

UNIVERSIDAD NACIONAL
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO
POSGRADO REGIONAL EN CIENCIAS VETERINARIAS TROPICALES



**EVALUACIÓN DE FACTORES GENÉTICOS Y AMBIENTALES QUE
INCIDEN SOBRE LA MASTITIS EN GANADO LECHERO DE
COSTA RICA**

María Gabriela Mora-Mora

Heredia, Febrero del 2016

Tesis sometida a consideración del Tribunal Examinador del Posgrado Regional en Ciencias Veterinarias Tropicales para optar al grado de *Magister Scientiae* en Producción Animal Sostenible

MIEMBROS DEL TRIBUNAL EXAMINADOR

.....
José Rodríguez Zelaya Msc
Presidente Consejo Central de Posgrado

.....
Sandra Estrada König MSc
Directora PCVET

.....
Bernardo Vargas Leitón PhD
Tutor

.....
Juan José Romero Zúñiga PhD
Asesor

.....
Jorge Camacho Sandoval PhD
Asesor

.....
María Gabriela Mora-Mora
Sustentante

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN GENERAL.....	IV
AGRADECIMIENTO.....	VI
DEDICATORIA.....	VII
LISTA DE TABLAS.....	VIII
LISTA DE FIGURAS.....	IX
LISTA DE ANEXOS.....	X
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	XI

Capítulo 1. Mora-Mora, M.G. 2015. FACTORES DE RIESGO PARA MASTITIS CLINICA EN GANADO LECHERO DE COSTA RICA.

Capítulo 2. Mora-Mora, M.G. 2015. FACTORES GENÉTICOS ADITIVOS Y AMBIENTALES QUE INCIDEN SOBRE LOS RECuentOS DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN GANADO LECHERO DE COSTA RICA.

CONCLUSIONES GENERALES.....	LXVIII
RECOMENDACIONES GENERALES.....	LXIX
ANEXOS.....	LXX

RESUMEN GENERAL

La presente investigación se realizó con el objetivo de evaluar el efecto de factores ambientales y genéticos sobre la incidencia de mastitis en ganado lechero de Costa Rica.

En el primer estudio se realizó un análisis observacional de cohorte histórico que evaluó el efecto de los factores de riesgo relacionados con la vaca y su ambiente sobre la ocurrencia de eventos de mastitis clínica (MC) en ganado de lechero en Costa Rica. Se incluyeron en este análisis 313 406 lactancias, 101 125 vacas y 288 hatos. Con el fin de evaluar los posibles factores de riesgo que se asocian con la MC, se ajustaron dos modelos mixtos lineales generalizados (GLMM), con y sin efectos de lactancia previa. La prevalencia de MC a nivel poblacional fue de 11,6%, (rango = 0,3- 70,7%) y la tasa de incidencia poblacional fue de 4,7 casos por cada 10.000 días en riesgo (rango = 0,1- 5,7). Los factores fijos con efecto significativo sobre la MC fueron: zona agroecológica, grupo racial, año de parto, número de lactancias, mes de parto, periodo de lactancia, duración y producción de leche en lactancia previa e historial previo de MC. Las categorías de mayor propensión a contraer MC fueron: zona bosque seco tropical (OR:11,03), grupo racial Jersey×Pardo Suizo (OR:1,67), partos en años previos a 1995 (OR:2,19), número de lactancia 4 (OR:1,19), mes de parto Marzo (OR:1,25), periodo de lactancia 1-30 días (OR:104). Ajustando por otras covariables, un incremento de 30 días en duración de la lactancia anterior se asoció con un aumento en la probabilidad de MC (OR = 1,04; IC 95%). Un incremento de 1 000 kg en la producción previa de leche se asoció con un aumento en la probabilidad de MC de un 20% (IC 95%). Estos hallazgos son útiles para el desarrollo de protocolos preventivos enfocados a reducir la incidencia de mastitis en los grupos de mayor riesgo.

En el segundo estudio, también un análisis observacional de cohorte histórico, se evaluó el efecto de factores genéticos y ambientales sobre el puntaje de células somáticas [SCS, por sus siglas en inglés, = \log_2 (RCS/1 000)] en ganado lechero de Costa Rica. Se analizaron 183 116 registros individuales de células somáticas provenientes de 39 883 lactancias, 21 880 vacas, 241 hatos y 2 razas. Se ajustó un modelo mixto con efectos fijos de hato, raza, número de lactancia, mes y año de registro y periodo de lactancia; y efectos aleatorios de ambiente permanente, hato×semental y vaca. A partir de este modelo, se estimaron los componentes de varianza para los

efectos aleatorios y parámetros genéticos de heredabilidad (h^2) y repetibilidad (r), así como los estimados de valor de cría (BLUP, por sus siglas en inglés) con su respectiva confiabilidad. El valor promedio de SCS fue 7,0 (DE = 1,9). Todos los efectos fijos, con excepción de la raza, se asociaron significativamente con el SCS. El SCS aumentó conforme aumentaron las lactancias. Además, se observó que las vacas que habían parido en enero presentaban mayores SCS, mientras que las que había parido en abril y mayo presentaron menores SCS; también se identificó una reducción en los SCS de las vacas que había parido después del año 2004. Se observó un patrón no lineal en SCS a lo largo de la lactancia, iniciando con valores altos de 7,5 en los primeros 30 días posparto, que se redujeron hasta alcanzar un mínimo de 6,6 en el día 60 posparto, y luego aumentaron progresivamente hasta un valor máximo de 8,1 en el día 365 posparto. Se obtuvo un índice de heredabilidad de 0,1 (DE = 0) y una repetibilidad de 0,3 (DE = 0) para SCS. El promedio de confiabilidad de los BLUP en vacas fue de 0,4 (DE = 0,2) y en toros fue de 0,4 (DE = 0,2). Estos resultados son útiles para la formulación de programas de control de SCS a nivel de hato basados en prevención o manejo adecuado de los factores de riesgo identificados y la optimización del descarte en vacas problema.

AGRADECIMIENTO

A mis padres, mi hermana y novio por su amor, cariño y comprensión. Por su incondicional apoyo durante toda mi vida, en las buenas y en las malas, y por darme fuerzas para seguir adelante.

Al PhD. Bernardo Vargas Leitón, en su calidad de coordinador de la Maestría, profesor y tutor, por su apoyo, dedicación, exigencias y enseñanzas durante la maestría en general y especialmente para la redacción de este proyecto.

Al PhD. Juan José Romero Zúñiga y al PhD. Jorge Camacho Sandoval por el tiempo dedicado a la revisión del proyecto, sus importantes recomendaciones y sus enseñanzas durante todo el proceso.

Al personal del Posgrado en Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional por su colaboración y apoyo durante todo mi proceso de estudio y realización de la tesis.

DEDICATORIA

A mis padres, hermana y novio por su ejemplo, apoyo y amor. Por ser una fuente de inspiración constante para lograr alcanzar las metas propuestas.

