


## Efecto de mastitis subclínica sobre la fertilidad en vacas Holstein, criadas en el trópico alto del Ecuador

*Effect of subclinical mastitis on fertility in Holstein cows, raised in the high tropics of Ecuador*

<sup>1</sup>Yesenia Ivonne Malta García

Maestría en Medicina Veterinaria. Mención en Salud y Reproducción en Especies Productivas, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador


✉ yeseniaveterinaria36@gmail.com

 ORCID: 0000-0000-0000-0000

<sup>2</sup>Juan José Zambrano

Departamento de Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador.


✉ juanjosezv@hotmail.com

 ORCID: 0000-0003-2635-781X

<sup>3</sup>Tania Ximena Matute Deleg

Carrera de Medicina Veterinaria Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca, Ecuador


✉ noname@ucuenca.edu.ec

 ORCID: 0000-0000-0000-0000

<sup>4</sup>Erika Estefanía Pinos Rojas

Carrera de Medicina Veterinaria Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca, Ecuador


✉ noname@ucuenca.edu.ec

 ORCID: 0000-0000-0000-0000

<sup>5</sup>Jorge Bolívar Dután Sanango

Carrera de Medicina Veterinaria Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca, Ecuador

✉ noname@ucuenca.edu.ec

 ORCID: 0000-0000-0000-0000

<sup>6</sup>Andrés Santiago Jácome Aucay

Carrera de Medicina Veterinaria Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca, Ecuador


✉ mail@gmail.com

 ORCID: 0000-0002-8927-9006

<sup>7</sup>Luis Eduardo Ayala Guanga

Carrera de Medicina Veterinaria Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca, Ecuador

✉ luis.ayala@ucuenca.edu.ec

 ORCID: 0000-0001-6543-7594

Recepción: 20-05-2021 / Aceptación: 27-06-2021 / Publicación:

## Resumen

El estudio se realizó en la zona centro sur del Ecuador, desde febrero del 2020 hasta enero del 2021, y tuvo como objetivo determinar el efecto de la mastitis subclínica sobre la fertilidad, para lo cual se realizaron tres experimentos: 1) evaluó el efecto de mastitis subclínica (MSC) sobre el porcentaje de preñez (PP), tras la primera inseminación artificial (IA) pos diagnóstico de mastitis subclínica (MSC), se utilizaron dos grupos: T1=sanas (n=60); T2=con MSC (n=60). 2) valoró el tamaño del folículo preovulatorio (FPO) y el porcentaje de ovulación (POV), en 40 vacas con MSC (T2) y 40 sanas (T1), se aplicó un protocolo convencional de inseminación a tiempo fijo (IATF) para valorar el tamaño del FPO y PVO. 3) se determinó el nivel de estradiol (E<sub>2</sub>) en sangre y líquido folicular, en 10 vacas sanas (T1) y 10 con MSC (T2). Se observó un 68,3% de PP en T1 y en T2 el 48,3% ( $P<0,05$ ). El FPO de T1 ( $16,2\pm0,29$  mm) fue similar a T2 ( $15,9\pm0,39$  mm;  $P>0,05$ ). El POV fue  $>T1$  (61,9%) vs T2 (38,1%) ( $P<0,05$ ). El E<sub>2</sub> en plasma de T1 ( $55,4\pm2,28$  pg/ml) y T2 ( $66,1\pm3,39$  pg/ml) difirieron ( $P<0,05$ ). En líquido folicular el E<sub>2</sub> fue  $>T2$  ( $1760,1\pm46,4$  pg/ml) vs T1 ( $1486,9\pm69,8$  pg/ml). La MSC reduce en un 20% el PP; sin embargo, esta no guarda relación con el tamaño del FPO, pero si reduce un 23,8% de ovulaciones, posiblemente relacionado con mayor concentración de estradiol tanto en suero como en líquido folicular.

**Palabras clave:** Folículo preovulatorio; líquido folicular; suero; estradiol; ovulación

## Abstract

The study was carried out in the south central zone of Ecuador, from February 2020 to January 2021, and its objective was to determine the effect of subclinical mastitis on fertility, for which three experiments were carried out: 1) it evaluated the effect of Subclinical mastitis (MSC) on the percentage of pregnancy (PP), after the first artificial insemination (AI) after diagnosis of subclinical mastitis (MSC), two groups were used: T1 = healthy (n = 60); T2 = with MSC (n = 60). 2) assessed the preovulatory follicle size (FPO) and ovulation percentage (POV), in 40 cows with MSC (T2) and 40 healthy (T1), a conventional insemination protocol at fixed time (IATF) was applied to assess the size of the FPO and PVO. 3) the level of estradiol (E<sub>2</sub>) in blood and follicular fluid was determined in 10 healthy cows (T1) and 10 with MSC (T2). 68.3% PP was observed in T1 and 48.3% in T2 ( $P<0.05$ ). The FPO of T1 ( $16.2 \pm 0.29$  mm) was similar to T2 ( $15.9 \pm 0.39$  mm;  $P>0.05$ ). The POV was  $>T1$  (61.9%) vs T2 (38.1%) ( $P<0.05$ ). The plasma E<sub>2</sub> of T1 ( $55.4 \pm 2.28$  pg / ml) and T2 ( $66.1 \pm 3.39$  pg / ml) differed ( $P<0.05$ ). In follicular fluid, E<sub>2</sub> was  $>T2$  ( $1760.1 \pm 46.4$  pg / ml) vs T1 ( $1486.9 \pm 69.8$  pg / ml). MSC reduces PP by 20%; however, this is not related to the size of the FPO, but it does reduce ovulations by 23.8%, possibly related to a higher concentration of estradiol in both serum and follicular fluid.

