertl JA, Schukken YH, Tauer LW, Welcome FL, Gröhn YT. The effect of repeated episodes of bacteria-specific clinical mastitis on mortality and culling in Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 2013; 96(8):4993-5007.
- Chebel RC. Mastitis effects on reproduction. NMC Regional Meeting Proceedings. School of Veterinary Medicine, University of California Davis Tulare, California. 2007.
- Cheng, D., Zhu, S., Yin, Z., Ding, W., Mu, Z., Su, Z., & Sun, H. (2010). Prevalence of bacterial infection responsible for bovine mastitis. *African Journal of Microbiology Research*, 4(11), 1110-1116.
- Cotrino, V. (2009). Estrategia de diagnóstico control y prevención de mastitis. *Rev. Med. Vet. Zoot.* 56: 327-331.

- Eicker, S. W., Grohn, 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.
- Fabian D, Bystriansky J, Cikoš S, Bukovská A, Burkuš J, Koppe J. The effect on preimplantation embryo development of non-specific inflammation localized outside the reproductive tract. *Theriogenology*, 2010; 74:1652-1660.
- FASS. Guide for the care and use of agricultural animals in agricultural research and teaching, 3rd Edition, Federation Animal Science Society, Champaign, IL, USA 2010; 177.
- Fernández Bolaños, O. F., Trujillo Graffe, J. E., Peña Cabrera, J. J., Cerquera Gallego, J., & Granja Salcedo, Y. (2012). Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico. *Revista electrónica de Veterinaria*, 13(11), 1-20.
- Fuenzalida MJ, Fricke PM, Ruegg PL. The association between occurrence and severity of subclinical and clinical mastitis on pregnancies per artificial insemination at first service of Holstein cows. *J Dairy Sci* 2015; 98:1-15.
- Gómez-Cifuentes CI, Molinet AI, Signorini ML, Scandelo D, Calvinlio LF. The association between mastitis and reproductive performance in seasonal calve dairy cows management on a pasture system. *Arch Med Vet* 2014; 46, 197-206.
- Gunay A, Gunay U. Effect of clinical mastitis on reproduction performance in Holstein cows. *Acta Vet Brno* 2008; 77(4):555-560.
- Hansen JP, Soto P, Natzke PR. Mastitis and Fertility in Cattle - Possible involvement of inflammation or immune activation in embryonic mortality. *AJRI* 2004; 51:294-301.
- Hansen, P.J. (2007). Exploitation of genetic and physiological determinants of embryonic resistance to elevated temperature to improve embryonic survival in dairy cattle during heat stress. *Theriogenology*, 68:242–249.

- Hettinga, K.A., Van Valenberg, H.J.F., Lam, T.J.G.M., Van Hooijdonk, A.C.M. (2008). Detection of Mastitis Pathogens by Analysis of Volatile Bacterial Metabolites. *J. Dairy Sci.* 91:3834–3839.
- Hillerton, J., Berry, E. 2005. Treating mastitis in the cow – a tradition or an archaism, *Journal of Applied Microbiology*; 98 (6).
- Hudson CD, Bradley AJ, Breen JE, Green MJ. Associations between udder health and reproductive performance in United Kingdom dairy cows. *J dairy Sci* 2012; 95(7):3683-3697.
- Huszenicza G, Janosi S, Kulcsar M, Korodi P, Reiczigel J, Katai L, et al. Effects of clinical mastitis on ovarian function in post-partum dairy cows. *Reprod Domest Anim* 2005; 40:199-204.
- Juozaityene V, Juozaitis A. The influence of somatic cell count in milk on reproductive traits and production of Black-and-White cows. *Veterinarski arhiv*, 2005; 75(5):407.
- Kokhon MSI, Azizunnesa M, Islam MM, Chowdhury KB, Rahman ML, Ali MZ. Effect of mastitis on post-partum conception of cross bred dairy cows in Chittagong district of Bangladesh. *JAVAR* 2017; 4(2):155-160.
- Konig SG, Hubner G, Sharifi R, Bohlsen E, Detterer J, Simianer H, et al. Relation between the somatic cell count and the success of first insemination in East Frisian dairy herds on the basis of logistic models analysis. *Züchtungskunde* 2006; 78(2):90-101.
- Kumar N, Manimaran A, Kumaresan A, Jeyakumar S, Sreela L. Mastitis effects on reproductive performance in dairy cattle: a review. *Trop Anim Health Prod* 2017; 49:663–673.
- Lavon Y, Erza E, Leither G, Wolfeson D. Association of conception rate with pattern and level of somatic cell count elevation relative to time of insemination in dairy cows. *J. Dairy Sci* 2011; 94:4538-4545.