LISTA DE CUADROS

CAPITULO 1

Cuadro 1.....	38
Estadísticos asociados a factores riesgo que inciden sobre la ocurrencia de MC en ganado lechero de Costa Rica, obtenidos del análisis de regresión logística de efectos mixtos en el modelo base y modelo alternativo.	
Cuadro 2.....	39
Razón de probabilidades (OR) y probabilidad marginal (PM) a sufrir MC, con intervalos de confianza (IC 95%) para los factores de riesgo tipo racial, año de parto, zona ecológica y número de parto, según modelo alternativo (con efectos de lactancia previa).	
Cuadro 3.....	42
Razón de probabilidades (OR) y probabilidad marginal (PM) de ocurrencia de MC, con intervalos de confianza (IC 95%) para los factores de riesgo de lactancia, mes de parto y periodo de lactancia, según modelo alternativo (con efectos de lactancia previa).	

CAPITULO 2.

Cuadro 1.....	55
Estadísticos para los factores incluidos en el Análisis de Varianza de la variable SCS.	
Cuadro 2.....	61
Componentes de varianza para SCS obtenidos a partir de la solución del modelo [1].	

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO 1.

Figura 1.....	35
Distribución de hatos según frecuencia relativa de MC (n=288 hatos).	
Figura 2.....	36
Distribución de hatos según tasa de incidencia de MC (n=288 hatos).	

CAPITULO 2

Figura 1.....	58
Valores predichos e Intervalos de confianza 95% de la variable SCS para todas las clases de los factores Raza, Lactancia, Mes y Año de Registro.	
Figura 2.....	59
Valores predichos e Intervalos de confianza 95% de la variable SCS según periodo 1 (0-15 d posparto) a 24 (350-365 d posparto).	
Figura 3.....	60
Histograma de los valores predichos por hato para la variable SCS.	
Figura 4.....	62
Histograma de Mejores Estimadores Lineales Insegados (BLUP) de la variable SCS para los individuos dentro de la muestra evaluada.	

LISTA DE ANEXOS

CAPITULO 1.

Anexo 1.....	LXX
Razón de probabilidades (OR) y probabilidad marginal (PM) de ocurrencia de MC, con intervalos de confianza (IC95%) para los factores de riesgo de tipo racial, mes de parto, periodo de parto, zona agroecológica de vida, número de partos y estadio de lactancia, según modelo sin efectos de lactancia previa.	

INTRODUCCIÓN GENERAL

Producción de leche en Costa Rica

La producción de leche tiene un gran impacto socioeconómico para Costa Rica. La Cámara Nacional de Productores de Leche (CNPL) estimó que para el 2013 cerca de 144 mil personas dependían directamente de la actividad lechera y aproximadamente 9 mil personas dependían indirectamente de esta actividad (CNPL 2013). En este mismo año, se estimó que el sector lechero empleaba un 12% de la fuerza laboral del país (PROCOMER 2012). En Costa Rica se registran 129 empresas productoras de lácteos (SENASA, 2013), las cuales representan un 3,6% de las empresas dedicadas a la industria alimentaria. Por otra parte, el 60% de la leche producida en el país se procesa en el sector formal, constituido por cooperativas (84,8%) u organizaciones de capital privado (15,2%), ambas con una gran estabilidad para la compra de materia prima (CORFOGA 2000; CNPL 2014).

Para el año 2014, Costa Rica exportó 53,1 millones de kilogramos de leche fluida (equivalente a \$158,53 millones), posicionándose como el principal exportador de este producto de Latinoamérica y el Caribe (CNPL 2015, PROCOMER 2014). Países como Guatemala (35%), República Dominicana (16%), El Salvador (13%), Honduras (11%), Panamá (10%), Nicaragua (7%), Cuba (3%) y Venezuela (3%) fueron sus principales destinos comerciales. La Cooperativa de Productores de Leche Dos Pinos R.L., Embutidos ZAR S.A. y Productores de Monteverde S.A. fueron las tres principales empresas exportadoras del país ese año (CNPL 2015, PROCOMER 2014). Asimismo, los principales productos lácteos en relación al volumen exportado fueron las leches fluidas (58%), leche en polvo (14%), yogurt (7%), leches saborizadas (4%), helados (4%) y quesos (3%) (CNPL 2015).

La producción de leche en el país se lleva a cabo en sistemas especializados y en sistemas de doble propósito. En los sistemas de lechería especializada se ordeña dos o tres veces al día, sin utilizar el ternero al pie de la vaca ya que los machos se sacrifican o venden a los pocos días de nacidos y las hembras que se seleccionan se terminan de criar utilizando fórmulas artificiales o leche de descarte, sin tener contacto con la madre (Pérez 1999). Este tipo de sistemas presentan un mayor avance tecnológico pues

cuentan con equipo de ordeño mecánico, sistemas rotativos de pasturas (utilizando cargas animales de entre 2 y 3 animales por hectárea) y suministro de alimentos concentrados como complemento a la alimentación con pasto. Además, en estos sistemas los pastos son mejorados, se utilizan razas lecheras especializadas como la Holstein y la Jersey, cuentan con producciones promedio entre los 15 y 20 kg/vaca/día, emplean la inseminación artificial y venden la leche directamente a plantas industriales (Celis 2007).

Por su parte, en los sistemas doble propósito los animales se ordeñan una vez al día y se utilizan los terneros con un amamantamiento restringido, criando tanto a las hembras como a los machos (Pérez 1999). La tecnología utilizada en este tipo de sistemas es mucho menor y la inseminación artificial, rotación de pasturas, pastos mejorados y ordeño mecánico son poco comunes. En los sistemas de doble propósito se utilizan animales de razas lecheras cruzados con animales de razas cebuinas y la leche producida, en la mayoría de los casos, es utilizada para producir quesos comerciales (Celis 2007).

Desde los años sesenta, la producción láctea en Costa Rica ha incrementado en promedio un 7% anual, aumentando de 118 000 toneladas en 1961 a 1 077 000 toneladas en el 2014 (CNPL 2015). Asimismo, entre los años 1961 y 2014 hubo un aumento sustancial en el número de cabezas animales dedicadas a esta actividad, pasando de 132 800 animales a 947 995 animales, de los cuales 557 327 (35,4%) fueron de doble propósito y 390 668 (24,8%) de lechería especializada (CNPL 2015, FAO 2013, Madrigal y Fallas 2013).

Mastitis

La mastitis es la inflamación del tejido mamario productor de leche (Eberhart 1987). Esta inflamación se produce cuando microorganismos patogénicos entran a través del esfínter del pezón, multiplicándose en ésta y produciendo toxinas perjudiciales para la glándula mamaria (Nielsen 2009). Como resultado de este proceso, se da una infiltración de constituyentes sanguíneos, proteínas séricas, enzimas y sales en la leche; disminuye el contenido de lactosa, caseína, grasa y proteína en la leche; y aumenta el nivel de elementos indeseables como enzimas lipasas y plasminas, las cuales rompen

las estructuras de grasa y caseína en la leche, respectivamente (Blowey y Edmondson 2010).