**Keywords:** Pre-ovulatory follicle; follicular fluid; serum; estradiol; ovulation

## Introducción

La mastitis bovina, es un proceso inflamatorio de la glándula mamaria (Fernández *et al.*, 2012), tiene dos formas de presentación: la clínica y la subclínica, el efecto de la mastitis clínica



sobre la producción y reproducción está ampliamente estudiada (Córdova *et al.*, 2016) y es considerada como una de las enfermedades más costosa que enfrenta la industria láctea (Mungube *et al.*, 2005). Sin embargo, la gran mayoría de los productores no han visualizado la importancia de la mastitis subclínica (MSC), a pesar de que la frecuencia de presentación es mucho más alta (Hertl *et al.*, 2010). Esto principalmente, porque esta enfermedad no manifiesta signos clínicos visibles y con frecuencia se torna crónica (Sood *et al.*, 2017). Por tal motivo, en los últimos años se ha investigado el impacto negativo de la mastitis subclínica sobre el rendimiento reproductivo, llegando a determinar un incremento en la tasa de reemplazo debido a la relación directa que tiene con el porcentaje de concepción (Pinedo *et al.*, 2009).

Estudios recientes han asociado las infecciones intramamarias subclínicas adquiridas antes y después de la inseminación artificial con un menor porcentaje de fertilidad en el ganado bovino (Lavon *et al.*, 2011). Así, cuando la MSC se presenta luego del servicio (monta o inseminación artificial), se reduce el porcentaje de concepción hasta en un 50% (Córdova *et al.*, 2008). Esto basado en el concepto de que un proceso inflamatorio en la glándula mamaria, libera citoquinas, interleucinas, leucotrienos, tromboxanos y prostaglandinas incluyendo la prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ), mismos que son mediadores de la inflamación (Wolfenson *et al.*, 2015), generando un aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos de la ubre, lo cual provocaría que la  $PGF_{2\alpha}$  sea absorbida por los vasos sanguíneos y alcance los ovarios (Abbeloos, 2013). Además, las endotoxinas liberadas en el torrente circulatorio pueden llegar a modificar el equilibrio hormonal, que se expresaría en la disminución de los patrones de secreción del factor de liberación de la hormona GnRH, la folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH) provocando lisis prematura del cuerpo lúteo y reabsorción embrionaria temprana (Cook, 2012).

Cuando la patología es adquirida antes del servicio, puede llegar a interrumpirse los patrones hormonales del folículo dominante o preovulatorio, disminuyendo la producción del estradiol por parte de las células de la granulosa, lo cual retrasaría la liberación de la hormona luteinizante y por ende la ovulación (Lavon *et al.*, 2016). Sin embargo, la información científica hasta ahora descrita del efecto de la MSC sobre la reproducción es contradictoria y a decir de varios autores es necesario realizar más estudios que permitan comprender la interacción de esta patología con la reproducción en la especie bovina (Musal *et al.*, 2016).

En consecuencia, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la mastitis subclínica sobre la fertilidad, para lo cual se realizó tres ensayos: en el primero se evaluó el efecto de la mastitis subclínica sobre el porcentaje de preñez resultado de la primera inseminación pos diagnóstico de mastitis subclínica. En el segundo se valoró el tamaño del folículo preovulatorio y el porcentaje de ovulación, pos diagnóstico de mastitis subclínica. Finalmente se determinó la relación entre los niveles de estrógenos presentes en sangre y en líquido folicular, en vacas sanas y con mastitis subclínica.

## Metodología

### *Animales y granjas*

La investigación se realizó en ganaderías ubicadas en la zona centro sur del Ecuador (trópico alto), desde febrero del 2020 hasta enero del 2021. Se eligieron 30 hatos en base a características ecológicas de su entorno como: altitud (sobre los 2500msnm), temperatura (entre 7 y 18°C), humedad relativa de 80%, y pluviosidad anual entre 800 y 2000 mm; además, con un sistema de manejo libre, alimentación al pastoreo a base de mezclas de gramíneas (*Pennisetum clandestinum*), y leguminosas (*Lolium multiflorum*), (*Trifolium pratense*), (*Trifolium repens*), suplementadas diariamente con heno de gramíneas/leguminosas y sales minerales, y con animales de raza Holstein mestizos (cruce entre ganado Criollo y Holstein puro introducido). Estas ganaderías presentaron una media de  $25.4 \pm 4.1$  vacas, con una producción láctea entre 8 y 12 litros/día.