- Lavon Y, Kaim M, Leitner G, Biran D, Ezra E, Wolfenson D. Two approaches to improve fertility of subclinical mastitic dairy cows J. Dairy Sci 2016; 99:1-8.
- Lavon Y, Leitner G, Kersel Y, Ezra E, Wolfenson D. Comparing effects of bovine *Streptococcus* and *Escherichia coli* mastitis on impaired reproductive performance. J. Dairy Sci 2019; 102(11): 10587-10598.
- Lavon Y, Leitner G, Voet H, Wolfenson D. Naturally occurring mastitis effects on timing of ovulation, steroid and gonadotrophic hormone concentrations, and follicular and luteal growth in cows. J Dairy Sci 2010; 93:911-921.
- Lavon, Y., Leitner, G., Goshen, T., Braw-Tal, R., Jacoby, S., y Wolfenson, D. (2008). Exposure to endotoxin during estrus alters the timing of ovulation and hormonal concentrations in cows. *Theriogenology*. 70(6), 956–967.
- Lavon, Y., Leitner, G., Voet, H., Wolfenson, D. (2010). Naturally occurring mastitis effects on timing of ovulation, steroid and gonadotrophic hormone concentrations, and follicular and luteal growth in cows. *J. Dairy Sci*. 93: 911–921.
- LeBlanc SJ, Lissemore KD, Kelton DF, Duffield TF, Leslie KE. Major advances in disease prevention in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2006; 89:1267-1279.
- Li, N., Richoux, R., Boutinaud, M., Martin P., Gagnaire V. (2014). Role of somatic cells on dairy processes and products: a review. *Dairy Sci. & Technology* 94: 517–538.
- Martin, G.J., James, B.E., Hudson C., Archer, S., Andrew. J.A. (2013). Nationwide mastitis control scheme in Great Britain and some associated research. *Proc. Pp.* 5-7. Countdown Symposium Melbourne, Australia. 9 May 2013.
- Moore DA, Overton MW, Chebel RC, Truscott ML, BonDurant RH. Evaluation of factors that affect embryonic loss in dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 2005; 226:1112-1118.
- Morales CJL. , Pedroso SR., Leyva OC. , Denis GR., Guerrero GH., Pineda MR., Guerrero MC., Veliz DFG. Efecto de la mastitis sobre el comportamiento

- reproductivo de vacas Holstein Friesian en la Comarca Lagunera en México. *Revista Ciencia y Tecnología Ganadera*. 2016. Vol. 10 No 3, 225-229.
- Morales. CJL. Efecto de la mastitis en el comportamiento reproductivo y en la producción *In vitro* de embriones en ganado Holstein. Tesis Doctoral para obtener el grado de Doctor En Ciencias Veterinarias. 2018. CIMAGT. Cuba.
- Morris MJ, Kaneko K, Uppal SK, Walker SL, Jones DN, Routly JE, et al. Effects of high somatic cell counts in milk on reproductive hormones and oestrus behaviour in dairy cows with special reference to those with concurrent lameness. *Anim Reprod Sci* 2013; 141(1):20-25.
- Morris MJ, Walker SL, Jones DN, Routly JE, Smith RF, Dobson H. Influence of somatic cell count, body condition and lameness on follicular growth and ovulation in dairy cows. *Theriogenology*, 2009; 71(5):801-806.
- NAM. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Academy of Medicine, México and the Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International, México, DF, México 2002.
- National Mastitis Council. (1999). Minimize conditions which increase exposure to environmental pathogens. [En línea]. National Mastitis Council Homepage. Disponible en: <http://www.nmconline.org/environ.htm>.
- National Mastitis Council. Nutrition's role in mammary gland health. *The NMC Newsletter: Udder Topic*. 32:3. 2009.
- National Research Council. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition*, Washington, DC: The National Academies Press 2001.
- Nava-Trujillo H, Soto-Belloso E, Hoet AE. Effects of clinical mastitis from calving to first service on reproductive performance in dual-purpose cows. *Anim Reprod Sci* 2010; 121:12.
- Nielsen C. *Economic Impact of Mastitis in Dairy Cows [Doctoral Thesis]*. Swedish University of Agricultural Sciences: Uppsala; 2009.