La mastitis, de acuerdo al grado de severidad de la infección, se puede clasificar en clínica, subclínica y crónica. La mastitis clínica (MC) se caracteriza por la presencia de signos cardinales de inflamación (tumor, rubor, calor, color) y cambios evidentes en las características organolépticas de la leche. Por su parte, en la mastitis subclínica (MSC) no se observan signos de inflamación en la ubre o anomalías en la leche; sin embargo, sí se da un cambio en la composición de la leche, detectable únicamente mediante pruebas especiales o por análisis de laboratorios. En la mastitis crónica, se da un proceso inflamatorio que se extiende por más de una lactancia (McGill University 2003; Blowey y Edmondson 2010).

Células somáticas

Las células somáticas (CS) son primariamente leucocitos (75%) y células epiteliales, producto de la descamación del epitelio de los conductos de la leche dentro de la ubre (25%), que se producen como consecuencia de los ordeños (McGill University 2003, Blowey y Edmondson 2010). Cuando un animal sufre de mastitis, se genera un aumento en el número de neutrófilos en la leche y, consecuentemente, se produce un aumento en las células somáticas (90% polimorfonucleares) (Jones 2006).

Las CS tienen dos funciones primordiales: combatir microorganismos infectantes mediante fagocitosis e intervenir en la reparación del tejido secretor dañado por una infección o por una lesión (Hernández y Bedolla 2008). La mayoría de estas lesiones en el tejido secretor ocurren debido al funcionamiento inadecuado del equipo de ordeño y a diseños deficientes de instalaciones de las lecherías (García 2004, Blowey y Edmondson 2010). Por su parte, aspectos como lesiones en la ubre, número de partos, etapa lactacional, época del año, intervalo entre ordeños, nutrición, estrés fisiológico, variación diurna entre ordeños, edad del animal, procedimientos deficientes de ordeño y mal estado y manejo de las máquinas ordeñadoras, entre otros, aumentan la susceptibilidad de las vacas a las infecciones bacterianas (Biffa *et al.* 2005, Bradley y Green 2005, Elbably *et al.* 2013).

Recuento de células somáticas (RCS)

Blowey y Edmondson (2010) definen el RCS como el número de células, distintas a las células bacterianas invasoras, que están presentes en la leche. La cantidad de CS brinda una idea del estado sanitario de la ubre durante la lactancia, aspecto de gran importancia para la calidad de la leche (Wolter *et al.* 2004). Se considera que un nivel normal de CS en la leche, proveniente de cuartos no infectados, se encuentra por debajo de las 200 000 CS/ml de leche (Harmon 2001); sin embargo, en animales que se encuentran en su primera lactancia, esta cantidad puede ser aún menor a 100 000. Cuando se obtiene un RCS mayor a 200 000 CS/ml en el tanque, se puede confirmar la presencia de mastitis subclínica en el hato (García 2004). Cuando existe un alto RCS en la leche que va a ser comercializada, se corre el riesgo de que ésta desarrolle sabores desagradables como resultado del cambio en la composición de los sólidos no grasos y la grasa butírica, además de que disminuye el rendimiento en los procesos productivos y su vida útil en anaquel (Ma *et al.* 2000, Santos *et al.* 2002).

Es importante mencionar que, desde 1983, los RCS se han transformado logarítmicamente y modelado como puntajes de células somáticas (SCS, por sus siglas en inglés). La razón principal por la que se realiza esta transformación es la generación de una variable con una distribución normal y con una varianza uniforme (Shook y Schutz 1994).

Factores desencadenantes de la mastitis

La mastitis es una enfermedad de difícil erradicación al verse afectada por múltiples factores (Andresen 2001) que pueden clasificarse como asociados al animal (intrínsecos) o medioambientales (extrínsecos).

Factores intrínsecos

Dentro de los factores asociados a los animales, se incluyen su raza, constitución genética, número de partos o lactancias, periodo de la lactancia, nivel de producción e intervalos reproductivos (Steeneveld *et al.* 2008). Por ejemplo, la evidencia sugiere que la mastitis es un rasgo heredable con índices de heredabilidad que oscilan entre 0,7% y 11,1% (dependiendo de la forma de medición y la escala en que se exprese), y que

existe un factor genético que actúa sobre la susceptibilidad de la glándula mamaria a la infección (Rupp y Boichard 2004, Oltenacu y Broom 2010). También se han generado reportes de que existe una mayor susceptibilidad a la mastitis en vacas con una mayor velocidad de ordeño y mayor producción; estos animales también presentan un riesgo mayor de sufrir lesiones en los pezones (Gasque y Blanco 2001).

Con respecto a la edad al parto y el número de lactancias, se conoce que las vacas más viejas son las que tienden a presentar mayores RCS en la leche (Blowey y Edmondson 2010). Asimismo, se ha observado que las primerizas tienden a presentar RCS entre 20 000 y 100 000 CS/ml. En un estudio donde se incluyeron vacas primerizas, vacas entre su segunda y cuarta lactancia y vacas con más de cinco lactancias, se encontró que el 11% de las primerizas tenía recuentos mayores a 100 000, en comparación con 21% en el segundo grupo y el 46% de las vacas con más de cinco lactancias (Blowey y Edmondson 2010). Por su parte, de acuerdo con Oltenacu y Broom (2010), las vacas con altos registros de producción son más propensas a contraer mastitis (correlaciones genéticas de 0,5 entre el nivel de producción y su incidencia de casos clínicos de mastitis).

En lo que concierne al periodo de la lactancia, se ha encontrado que es durante el periodo seco cuando existe mayor susceptibilidad a la mastitis clínica, y principalmente dos semanas después del secado y dos semanas antes del parto. Esta susceptibilidad se debe al debilitamiento del sistema inmune, provocado especialmente por la liberación de cortisol, como resultado del estrés causado a las vacas durante el parto (Biffa *et al.* 2005, Cook 2013, Elfably *et al.* 2013). De manera inversa sucede con las infecciones subclínicas, las cuales pueden incrementarse conforme avanza el periodo de lactancia debido a la incapacidad de bloquear la transmisión de bacterias contagiosas (Hoedemaker *et al.* 2001)

Factores extrínsecos

Algunos de los factores externos que pueden influir en la incidencia de mastitis son la zona donde se ubica la finca, el hato, el año y la época de parto, las prácticas de alimentación, las prácticas del ordeño, la calidad e higiene del albergue, las condiciones climatológicas del entorno y las prácticas de manejo preventivo o terapéutico, entre otras (Andresen 2001, Schukken *et al.* 2010). Por ejemplo, aspectos como una cama limpia y

seca, sin materia fecal, orina y humedad reducen la acumulación de bacterias, el riesgo de infección y, consecuentemente, el riesgo de mastitis en las vacas en confinamiento. El manejo del estiércol y el uso de materiales inorgánicos con poca retención de humedad como la arena lavada se recomiendan para el adecuado manejo de las vacas confinadas (Biffa *et al.* 2005, Elfably *et al.* 2013).