Los 220 animales utilizados en los tres experimentos fueron hembras de raza Holstein mestizas, multíparas ( $3,1 \pm 0,17$  partos), edad media de  $5,9 \pm 0,22$  años, peso de  $553,8 \pm 12,82$  kg y condición corporal (CC) de  $2,55 \pm 0,05$ , en una escala de 1 al 5 (Song et al., 2019), con más de 60 días pos parto, cíclicas, y que respondieron al protocolo de sincronización convencional.

El manejo de los animales y todos los procedimientos fueron realizados siguiendo la normativa del código sanitario para animales terrestres, capítulo 7.8 “Utilización de animales en la investigación y educación”, de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2016).

### *Experimento 1*

El ensayo fue descriptivo, longitudinal retrospectivo, en el cual se evaluó el efecto de la mastitis subclínica sobre el porcentaje de preñez resultado de la primera inseminación, en un tiempo no mayor a 30 días pos diagnóstico de MSC. Para lo cual se realizaron dos grupos: T1=vacas sanas (n=60); T2=vacas diagnosticadas con MSC (n=60).

#### *Determinación de mastitis subclínica (MSC)*

Se visitó las ganaderías en la hora del ordeño de la mañana, se tomó una muestra de leche de cada una de las vacas en producción (50ml), pool de los cuartos en un frasco estéril, el cual fue debidamente identificado y colocado en un cooler con gel refrigerante a 5°C, según lo describe Pérez et al., (2005). Las muestras fueron llevadas al laboratorio de microbiología de la Universidad de Cuenca.

El recuento de células somáticas (RCS), fue realizado mediante el equipo Ekomilk Biomatic Cells Analyzer Scan, (USA), para lo cual, las muestras de leche fueron colocadas en baño María a 25°C al igual que el surfactante (Ekoprim), por 20 min. Luego, en el matraz de muestreo del Ekomilk se colocó 10 ml de leche más 5 ml de surfactante Ekoprim y se obtuvieron los resultados (cs/ml). Las muestras con más 200.000 cs/ml fueron consideradas con MSC (T2) y aquellas con menos de 200.000 cs/ml (T1=sanas), como lo describieron Furman et al., (2014).

### *Determinación de preñez*

Los registros de la fecha de inseminación (IA) de los animales que ingresaron al primer ensayo fueron almacenados en la base de datos y cuando se cumplió 60 días pos IA, se procedió a realizar la determinación de la preñez mediante un ecógrafo (Aloka ProSound 2®, Tokyo-Japón) provisto de un transductor lineal de 7.5 MHz, siempre por el mismo técnico.

### *Experimento 2*

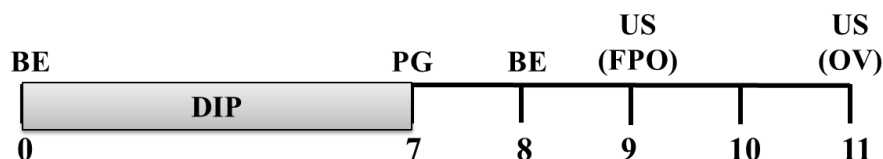
Fue prospectivo descriptivo, buscó valorar el tamaño del folículo preovulatorio y el porcentaje de ovulación, luego de la aplicación de un protocolo de sincronización convencional, a las vacas que fueron previamente diagnosticadas con MSC. Se formaron dos grupos: T1= vacas sanas (n=40) y T2=vacas con MSC (n=40).

#### *Protocolo de sincronización, valoración del tamaño del folículo preovulatorio y de la ovulación*

Las vacas conforme alcanzaron los criterios de inclusión en cada una de las ganaderías recibieron el mismo protocolo de sincronización. Día 1: dispositivo intravaginal de liberación de progesterona (DIP; CIDR®; 1.38 g de progesterona; Zoetis, Quito, Ecuador) + 2 mg de benzoato de estradiol (BE; Gonadiol®; Zoetis, Quito, Ecuador), por vía IM. Siete días después, por la mañana, se aplicó una dosis IM de 25 mg del agente luteolítico de prostaglandina (PG) a base de dinoprost trometamina (Lutalyse®, Zoetis, Quito, Ecuador) y se retiró el implante. Al día siguiente, las vacas recibieron 1 mg IM de BE (Gonadiol®).

54h posteriores al retiro del implante se exploró mediante ultrasonografía transrectal la ubicación del folículo preovulatorio (FPO), usando la técnica de barrido en ubicación latero-medial, dorso ventral y cráneo caudal, en cada ovario descrita por Ayala et al., (2019). Una vez localizado el FPO se determinó su diámetro mediante el promedio de las medidas, longitudinal y transversal.

El día 11 tras haber iniciado el protocolo de sincronización y conociendo la ubicación del FPO, mediante ecografía se valoró la ovulación del FPO y con este dato se determinó el porcentaje de ovulación (Figura. 1).



**Figura 1:** Esquema del protocolo de sincronización convencional, evaluación ultrasonográfica de la ubicación y tamaño del FPO y determinación del porcentaje de ovulación en los diferentes tratamientos. BE=benzoato de estradiol. DIP=dispositivo intravaginal de progesterona. PG=prostaglandina. FPO=folículo preovulatorio. US=ultrasonografía. OV=ovulación.