- Novoa, R.Q. (2003). Evaluación epizootiológica y económica de la mastitis bovina en rebaños lecheros especializados de la provincia de Cienfuegos. Tesis en Opción al Título de Master en Ciencias Especialidad: Medicina Preventiva Veterinaria UNAH La Habana.
- Olechnowicz J, Jaskowski MJA. Connection between mastitis during early lactation and reproductive performance of dairy cows – A Review. *Ann Anim Sci* 2013; 13:435-448.
- Oresnik, A. (1995) Effect of health and reproductive disorders on milk yield and fertility in dairy cows. *Bov Pract* 29: 43-45.
- Perrin L, Bostelmann RW, Sheldon IM. Reduced conception rates associated with bovine mastitis during a 'window of opportunity'. *Vet Rec* 2007; 161:61-62.
- Pinedo, P., Risco, C., Melendez, P.A. (2011). Retrospective study on the association between different lengths of the dry period and subclinical mastitis, milk yield, reproductive performance, and culling in Chilean dairy cow. *J. Dairy Sci.* 94: 106–115.
- Polat, B., Colak, A., Cengiz, M., Yanmaz, L.E., Oral, H., Bastan, A., Kaya, S., y Hayirli, A. (2010). Sensitivity and specificity of infrared thermography in detection of subclinical mastitis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:3525-3532.
- Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. 2002. *Medicina Veterinaria. Mastitis Bovina*. Edit. Mcgraw-hill. 9o Edición. Vol 1. Madrid, España. pp 728, 810.
- Rahman MM, Mazzilli M, Pennarossa G, brevini TA, Zeconi A, Gandolfi F. Chronic mastitis is associated with altered ovarian follicle development in dairy cattle. *J. Dairy Sci* 2012; 95:1885-1893.
- Rahman, M.M. (2010). Morphometric correlation and molecular studies of chronic mastitis and fertility in dairy cattle. (Thesis PhD). Faculty of Veterinary Medici, Universita Degli Studi Di Milano. Italia.

- Rangel, A. C., Rodríguez, V. C. R., Bernate, G. J. A., & Velilla, S. M. (2011). Prevalencia de mastitis bovina en sistemas doble propósito en montería (Colombia): Etiología y susceptibilidad antibacteriana. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 24(1), 19–28.
- Risco, C.A. (2009). Manejo estratégico durante el período de transición para optimizar la producción y el comportamiento reproductivo del ganado lechero. *Rev. Med. Vet. Zoot.* 56:228-249.
- Risco, C.A., Donovan, G.A., Hernández, J. (1999) Clinical Mastitis Associated with Abortion in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 82:1684–1689.
- Roth Z, Dvriar A, Kale P, Lavon Y, Krinfereks Q, Wolfensen D. et al. Naturally occurring mastitis disrupts development competence of bovine oocytes. *J Dairy Sci* 2013; 6:6499-6505.
- Ruth Z, Wolfenson D. Comparing the effects of heat stress and mastitis on ovarian function in lactating cows: basic and applied aspects. *Domest Anim Endocrinol* 2016:56; 5218-5227.
- SAGARPA. Manual de Buenas Prácticas Pecuarias en Unidades de Producción de Leche Bovina. México. 1ª Edición, 2009.
- Saidi, R., Khelef, D., Kaidir, R. (2013). Bovine mastitis: Prevalence of bacterial pathogens and evaluation of early screening test. *African Journal of Microbiology Research.* 7:777-782.
- Santos G, Bottino MP, Santos APC, Simões LMS, Souza JC, Ferreira MBD, da Silveira JC, Ávila ACFCM, Bride A, Sales JNS. Subclinical mastitis interferes with ovulation, oocyte and granulosa cell quality in dairy cows. *Theriogenology* 2018.
- Santos JE, Cerri RL, Ballou MA, Higginbotham GE, Kirk JH. Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2004; 80:31-45.