En relación con el clima y/o la época del año en zonas tropicales, la estación lluviosa cuenta con una mayor proliferación y transmisión de patógenos y, por ende, una mayor prevalencia de mastitis (Biffa *et al.* 2005, Elfably *et al.* 2013). En países de clima templado, la incidencia más alta de la enfermedad se reporta en los meses de verano, los cuales presentan las condiciones ambientales idóneas para el desarrollo de bacterias causantes de mastitis (Olde *et al.* 2007).

Otro factor importante que ha sido objeto de estudio son los procedimientos de ordeño, ya que dentro de este proceso existen aspectos claves, tales como el equipo y la rutina. El mantenimiento adecuado del equipo de ordeño y de sus componentes, así como una presión de vacío apropiada para la línea utilizada en la sala de ordeño son importantes para disminuir el riesgo de mastitis en los animales. Por su parte, la rutina de ordeño es importante pues durante esta labor aumenta la probabilidad de transmisión de patógenos causantes de la enfermedad. Los aspectos de limpieza y preparación de los animales son importantes, resguardando el cumplimiento de los tiempos de ordeño recomendados y la correcta aplicación del producto de sellado de los pezones una vez finalizado el ordeño (Mora-Mora 2012).

Métodos estadísticos para el análisis de mastitis

Al ser la mastitis una enfermedad de origen multifactorial, resulta apropiado utilizar modelos estadísticos complejos para examinar los factores involucrados en su ocurrencia. De acuerdo al objetivo del estudio y del nivel meta, se debe seleccionar el tipo de modelo estadístico (Gasqui y Barnouin 2003).

De acuerdo con Gasqui y Barnouin (2003) y Schukken *et al.* (2010), existe una complicación particular al analizar los eventos de mastitis: el potencial incumplimiento de supuestos estadísticos de independencia. Esto se debe a que, a lo largo de una misma

o distintas lactancias de una vaca o entre animales de un mismo hato, pueden existir importantes correlaciones entre mediciones repetidas del evento de mastitis.

En los estudios epidemiológicos de mastitis, el enfoque de base poblacional es el preferido; esto quiere decir que se prefiere utilizar información recopilada de múltiples hatos, vacas, lactancias y cuartos de ubres (Gasqui y Barnouin 2003). Cuando se desea analizar la ocurrencia de mastitis, usualmente se realiza una simple observación visual de los síntomas clínicos de la enfermedad para realizar el diagnóstico a nivel de hato, reportando la fecha del evento para el registro de la información (Caraviello *et al.* 2005). Una opción para el análisis de esta variable son los modelos de regresión logística, pues la variable respuesta es de tipo dicotómico (presencia/ausencia de mastitis) (Novoa *et al.* 2005). Otra opción son los modelos de regresión basados en análisis de sobrevida paramétricos o no paramétricos. Este tipo de análisis permite modelar el riesgo de ocurrencia del evento (mastitis) a través de la lactancia (Schukken *et al.* 2010) y tiene la ventaja de que permite incorporar observaciones censuradas (lactancias sin evento al final del periodo de estudio), lo que facilita la medición del tiempo que transcurre hasta una respuesta de interés (Buis 2006).

Los métodos no paramétricos o semiparamétricos que se han empleado para estudiar la ocurrencia de mastitis son las curvas de Kaplan Meier (Green *et al.* 2007) y los modelos de regresión de Riesgos Proporcionales de Cox (Gasqui y Barnouin 2003, Schukken *et al.* 2010, Van den Borne *et al.* 2011). Estos últimos modelos, de acuerdo con Schukken *et al.* (2010), modelan el tiempo que transcurre hasta el evento y permiten ajustar por varias covariables al mismo tiempo, incluyendo variables confusoras. Asimismo, estos modelos de riesgo proporcional permiten hacer inferencias sobre los efectos de las covariables sin tener que especificar la forma del riesgo basal, aún cuando las unidades experimentales tienen funciones de riesgo proporcionales a través del tiempo (Machin *et al.* 2006).

En el caso de los RCS o su transformación a puntajes logarítmicos (SCS), los modelos de regresión lineal mixtos son los preferidos, debido a la continuidad y propiedades distribucionales de la variable respuesta. Una de las ventajas de los modelos mixtos es que son apropiados para distribuciones no normales y para una amplia variedad de patrones de correlación (o estructuras de varianza-covarianza). Los

modelos mixtos también permiten tomar en cuenta los valores perdidos y manejan naturalmente el espaciado desigual de medidas repetidas, ya sea intencional o no intencional (Seltman 2013). Para la evaluación genética de SCS se utilizan diferentes tipos de modelos mixtos basados, tales como los modelos univariados con repetibilidad incluida, modelos de regresión aleatoria o modelos multivariados (Marker *et al.* 2002, Vallimont *et al.* 2009).

Planteamiento del problema

El objetivo principal de la ganadería moderna es maximizar la relación entre la salud animal, la productividad y la inocuidad de los alimentos derivados. La demanda en las normativas de seguridad alimentaria y el bienestar animal es creciente, por lo que los ganaderos deben implementar buenas prácticas ganaderas, dentro de las que se incluyen las prácticas veterinarias preventivas que buscan aumentar la sostenibilidad de las unidades productivas en finca. Por su parte, las procesadoras de lácteos, mediante el establecimiento de normas de recepción y premiaciones por calidad de la leche, buscan asegurar la recepción de una materia prima ideal, que pueda utilizarse para el desarrollo de productos con valor nutricional óptimo para los consumidores y que garantice la vida útil necesaria en el anaquel. En nuestro país, como muestra de los esfuerzos permanentes de la industria para garantizar la recepción de materia prima de alta calidad, la Cooperativa de Productores de Leche Dos Pinos R.L bonifica hasta un 3% sobre el precio por kilogramo de leche pagado a los productores cuando su RCS está por debajo de las 100 000 CS/ml (Cooperativa de Productores de Leche Dos Pinos R.L. 2010).

Mundialmente se reconoce que la salud del hato constituye, sin lugar a duda, el factor que más incide en la productividad de las empresas pecuarias. Para el sector lechero, los detrimentos en la productividad son causados principalmente por problemas de mastitis y, de manera más específica, por la mastitis subclínica. Según Nielsen (2009), en Suecia, en el 2009 se estimaron pérdidas económicas de hasta \$85 por vaca/año en hatos con RCS entre las 200 000 y 400 000 CS/ml y de \$380 por vaca/año en hatos con más de 400 000 CS/ml. Esta pérdida económica se debió a la disminución en la producción de leche resultado de mastitis. Pese a lo anterior, sin embargo, se deja

de contemplar la contaminación cruzada existente en el hato, valor subdimensionado por el productor (Farre 2013). En nuestro país, se estima una pérdida de 1,56 kg de leche/vaca/día por mastitis subclínica, lo cual equivale a un 17,6% en la producción total por cuarto afectado (De Graaf y Dwinger 1996).