### *Experimento 3*

Se determinó la relación entre los niveles de estrógenos en sangre y en líquido folicular, de vacas sanas (n=10) y vacas diagnósticas con mastitis subclínica (n=10).

### *Valoración de estradiol en sangre y en líquido folicular*

Para la determinación de los valores de estradiol en plasma sanguíneo, se utilizó la técnica descrita por Ayala *et al.*, (2020), quienes describen que se debe tomar una muestra de sangre mediante punción de la vena coccígea (5 ml), en tubos Vacutainer™ heparinizados y agujas 18-G específicas para estos tubos. Las muestras fueron colocadas en un cooler con gel refrigerante (5°C) y llevados para su análisis al laboratorio de microbiología de la Universidad de Cuenca. En el laboratorio las muestras fueron centrifugadas a 3000 g durante 20 min. El sobrenadante fue colocado en un vial para su congelación a -20°C hasta su análisis.

Para obtener la muestra de líquido folicular se realizó punción ecoguiada (OPU) del FPO, para lo cual se inyectó xilacina al 2% (0,05 mg/kg, IM; Dormi-Xyl®2, Agrovet Market Animal Health, Perú), luego se vació el contenido rectal, se limpió la vulva y el área perineal y se aplicó lidocaína al 2% (Roxicaina® 2%, Ropsohn Therapeutics, Colombia) por vía epidural en una dosis de 0,3 mg/kg. La OPU se realizó con un ecógrafo Prosound 2, Aloka, (Japón), equipado con un transductor sectorial de 5,0 MHz ensamblado en un soporte de sonda, utilizado por vía transvaginal. Este último contenía la guía de punción conformada por una aguja hipodérmica desechable (1,2 x 75 mm) conectada en un extremo a un tubo cónico de 50 ml, a través de un sistema de teflón y el otro a una bomba de aspiración al vacío (WTA BV 003D, Brasil), con una presión regulada a 70 mmHg. Una vez obtenido el líquido folicular este fue centrifugado a 3000 g x 20min, y guardado a -20°C hasta su análisis (Ayala *et al.*, 2020).

La determinación de las concentraciones de estradiol fue realizada mediante radioinmunoensayo. El rango de la curva estándar del estradiol varió de 5 a 400 pg/ml, sensibilidad de 5,2 pg/ml, coeficiente de variación intraensayo fue del 8,1%.

### *Análisis estadístico*

Los datos obtenidos de los tres ensayos fueron ingresados en el programa Excel, en donde fueron tabulados y posteriormente analizados en el programa SPSS versión® 25. Se determinó la normalidad de los datos con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las variables cuantitativas que mostraron normalidad en sus datos fueron valoradas con la prueba T de Student y las que no poseían normalidad con Mann-Whitney. La relación entre variables cualitativas fue estimada la prueba Chi-cuadrado.

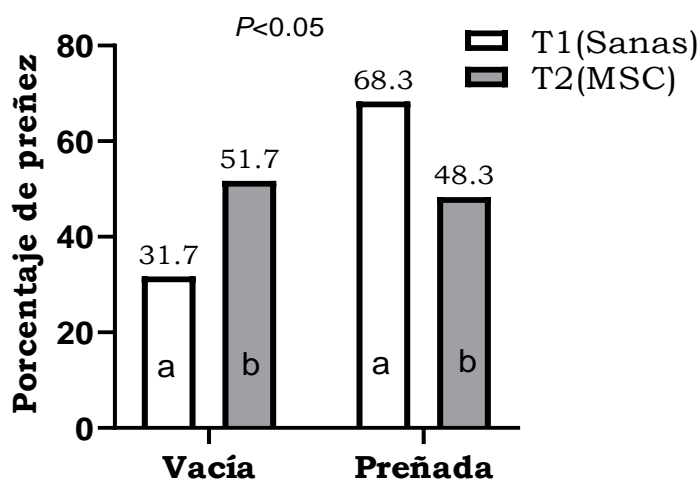
## **Resultados**

Al valorar el porcentaje de preñez del grupo de las vacas sanas (T1) y de vacas con MSC (T2), se encontró diferencias significativas entre los grupos ( $P<0,05$ ) con valores de 68,3% y 48,3% respectivamente (Figura. 2). Estos resultados son similares a los reportados por Villa *et al.*, (2017), quienes describieron que la presentación de mastitis subclínica en vacas Holstein y Normando en cualquier momento después del parto, influyen sobre el porcentajes de concepción en vacas con MSC (42,9%) comparado con vacas no infectadas (49,6%;  $P<0,05$ ). Además, la presencia de





MSC determinada por un elevado recuento de células somáticas (400.000 cs/ml), fue relacionada con una disminución del 10,75% de preñez, frente a las vacas con un recuento de células somáticas <200.000 cs/ml de 38,88% y 47,42% de gestación respectivamente (Pineda, 2017). A consecuencia de la disminución del porcentaje de concepción en ganado con esta patología, se observó un impacto significativo en el rendimiento reproductivo en el ganado lechero chileno, manifestado por un aumento de días entre el parto-primer servicio, intervalo parto-concepción y número de servicios por concepción, lo cual genera grandes pérdidas económicas en las ganaderías (Pinedo *et al.*, 2009).