- Santos JEP, Ribeiro ES. Impact of animal health on reproduction of dairy cows. *Anim Reprod* 2014; 11(3):254-269.
- Scenna FN, Edwards JL, Schrick FN. Detrimental effects of prostaglandin F2 α on embryo development in bovine are inhibited by a receptor antagonist. *Reprod Fertil Devel* 2008; 20:153-154.
- Schrack FN, Hockett ME, Saxton AM, Lewis MJ, Dowlen HH, Oliver SP. Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *J Dairy Sci* 2001; 112:273-282.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. SAGARPA (2010). Manual de Buenas Prácticas Pecuarias en Unidades de Producción de Leche Bovina. 1ra Ed. 1-93. SAGARPA.GOB.MX
- Seeger H, Fourichon C, Beaudeau F. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet Res* 2003; 34: 475-491.
- Sharma N, Badoo AS, Huma ZI, Kour S, Misri J, Hussain K. Impact of Mastitis on Reproductive Performance in Dairy Animals: A Review. *Theriogenology Insight* 2017; 7(1): 41-49.
- Sharma, N. (2007). Alternative approach to control intramammary infection in dairy cows-A review. *Asian J. Anim. Vet. Adv*, 2(2), 50-62.
- Sharma, N. and S.K. Maiti, 2010. Incidence, etiology and antibiogram of sub clinical mastitis in cows in durg, Chhattisgarh. *Indian J. Vet. Res.*, 19: 45-54.
- Sharma, N. and S.K. Maiti, 2010. Incidence, etiology and antibiogram of sub clinical mastitis in cows in durg, Chhattisgarh. *Indian J. Vet. Res.*, 19: 45-54.
- Sharma, N., A. Gautam, S.R. Upadhyay, K. Hussain, J.S. Soodan and S.K. Gupta, 2006. Role of antioxidants in udder health: A review. *Indian J. Field Veterinarian*, 2: 73-76.

- Sharma, N., Rho, GJ, Hong, YH, Kang, TY, Lee, HK, Hur, TY y Jeong, DK (2012). Mastitis bovina: una perspectiva asiática. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7, 454-476.
- Sosa, R. P., & Gutiérrez, F. R. (2017). Mastitis, fertilidad y eficiencia de las biotecnologías de reproducción asistida en el trópico. *La Técnica*, (17), 53-71.
- Soto P, Natzke RP, Hansen PJ. Actions of Tumor Necrosis Factor- α on Oocyte Maturation and Embryonic Development in Cattle 1. *Am J Reprod Immunol* 2003a; 50(5):380-388.
- Soto P, Natzke RP, Hansen PJ. Identification of posible mediators of embryonic mortality caused by mastitis: Actions of Lipopolysaccharide, prostaglandin F 2α , and the Nitric Oxide generator, sodium nitroprosside dihydrate, on Oocyte maturation and embryonic development in cattle. *Am J Reprod Immunol* 2003b; 50:263-272.
- Sudhan, N. A., & Sharma, N. (2010). Mastitis-an important production disease of dairy animals. Gurgoan: Sarva Manav Vikash Samiti, 72-88.
- Sugino. (2006). Roles of reactive oxygen species in the corpus luteum. *Anim Sci J* 2006; 77:556-565.
- Viguiet, C., Arora, S., Gilmartin, N., Welbeck, K., & O’Kennedy, R. (2009). Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends in biotechnology*, 27(8), 486-493.
- Walsh, S. W., Williams, E. J. y Evans A. C. O. (2011). A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal Reproduction Science*. 123: 127-138.
- Wolfenson D, Leitner G, Lavon Y. The Disruptive Effects of Mastitis on Reproduction and Fertility in Dairy Cows. *Ital J Anim Sci* 2015; 14(4125):650-654.
- Wolfenson D, Zvi Roth Z, Lavon Y, Leitner G. Effects of mastitis on ovarian function and fertility in dairy cows. *Bioscientifica Proceedings* 2019.

Yang FL, Li XS, Yang BZ, Zhang Y, Zhang XF, Qin GS, et al. Clinical mastitis from calving to next conception negatively affected reproductive performance of dairy cows in Nanning, China. *Afr J Biotechnol* 2012; 11(10):2574-2580.

Zadoks, R.N., Middleton, J.R., McDougall, S., Katholm, J., and Schukken, Y.H. (2011). Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*. 16: 357-372.