Diversos estudios han evidenciado que existe una prevalencia de mastitis subclínica bastante alta en los hatos lecheros de Costa Rica. Vargas *et al.* (2013) reportaron un promedio de 365 013 CS/ml en un grupo de 1 081 fincas lecheras. Asimismo, Quesada (1994) encontró una prevalencia de mastitis subclínica de un 28% por vaca y del 11% por cuartos. En este último estudio, un 61,2% de los cuartos que resultaron positivos a la prueba de California (CMT) tenían RCS entre las 200 000 y 500 000 CS/ml; y un 30% de los cuartos evaluados mostraron valores superiores a las 500 000 CS/ml.

El presente estudio ofrece una oportunidad para identificar qué factores ambientales y genéticos se asocian con el riesgo de mastitis en las fincas ganaderas de Costa Rica. Del mismo modo, este estudio genera evidencia que deberá ser tomada en cuenta por los profesionales y los productores de leche en la elaboración de programas de prevención y control de la mastitis en los hatos lecheros del país.

BIBLIOGRAFÍA

ANDRESEN H. 2001. Mastitis, prevención y control. Rev. Inv. Vet. Perú 12:55-64.

BIFFA D., DEBELA E., BEYENE F. 2005. Prevalence and Risk Factors of Mastitis in Lactating Dairy Cows in Southern Ethiopia. International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine (3): 189-198.

BLOWEY R.W., EDMONDSON P. 2010. Mastitis Control in Dairy Herds. 2 ed. CAB International, Reino Unido. 266 p.

BRADLEY A., GREEN M. 2005. Use and interpretation of somatic cell count data in dairy cows. In Practice 27: 310-315.

BUIS M.L. 2006. An introduction to Survival Analysis (en línea). Consultado 27 mar. 2014. Disponible en <http://maartenbuis.nl/wp/survival.pdf>

- CARAVIELLO D.Z., WEIGEL K.A., SHOOK G.E., RUEGG P.L. 2006. Assessment of the impact of somatic cell count on functional longevity in Holstein and Jersey cattle *J Dairy Sci.* 89: 1804-1811
- CELIS R. 2007. Los pequeños productores agropecuarios de Costa Rica ante el DR-CAFTA: análisis de cuellos de botella y competitividad en las cadenas de aceite de palma, pollo, cerdo, leche y *Dracaena marginata* (en línea). San José, Costa Rica. Consultado 24 set. 2013. Disponible en <http://www.hacienda.go.cr/centro/datos/Articulo/Los%20pequeños%20productores%20agropecuarios%20de%20CR%20ante%20el%20DR-CAFTA.pdf>.
- CNPL (CÁMARA NACIONAL DE PRODUCTORES DE LECHE, CR). 2013. Producción Nacional de Leche y Aporte a la Economía Nacional (en línea). Consultado 23 abr. 2013. Disponible en <http://www.proleche.com/images/Producci%C3%B3n%20de%20leche%20y%20aporte%20a%20la%20econom%C3%ADa%20nacional.pdf>
- CNPL (CÁMARA NACIONAL DE PRODUCTORES DE LECHE, CR). 2014. Situación Actual y Perspectivas del Sector Lácteo Costarricense: Visión de la Cámara Nacional de Productores de Leche (en línea). Consultado 18 ene. 2015. Disponible en http://www.proleche.com/recursos/documentos/congreso2014/Situacion_actual_y_perspectivas_del_sector_lacteo_nacional_Vision_de_la_Camara_Nacional_de_Productores_de_Leche._Ing._Jose_Antonio_Madriz_Carrillo,_Presidente_CNPL.pdf
- CNPL (CÁMARA NACIONAL DE PRODUCTORES DE LECHE, CR). 2015. Análisis de la competitividad del sector lácteo costarricense: Visión de la Cámara (en línea). Consultado 26 oct. 2015. Disponible en <http://proleche.com/recursos/documentos/congreso2015/produccion/Charla1.pdf>
- COOK A. 2013. Dry Cow Management (en línea). Consultado 30 nov. 2015. Disponible en <http://businesswales.gov.wales/farmingconnect/sites/farming/files/dry-cow-management.pdf>

- COOPERATIVA DE PRODUCTORES DE LECHE DOS PINOS R.L. 2010. Reglamento de Recibo de Leche. s.n.t. 26 p.
- CORFOGA (CORPORACIÓN DE FOMENTO GANADERO, CR). 2000. Análisis del Censo Ganadero 2000 (en línea). Consultado el 5 jul. 2011. Disponible en <http://www.corfoga.org/pdf/proyecto/censo2000.pdf>
- DE GRAAF T., DWINGER R.H. 1996. Estimation of milk production losses due to sub-clinical mastitis in dairy cattle in Costa Rica. *Prev. Vet. Med.* 26: 215-222.
- EBERHART R.J., HARMON R.J., JASPER D.E., NATZKE R.P., NICKERSON S.C., RENEAU J.K., ROW E.H., SMITH K.L., SPENCER S.B. 1987. *Current Concepts of Bovine Mastitis*. 3rd ed. National Mastitis Council, Inc., Arlington, VA.
- ELBABLY M.A., EMEASH H.H., ASMAA N.M. 2013. Risk Factors Associated with Mastitis Occurrence in Dairy Herds in Benisuef, Egypt. *World's Veterinary Journal* 3(1): 05-10.
- ERDEM H., ATASEVER S., KUL E. 2007. Some Environmental Factors Affecting Somatic Cell Count of Holstein Cows. *Journal of Applied Animal Research* 32: 173-176.
- FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION). 2013. FAOSTAT (en línea). Consultado 23 abr. 2013. Disponible en <http://faostat.fao.org/site/569/DesktopDefault.aspx?PageID=569#ancor>
- FARRE M. 2013. Economic output of different somatic cell strategies. San Diego, California, Estados Unidos. 52nd Annual Meeting, National Mastitis Council.
- GARCÍA A.D. 2004. Células somáticas y alto recuento bacteriano. ¿Cómo controlarlo? (en línea). Consultado 5 jul.2011. Disponible en http://pubstorage.sdstate.edu/AgBio_Publications/articles/ExEx4031-S.pdf
- GASQUE R., BLANCO M.A. 2001. *Zootecnia en bovinos productores de leche*. Ciudad de México, México, Universidad Nacional Autónoma de México. 238 p.