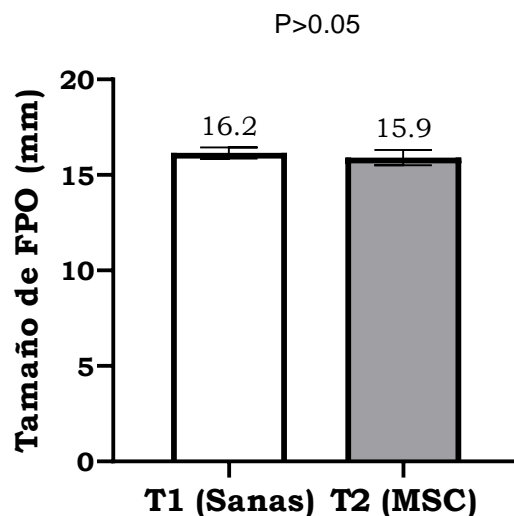


**Figura 2:** Porcentaje de preñez valorado en el grupo de vacas sanas (T1) y vacas con mastitis subclínica (T2). Letras diferentes indican diferencia estadística entre grupos. Prueba de Chi cuadrado al 5%.

#### *Tamaño del folículo preovulatorio (FPO)*

El valor medio del tamaño del folículo preovulatorio de las vacas sanas (T1=16,2±0,29 mm) fue similar, al observado en los animales diagnosticados MSC (T2=15,9±0,39 mm), sin diferencia estadística ( $P>0,05$ ) entre ellos (Figura 3). Estos resultados concuerdan con descritos por Lavon *et al.*, (2011) quienes establecieron que, el diámetro del FPO en vacas que experimentaron mastitis subclínica (16,0±0,6 mm), fueron similares al del grupo de vacas sanas (15,3±0,5). De igual manera cuando se produjo experimentalmente MSC se observó que las tasas de crecimiento y los tamaños de los folículos preovulatorios en los días 2, 4 y 6 del ciclo estral, de los animales que presentaron MSC, vs el grupo control fueron similares (Furman *et al.*, 2014). Estos resultados concuerdan con los determinados por Santos *et al.*, (2018), quienes llegaron a rechazar parcialmente la hipótesis de que la mastitis subclínica en vacas mestizas (Bos taurus - Holstein x Bos indicus - Gir) pudiesen comprometer el crecimiento folicular, ya que no se detectaron diferencias entre los tratamientos; tanto en el folículo dominante como en la tasa de crecimiento ovulatorio.

Además, es importante resaltar que la media del tamaño del FPO determinado en el presente estudio guarda relación con lo descrito para vacas de raza Holstein ( $16,4 \pm 0,1$  mm), que fueron previamente sincronizadas con una IATF convencional (Colazo *et al.*, 2015). Sin embargo, existen otros estudios que describen que los FPO de vacas Holstein  $>17,85 \pm 2,39$  mm tienen mayores posibilidades de generar una gestación (Vasconcelos *et al.*, 2001).

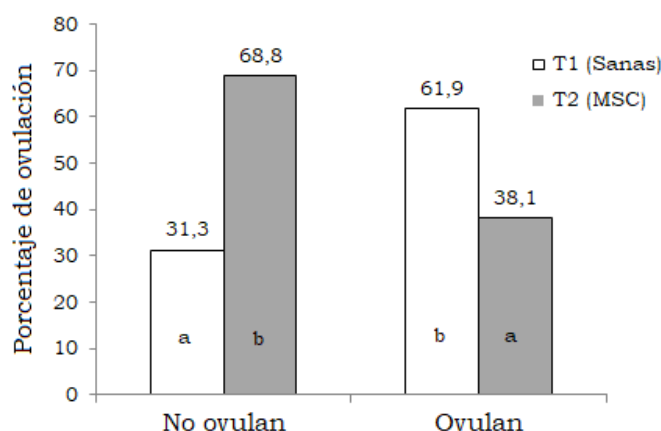


**Figura 3:** Tamaño del folículo preovulatorio (FPO) valorado en el grupo de vacas sanas (T1) y vacas con mastitis subclínica (T2=MSC). Letras diferentes indican diferencia estadística entre grupos. Prueba de T de Student al 5%.

#### Porcentaje de ovulación

Se estableció que los animales del tratamiento 1 (vacas sanas) presentaron mayor porcentaje de ovulación (61,9%) en comparación con los animales con MSC (38,1%) con diferencia estadística ( $P<0,05$ ; Figura 4). La diferencia observada en el presente trabajo es similar a los resultados descritos para animales con mastitis subclínica quienes vieron comprometida su ovulación en un 70% (Lavon *et al.*, 2011). Esta falla en la ovulación está relacionado con la reducción en la liberación pulsátil de la LH, misma que influye en la interrupción del soporte de gonadotropina para el desarrollo final del folículo, así como, la secreción preovulatoria de estradiol, que posteriormente reduce la expresión del estro, la secreción de LH y la presencia de pico preovulatorio de LH y la ovulación (Kumar *et al.*, 2017). Sin embargo, hay animales con MSC en los cuales si bien se ve afectado la oleada de LH, esta no llega a bloquear del todo la ovulación, si no que genera un retraso en la misma en promedio de 56h, comparado con las 28h que presentaron las vacas sanas, lo que finalmente reduce las posibilidades de una fertilización exitosa (Lavon *et al.*, 2011). En consecuencia si se aplica un correctivo a esta baja cantidad de LH presente al momento del estro, mediante la aplicación de fármacos exógenos es posible la disminución del retraso de la ovulación en estas vacas con MSC (Lavon *et al.*, 2016).





**Figura 4:** Porcentaje de ovulación valorado en el grupo de vacas sanas (T1) y vacas con mastitis subclínica (T2=MSC). Letras diferentes indican diferencia estadística entre grupos. Prueba de Chi cuadrado al 5%.

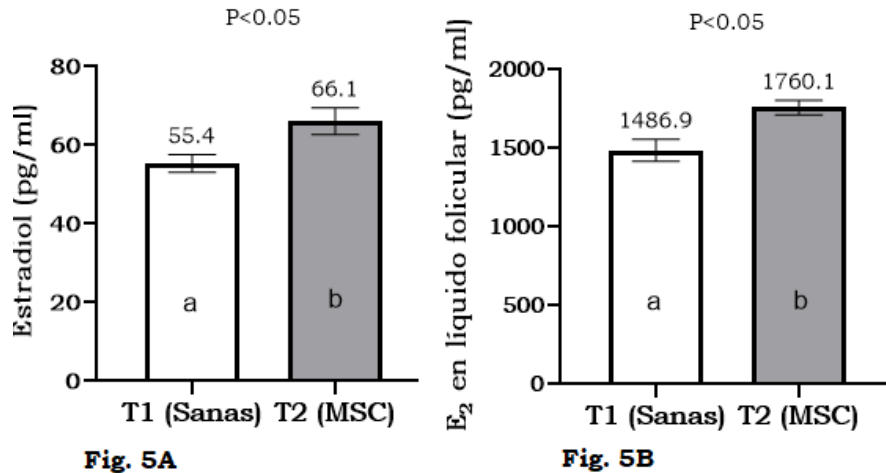
#### *Valores de estrógenos en plasma sanguíneo y en líquido folicular ( $E_2$ )*

Se determinó que el valor de Estradiol presente en plasma sanguíneo de los tratamientos T1 y T2 presentaron diferencia estadística ( $P < 0,05$ ; Figura 5A), con valores de  $55,4 \pm 2,28$  y  $66,1 \pm 3,39$  pg/ml respectivamente. Estos resultados son concordantes con los descritos en vacas que fueron infectadas MSC y valoradas en diferentes horas pos infección a las 24h; 36h y 48h ( $63,85 \pm 7,65$  y  $44,2 \pm 1,94$ ;  $60,95 \pm 7,1$  y  $45,89 \pm 3,59$ ;  $59,94 \pm 8,19$  y  $41,4 \pm 2,39$  respectivamente), llegando a determinar que los animales con MSC demuestran valores más altos de estradiol comparados con animales sanos (Musal *et al.*, 2016).

Además, los valores de estradiol del grupo testigo (T1) del presente estudio, fueron similares a los determinados en vaquillas de raza Holstein mestizas, valoradas antes de la aplicación de un protocolo de IATF convencional en tres grupos de experimentales ( $G1 = 60,3 \pm 5,16$ ;  $G2 = 47,8 \pm 7,05$  y  $G3 = 57,9 \pm 3,80$  pg/ml), bajo sistemas de manejo similares (Ayala *et al.*, 2020). Los resultados de los dos trabajos anteriores se encontraron dentro del rango (0,5 a 120 pg/ml) establecido para el estradiol en vacas Holstein (Moyano *et al.*, 2014). Sin embargo, en trabajos realizados en ganado *Bos indicus*, los valores de estradiol descritos fueron más alto ( $88,5 \pm 0,8$  pg/ml) que las concentraciones descritas en los dos trabajos antes mencionados (Opara *et al.*, 2006).

Al evaluar el nivel de estradiol presente en el líquido folicular se evidenció que los dos tratamientos en estudio (T1 y T2) igualmente mostraron diferencia estadística ( $P > 0,05$ ), siendo más alto en las vacas con MSC ( $1760,1 \pm 46,4$  pg/ml) que en los animales sanos ( $1486,9 \pm 69,8$  pg/ml; Figura 5B). Estos resultados son diferentes a los encontrados en animales sanos (1170 ng/ml), al obtener líquido del folículo preovulatorio vs animales con MSC (1115 ng/ml), esta disminución del estradiol en los animales con MSC está relacionada con la reducción de la actividad del citocromo P450 en su cadena *CYP19A1* que se expresa en las células de la granulosa; además, de una disminución de androstenediona causada por una menor expresión de *CYP11A1* y *CYP17A1* en las células de la teca (Lavon *et al.*, 2011). Así mismo, Furman *et al.*, (2014) describieron que la

infección intramamaria subclínica inducida por toxinas Gram + y Gram - causó disminución prolongada y marcada en el estradiol folicular, incluso días después de terminada la inducción de la mastitis.