- GASQUI P., BARNOUIN J. 2003. Statistical modelling for clinical mastitis in the dairy cow: problems and solutions. *Vet. Res.* 34: 493-505.
- GILMOUR A.R., GOGEL B.J., CULLIS B.R., THOMPSON R. 2009. *ASReml User Guide Release 3.0* VSN International Ltd, Hemel Hempstead, UK. 372 p.
- GREEN M.J., BRADLEY A.J., MEDLEY G.F., BROWNE W.J. 2007. Cow, farm, and management factors during the dry period that determine the rate of clinical mastitis after calving. *J. Dairy Sci.* 90: 3764-3776.
- HARMON R.J. 1994. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 77: 2103-2112.
- HARMON R.J. 2001. Somatic cell counts: a primer. Reno, Nevada, Estados Unidos. 40th Annual Meeting, National Mastitis Council. 6 p.
- HERNÁNDEZ R., BEDOLLA C. 2008. Importancia del CCS en la calidad de la leche (Importance of the somatic cells count in the quality of milk). *REDVET* 9(9): 33-66.
- HOEDEMAKER M., KORFF B., EDLER B., EMMERT M., BLECKMANN E. 2001. Dynamics of *Staphylococcus aureus* infections during vaccination with an autogenous bacterin in dairy cattle. *Journal of Veterinary Medicine Series B* 48: 373-383.
- JONES G.M. 2006. Understanding the basics of mastitis (en línea). Consultado 11 jul 2011. Disponible en http://pubs.ext.vt.edu/404/404-233/404-233_pdf.pdf.
- MA Y., RYAN C., BARBANO D.M., GALTON D.M., RUDAN M.A., BOOR K.J. 2000. Effects of SCC on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. *J. Dairy Sci.* 83: 264-274.
- MACHIN D., CHEUNG Y.B., PARMAR M.K.B. 2006. *Survival Analysis: A Practical Approach*. Second Edition. John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, Inglaterra. 266 p.
- MADRIGAL J., FALLAS M.A. 2013. Informe Encuesta Ganadera 2012 (en línea). Consultado el 19 nov. 2013. Disponible en <http://corfoga.org/2012/wp-content/uploads/2012/09/Informe-Preliminar-de-Muestreo-Ganadero.pdf>

- MARK T., FIKSE W.F., EMANUELSON U., PHILIPSSON J. 2002. International genetic evaluations of Holstein sires for milk somatic cell and clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 85: 2384-2392.
- MCGILL UNIVERSITY. 2003. Mastitis in dairy cows (en línea). Ste. Anne de Bellevue, PQ, Canada. Consultado 2 jul. 2011. Disponible en <http://animsci.agrenv.mcgill.ca/courses/450/topics/13.pdf>
- MORA-MORA M.G. 2012. Efecto del estado del esfínter de los pezones sobre la presencia de mastitis en fincas lecheras de la Región Huetar Norte de Costa Rica, asociadas de la Cooperativa de Productores de Leche Dos Pinos R.L. Tesis de Licenciatura, Instituto Tecnológico de Costa Rica, San Carlos, Costa Rica.
- NIELSEN C. 2009. Economic Impact of Mastitis in Dairy Cows. Tesis Doctoral, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Suecia,. 81 p.
- NOORDHUIZEN J.P.T.M., BUURMAN J. 1984. Veterinary automated management and production control program for dairy farms (VAMPP). The application of MUMPS for data processing. *Veterinary Quarterly* 6:62-77.
- NOVOA R. ARMENTEROS M., ABELEDO M.A., CASANOVAS E., VALERA R., CABALLERO C., PULIDO J. 2005. Factores de riesgo asociados a la prevalencia de mastitis clínica y subclínica. *Rev. Salud Anim.* 27(2): 84-88.
- OLDE R.M., BARKEMA H., STRYHN H. 2007. The Effect of Season on Somatic Cell Count and the Incidence of Clinical Mastitis. *J. Dairy Sci.* 90: 1704-1715.
- OLTENACU P.A., BROOM D.M. 2010. The impact of genetic selection for increased milk yield on the welfare of dairy cows. *Animal Welfare* 19(S): 39-49.
- PÉREZ E., BAAYEN M.T., CAPELLA E., BARKEMA H. 1989. Development of a livestock information system for Costa Rica. In Kuil, H; Palin, RW; Huhn, JE. eds. *Livestock Production and Diseases in the Tropics. Proceedings 4th International Conference Inst. Trop. Vet. Med. Utrecht; The Netherlands.* p. 221-224.
- PÉREZ E. 1999. Condiciones en la Cadena de Producción e Industrialización de Leche y Productos Lácteos. Taller la normativa ambiental: experiencias y oportunidades

para la empresa privada en la ganadería e industria láctea. San José, Costa Rica. 12-27 p.

PROCOMER (PROMOTORA DEL COMERCIO EXTERIOR DE COSTA RICA, CR). 2012. Productos lácteos: calidad y nutrición en su mesa (en línea). San José, Costa Rica. Consultado 25 feb. 2013. Disponible en <http://www.procomer.com/contenido/sector-alimentario.html>

PROCOMER (PROMOTORA DEL COMERCIO EXTERIOR DE COSTA RICA, CR). 2015. Estadísticas de Comercio Exterior de Costa Rica 2014 (en línea). San José, Costa Rica. Consultado 19 oct. 2015. Disponible en <http://www.procomer.com/uploads/downloads/anuario-estadistico-2014.pdf>

QUESADA C. 1994. Incidencia de mastitis subclínica en seis fincas de la zona de San Carlos. Práctica de Especialidad de Bachillerato en Ingeniería Agronómica, Instituto Tecnológico de Costa Rica, San Carlos, Costa Rica. 76 p.

RICE D., BODMAN G. 1993. G93-1151 The somatic cell count and milk quality. Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, Nebraska, Estados Unidos. 6 p.

RUPP R., BOCCHARD D. 2004. Genetics of resistance to mastitis in dairy cattle. Vet. Res. 34 (2003): 671–688.

SANTOS M.V., MA Y., BARBANO D.M. 2002. Effect of somatic cell count on pasteurized fluid milk quality. Proceedings of the Regional Meeting of the National Mastitis Council. 28-30 p.

SAS INST. INC. 2009. SAS/STAT® User's guide: Statistics; Version 9.2. Cary; NC, USA.

SCHUKKEN Y.H., BARB D., HERTL J., GRÖHN Y.T. 2010. Correlated time to event data: Modeling repeated clinical mastitis data from dairy cattle in New York State. Prev. Vet. Med. 97: 150-156.

SHOOK G.E., SCHUTZ M.M. 1994. Selection on somatic cell score to improve resistance to mastitis in the United States. J. Dairy Sci. 77:648-658.