**Figura 5A:** Valores medios de estradiol en plasma sanguíneo determinado en el grupo de vacas sanas (T1) y vacas con mastitis subclínica (T2=MSC). **Figura 5B:** Valores medios de estradiol en líquido folicular determinado en el grupo de vacas sanas (T1) y vacas con mastitis subclínica (T2=MSC). Letras diferentes indican diferencia estadística entre grupos. Prueba de T de Studen al 5%.

## Conclusiones

La mastitis subclínica reduce en un 20% el porcentaje de preñez de aquellas vacas que fueron infectadas hasta 30 días antes de la inseminación artificial. Sin embargo, esta no guarda relación con el tamaño del folículo preovulatorio, pero se observó un 23,8% menos de ovulaciones en los animales con MSC, posiblemente esté relacionado con la mayor concentración de estradiol tanto en suero como en líquido folicular; sin embargo, es necesario realizar más estudios para profundizar el tema.

## Referencias bibliográficas

- Abbeloos, E. (2013). Mastitis y baja fertilidad . Mecanismos que explican esta. *Boehringer Ingelheim*, 6–7.
- Ayala, L.E; Pesantez, J.L; Rodas, E.R; Dutan, J.B; Calle, G.R; Murillo, Y.A; Vázquez, J.M; Nieto, P.E; Ortega, V.V; Samaniego, J. X. (2019). Dinámica folicular de vaquillas Criollas al pastoreo en el altiplano ecuatoriano. *Archivos de Zootecnia*, 68(262), 186–192.
- Ayala, L. E., Nieto Escandón, P. E., Rodas Carpio, E. R., Sarmiento Quito, S. X., & Dután Sanango, J. B. (2020). Control de la emergencia de la onda folicular mediante la aplicación de benzoato de estradiol, GnRH y ablación folicular en el metaestro tardío en vaquillas de trópico alto. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 31(4), e17009. <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i4.17009>

- Colazo, M. G., Behrouzi, A., Ambrose, D. J., & Mapletoft, R. J. (2015). Diameter of the ovulatory follicle at timed artificial insemination as a predictor of pregnancy status in lactating dairy cows subjected to GnRH-based protocols. *Theriogenology*, 84(3), 377–383. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.03.034>
- Cook, D. R. J. (2012). Impacto de la mastitis sobre la producción de leche y la tasa de preñez mastitis las vacas quedan preñadas más fácilmente y tienen más probabilidades de quedarse en el. *Boehringer Ingelheim*, 1–2.
- Córdova, A., Córdova, C. A., Córdova, M. S., Saltijeral, J. A., Ruiz–Lang, C. G., Xolalpa–Campos, V. M., ... Guerra–Liera, J. E. (2008). Efecto de la mastitis y el estrés sobre la reproducción de la vaca. *Revista Veterinaria*, 19(2), 161. <https://doi.org/10.30972/vet.1921899>
- Córdova, Alejandro, Emmanuel, A., Reyes, I., Gustavo, C., Lang, R., Liera, E. G., ... Cervantes, R. E. (2016). Research article mastitis stress and reproduction in cows. *International Journal of Current Research*, 8(04), 29584–29588.
- Fernández Bolaños, Omar Fernando, Y. C. (2012). Mastitis bovina: Generalidades y métodos de diagnóstico. *Revista Veterinaria REVET*, 13(11), 1–11. Retrieved from [http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/infecciosas/bovinos\\_leche/78-mastitis.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/78-mastitis.pdf)
- Furman, O., Leitner, G., Roth, Z., Lavon, Y., Jacoby, S., & Wolfenson, D. (2014). Experimental model of toxin-induced subclinical mastitis and its effect on disruption of follicular function in cows. *Theriogenology*, 82(8), 1165–1172. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.08.002>
- Hertl, J. A., Gröhn, Y. T., Leach, J. D. G., Bar, D., Bennett, G. J., González, R. N., ... 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. *Journal of Dairy Science*, 93(4), 1551–1560. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2599>
- Kumar, N., Manimaran, A., Kumaresan, A., Jeyakumar, S., Sreela, L., Mooventhan, P., & Sivaram, M. (2017). Mastitis effects on reproductive performance in dairy cattle: a review. *Tropical Animal Health and Production*, 49(4), 663–673. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1253-4>
- Lavon, Y., Kaim, M., Leitner, G., Biran, D., Ezra, E., & Wolfenson, D. (2016). Two approaches to improve fertility of subclinical mastitic dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(3), 2268–2275. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9745>
- Lavon, Y., Leitner, G., Klipper, E., Moallem, U., Meidan, R., & Wolfenson, D. (2011). Subclinical, chronic intramammary infection lowers steroid concentrations and gene expression in bovine preovulatory follicles. *Domestic Animal Endocrinology*, 40(2), 98–109. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2010.09.004>
- Moyano Bautista, M. A., & Rodríguez Molano, C. E. (2014). Suplementación energética y su efecto en el nivel de colesterol y el perfil hormonal preovulatorio en vacas Energy supplementation and its effect on cholesterol levels and preovulatory hormonal profile in cows. *Rev. Salud Anim*, 36(2), 90–96. Retrieved from <http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v36n2/rsa03214.pdf>
- Mungube, E. O., Tenhagen, B. A., Regassa, F., Kyule, M. N., Shiferaw, Y., Kassa, T., & Baumann,