- SENASA (SERVICIO NACIONAL DE SALUD ANIMAL, CR). 2013. Sistema Integrado de Registro de Establecimientos Agropecuarios (SIREA) (en línea). Consultado 19 nov 2013. Disponible en http://registrosenasa2.addax.cc/zf_Registro/Index/consultaestablecimiento
- SELTMAN H.J. 2013. Experimental design and analysis. Carnegie Mellon University, Pittsburgh, Pennsylvania, Estado Unidos. 428 p.
- STEENEVELD W., HOGEVEEN H., BARKEMA H.W., VAN DEN BROEK J., HUIRNE R.B.M. 2008. The Influence of Cow Factors on the Incidence of Clinical Mastitis in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 91:1391-1402.
- VALLIMONT J.E., DECHOW C.D., SATTTLER C.G., CLAY J.S. 2009. Heritability estimates associated with alternative definitions of mastitis and correlations with somatic cell score and yield. *J. Dairy Sci.* 92: 3402-3410.
- VAN DEN BORNE B.H.P., VERNOOIJ J.C.M., LUPINDU A.M., VAN SCHAIK G., FRANKENA K., LAM T.J.G.M., NIELENA M. 2011. Relationship between somatic cell count status and subsequent clinical mastitis in Dutch dairy cows. *Prev. Vet. Med.* 102: 265-273.
- VARGAS B., SOLÍS O., SÁENZ F., LEÓN H. 2013. Análisis multivariado para caracterización y clasificación de Hatos lecheros en Costa Rica. *Agron. Mesoam.* 24: 257-275.
- WOLTER W., CASTAÑEDA H., KLOPPERT B., ZSCHÖCK M. 2004. La mastitis bovina. Editorial Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México. 68 p.
- ZEMANATE A., GRASS R. 2005. Relación de resultados entre pruebas de resazurina y CCS para la determinación de la calidad higiénica y sanitaria de la leche y los efectos de elevados número de células somáticas en la calidad de la leche procesada. *Revista Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial* 3(1): 104-109.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto de factores ambientales y genéticos sobre la incidencia de mastitis en ganado lechero de Costa Rica.

Objetivos específicos

1. Estimar el efecto de factores de riesgo relacionados con la vaca, el hato y la zona agroecológica sobre la ocurrencia de eventos de mastitis clínica durante la lactancia.
2. Estimar el efecto de factores genéticos aditivos y factores relacionados con la vaca lechera y el hato sobre el recuento de células somáticas durante la lactancia en vacas Jersey y Holstein.

Capítulo 1

***FACTORES DE RIESGO PARA MASTITIS CLINICA EN GANADO LECHERO DE
COSTA RICA***

MARÍA GABRIELA MORA-MORA

FACTORES DE RIESGO PARA MASTITIS CLINICA EN GANADO LECHERO DE COSTA RICA

María Gabriela Mora-Mora

RESUMEN

Se realizó un análisis observacional de cohorte histórico que evaluó el efecto de los factores de riesgo relacionados con la vaca y su ambiente sobre la ocurrencia de eventos de mastitis clínica (MC) en ganado de lechero en Costa Rica. Se incluyeron en este análisis 313 406 lactancias, 101 125 vacas y 288 hatos. Con el fin de evaluar los posibles factores de riesgo que se asocian con la MC, se ajustaron dos modelos mixtos lineales generalizados (GLMM), con y sin efectos de lactancia previa. La prevalencia de MC a nivel poblacional fue de 11,6%, (rango= 0,3 - 70,7%) y la tasa de incidencia poblacional fue de 4,7 casos por cada 10.000 días en riesgo (rango = 0,1- 5,7). Los factores fijos con efecto significativo sobre la MC fueron: zona agroecológica, grupo racial, año de parto, número de lactancias, mes de parto, periodo de lactancia, duración y producción de leche en lactancia previa e historial previo de MC. Las categorías de mayor propensión a contraer MC fueron: zona bosque seco tropical (OR:11,03), grupo racial Jersey×Pardo Suizo (OR:1,67), partos en años previos a 1995 (OR:2,19), número de lactancia 4 (OR:1,19), mes de parto Marzo (OR:1,25), periodo de lactancia 1-30 días (OR:104). Ajustando por otras covariables, un incremento de 30 días en duración de la lactancia anterior se asoció con un aumento en la probabilidad de MC (OR = 1,04; IC 95%). Un incremento de 1 000 kg en la producción previa de leche se asoció con un aumento en la probabilidad de MC de un 20% (IC 95%). Estos hallazgos son útiles para el desarrollo de protocolos preventivos enfocados a reducir la incidencia de mastitis en los grupos de mayor riesgo.

Palabras claves: Factor de riesgo, mastitis clínica, regresión logística, vacas lecheras.

SUMMARY

Risk factors for clinical mastitis in dairy cattle in Costa Rica. A retrospective observational study was conducted to evaluate risk factors related to the cow and its environment on the occurrence of early events of clinical mastitis (CM) in dairy cattle in Costa Rica. Data on 313 406 lactations from 101 125 cows and 288 herds were available. Logistic regression was used to evaluate potential risk factors affecting CM. Two generalized linear mixed models (GLMM), with and without effects from previous lactations. The relative frequency of CM at the population level was 11.6% (range = 0.3 to 70.7) between herds, and the incidence rate was 4.65 cases per 10 000 days at risk (range = 0.092 to 5.7) between herds. The fixed factors with significant effect on CM were agroecological zone, racial group, year, number and month of calving, stage of lactation, duration and milk production in previous lactation, and history of CM in previous lactation. Categories with higher propensity to CM were: tropical dry forest (OR: 11.03), breed type Jersey×Brown Swiss (OR: 1.67), birth-year before to 1995 (OR:2.19), fourth parity (OR:1.19), month of calving March (OR: 1.25), stage of lactation 1-30 days (OR:1.04). Adjusting for other covariates, an increase of 30 days duration of previous lactation was associated with an increased likelihood of chronic mastitis (OR = 1.04; 95% CI). An increase of 1 000 kg in the previous milk production was associated with an increased likelihood of chronic mastitis by 20% (95%). These findings are useful to develop preventive protocols aimed at reducing the incidence of mastitis in the groups with a higher risk.

Keywords: Risk factors, clinical mastitis, logistic regression, dairy cows.

1. INTRODUCCIÓN

La mastitis es la inflamación del tejido mamario productor de leche que se produce cuando microorganismos patogénicos entran a través del esfínter abierto del pezón, multiplicándose y perjudicando la salud de la glándula mamaria (Nielsen 2009). Esto tiene como resultado la infiltración de constituyentes sanguíneos, proteínas séricas, enzimas y sales en la leche, que a su vez disminuyen el contenido de lactosa, caseína, grasa y proteína (Blowey y Edmondson 2010).