- M. P. O. (2005). Reduced milk production in udder quarters with subclinical mastitis and associated economic losses in crossbred dairy cows in Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production*, 37(6), 503–512. <https://doi.org/10.1007/s11250-005-7049-y>
- Musal, B., Türkyilmaz, S., Beceriklisoy, H. B., Peker, C., & Uçar, E. H. (2016). Sütçü ineklerde östrüs sırasında serum östradiol ve tümör nekrozis faktör alfa düzeyleri üzerine subklinik mastitislerin etkisi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22(5), 653–658. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2016.15000>
- OIE. Manual terrestre: OIE - World Organisation for Animal Health. Organ Mund Sanid Anim 2015:1–3. <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manualterrestre/%5Cnhttp://www.oie.int/es/normas-internacionales/codigo-terrestre/>
- Opara, M. N., Okoli, C. I., Herbert, U., & Adeyemo, O. (2006). Ovarian morphology and estradiol-17 $\beta$  concentrations in serum and follicular fluid of slaughtered zebu cattle in Ibadan, Nigeria. *Veterinarski Arhiv*, 76(5), 403–411.
- Pérez CG, Bedolla CC, Castañeda VH. 2005. Importancia del conteo de células somáticas en la cría sustentable de vacas productoras de leche. Sustentabilidad. Vol. III, No 1. Universidad de Guadalajara, Jalisco., México. pp. 86-94.
- Pineda, R. (2017). *Efecto de la mastitis subclínica y los diferentes niveles de células somáticas sobre algunos parámetros reproductivos en vacas Holstein*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Pinedo, P. J., Melendez, P., Villagomez-Cortes, J. A., & Risco, C. A. (2009). Effect of high somatic cell counts on reproductive performance of Chilean dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 92(4), 1575–1580. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1783>
- Santos, G., Bottino, M. P., Santos, A. P. C., Simões, L. M. S., Souza, J. C., Ferreira, M. B. D., ... Sales, J. N. S. (2018). Subclinical mastitis interferes with ovulation, oocyte and granulosa cell quality in dairy cows. *Theriogenology*, 119, 214–219. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.04.028>
- Song, X., Bokkers, E. A. M., van Mourik, S., Groot Koerkamp, P. W. G., & van der Tol, P. P. J. (2019). Automated body condition scoring of dairy cows using 3-dimensional feature extraction from multiple body regions. *Journal of Dairy Science*, 102(5), 4294–4308. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15238>
- Sood, P., Zachut, M., Dekel, I., Dube, H., Jacoby, S., & Moallem, U. (2017). Preovulatory follicle characteristics and oocyte competence in repeat breeder dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(11), 9372–9381. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12973>
- Vasconcelos, J. L. M., Sartori, R., Oliveira, H. N., Guenther, J. G., & Wiltbank, M. C. (2001). Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*, 56(2), 307–314. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00565-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00565-9)
- Villa-Arcila, N. A., Sanchez, J., Ratto, M. H., Rodriguez-Lecompte, J. C., Duque-Madrid, P. C., Sanchez-Arias, S., & Ceballos-Marquez, A. (2017). The association between subclinical mastitis around calving and reproductive performance in grazing dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 185, 109–117. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.08.010>
- Wolfenson, D., Leitner, G., & Lavon, Y. (2015). The disruptive effects of mastitis on reproduction and fertility in dairy cows. *Italian Journal of Animal Science*, 14(4), 650–654. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.4125>

## Contribución de los Autores

Autor	Contribución
<sup>1</sup> Yesenia Ivonne Malta García	<sup>1</sup> Diseño de la investigación; revisión bibliográfica, edición del manuscrito.
<sup>2</sup> Juan José Zambrano	<sup>2</sup> Preparación y edición del manuscrito, corrección de estilo.
<sup>3</sup> Tania Ximena Matute Deleg	<sup>3</sup> Interpretación de los datos y revisión del contenido del manuscrito.
<sup>4</sup> Erika Estefanía Pinos Rojas	<sup>4</sup> Análisis de datos y corrección de estilo.
<sup>5</sup> Jorge Bolívar Dután Sanango	<sup>5</sup> Análisis e interpretación de los datos.
<sup>6</sup> Andrés Santiago Jácome Aucay	<sup>6</sup> Análisis de datos y corrección de estilo.
<sup>7</sup> Luis Eduardo Ayala Guanga	<sup>7</sup> Análisis de datos y corrección de estilo.

### Citación/como citar este artículo:

Malta, Y. I., Zambrano, J. J., Matute, T. X., Pinos, E. E., Dután, J. B., Jácome, A. S. y Ayala, L. E. (2021). Efecto de mastitis subclínica sobre la fertilidad en vacas Holstein, criadas en el trópico alto del Ecuador. *La Técnica*, Edición Especial, 82-94. DOI: [https://doi.org/10.33936/la\\_tecnica.v0i0.3254](https://doi.org/10.33936/la_tecnica.v0i0.3254)