La mastitis es una enfermedad de difícil erradicación ya que es afectada por múltiples factores (Andresen 2001), asociados tanto con la vaca como con su entorno. Algunos de los factores asociados a la vaca son su raza, predisposición genética, número de partos o lactancias, etapa de la lactancia, nivel de producción e intervalos reproductivos (Steenefeld et al. 2008). Por ejemplo, una vaca puede presentar predisposición genética a contraer mastitis debido a sus características anatómicas, estado nutricional, parto, estado de lactación, involución mamaria, lactogénesis o el uso de determinados procedimientos de manejo (Rupp y Boichard 2004, Oltenacu y Broom 2010). Las vacas con altos registros de producción son las más propensas a contraer mastitis, habiéndose reportado correlaciones genéticas de 0,5 entre producción e incidencia de MC (Oltenacu y Broom 2010). Por otro lado, se ha reportado que las vacas más viejas tienden a presentar mayores RCS en la leche, mientras que las primerizas tienden a presentar RCS entre 20 000 y 100 000 CS/ml (Blowey y Edmondson 2010). En lo que concierne a la etapa de la lactancia, se ha encontrado que durante el periodo seco, pero principalmente dos semanas después del secado y dos semanas antes del parto, las vacas tienen una mayor susceptibilidad a la MC (Biffa et al. 2005, Elbably et al. 2013).

Algunos de los factores del entorno que pueden influir en la incidencia de MC son la zona donde se ubica la finca, el hato-año-época de parto, las prácticas de alimentación, el procedimiento de ordeño, la calidad e higiene de área de confinamiento, las condiciones climatológicas y las prácticas de manejo preventivo y/o terapéutico (Andresen 2001, Schukken et al. 2010). A modo de ejemplo, durante la estación lluviosa existe una mayor proliferación y transmisión de patógenos y, por ende, un mayor riesgo de mastitis (Biffa et al. 2005, Elbably et al. 2013).

En Costa Rica se han conducido pocos estudios relacionados con la prevalencia de mastitis en el ganado lechero. En los años noventa, Quesada (1994) reportó una prevalencia de MSC de 28% por vaca y 11% por cuartos. Recientemente, un estudio observó un promedio de 365 013 CS/ml en un grupo de 1 081 fincas lecheras (Vargas et al. 2013). Sin embargo, hasta la fecha, no se han realizado en el país estudios a nivel poblacional que evalúen los factores de riesgo que contribuyen en el desarrollo de la mastitis. Por lo tanto, el presente estudio examinó los factores de riesgo relacionados con la vaca, el hato y la zona agroecológica, y estimó su efecto sobre la ocurrencia eventos de MC durante la lactancia.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Fuente de información

Se realizó un estudio de carácter observacional y prospectivo histórico utilizando la información recolectada en la base costarricense de datos VAMPP (Noordhuizen y Buurman 1984, Pérez et al. 1989) del programa Consultoría Regional en Informática para la Producción Animal Sostenible (CRIPAS), entre el 1 de enero de 1990 y el 31 de diciembre del 2013.

La base de datos incluyó 101 125 vacas distribuidas en 288 hatos lecheros. El total de lactancias analizadas fue de 313 406, para un promedio de 3,1 (DE = 2,0) lactancias por vaca. Los periodos de seguimiento de las vacas, los hatos y las lactancias fueron de longitud variable (desde los pocos meses y hasta 20 años).

2.2. Definición de caso, criterios de inclusión y exclusión

La información obtenida de los hatos fue organizada a nivel de lactancias por vaca, de manera que cada parto representara una observación. En el presente estudio, cada caso constituyó el primer evento de MC para las lactancias analizadas. Cada lactancia en la que se reportó al menos un evento de MC fue contabilizada como un caso presente, mientras que aquellas en las que no se reportó ningún evento de MC se contabilizaron como casos ausentes. En los casos de múltiples reportes de MC dentro de una misma lactancia solo se contabilizó y analizó el primer evento.

El diagnóstico y registro de MC fue realizado por el personal de la finca con base en los síntomas característicos de la MC (inflamación, dolor y secreción alterada de leche). Esto conlleva un factor importante de incertidumbre, ya que la eficiencia de registro y reporte de los eventos pudo variar sustancialmente entre hatos y entre fincas. Por esta razón, un criterio de inclusión para este estudio fue que el hato tuviera al menos 10 eventos positivos de MC reportados, esto con el propósito de excluir los hatos que del todo no registraron este tipo de evento sanitario.

2.3. Análisis estadístico

Se calcularon dos medidas relacionadas con la frecuencia de aparición del evento analizado. La primera fue la Frecuencia Relativa (FR) de MC, obtenida mediante la siguiente fórmula:

$$FR = \frac{n_{(+)}}{N}$$

donde:

- $n_{(+)}$: Número de lactancias con casos de MC,
- N : Número total de lactancias evaluadas.

Este parámetro refleja la proporción de lactancias afectadas dentro del total. Sin embargo, no es del todo eficiente para efectos comparativos, ya que las lactancias, animales y hatos presentaron diferentes periodos de seguimiento. Por este motivo se calculó también la tasa de incidencia (Rothman et al. 2008), definida por la siguiente fórmula:

$$\pi = \frac{n_{(+)}}{\sum DAR}$$

donde:

- DAR: Número total de días a riesgo de sufrir el evento. En el caso de lactancias completas, los DAR presentaron la longitud de la lactancia respectiva. En el caso de lactancias incompletas, los DAR correspondieron a los días transcurridos desde el parto y hasta el último día de lactancia registrado. En ambos casos, para lactancias demasiado extensas, se estableció un valor máximo de corte de 510 días, por lo que los valores que

superaron este número se fijaron a 510. Los días posteriores a la ocurrencia de un evento de MC no fueron contabilizados dentro de los DAR (Rothman et al. 2008).

Se condujeron pruebas estadísticas de tendencia central y dispersión para FR y TI, tanto para la muestra completa como a nivel de hato.

El análisis de los factores potencialmente asociados con la ocurrencia de MC se realizó mediante el uso de Modelos Mixtos Lineales Generalizados (GLMM, por sus siglas en inglés; Kleinbaum y Klein 2010), basados en una distribución logística, con y sin efectos de lactancia previa. El modelo estadístico sin efectos de lactancia previa (modelo base) se detalla a continuación:

$$\text{Logit}P(F_{ijklmnu} = 1|x) = (\beta_0 + v_{oi}) + \beta_1 R_j + \beta_2 M_k + \beta_3 Y_l + \beta_4 Z_m + \beta_5 N_n + \beta_6 E_o + h_{ou} + \varepsilon_{ijklmnu}$$

donde:

- Logit $P(F_{ijklmnu} = 1|X)$: Probabilidad de que el i -ésimo animal sufra un primer caso de MC dado que pertenece a la j -ésima raza, pare en el k -ésimo mes, en el l -ésimo año, es de la m -ésima zona de vida, tiene n -ésimo número de partos y pertenece al u -ésimo hato.
- $(\beta_0 + v_{oi})$: Intercepto sujeto-específico para el i -ésimo animal.
- $\beta_1 R_j$: Efecto fijo del j -ésimo grupo racial. Clases: Holstein (H8), Jersey (J8), Pardo Suizo (PS8), Guernsey (G8), Cruce Holstein×Jersey (H×J), Cruce Holstein×Pardo Suizo (H×PS), Cruce Jersey×Pardo Suizo (J×PS), Cruce *Bos taurus*×*Bos indicus* (BT×BI), Cruce Holstein×Pardo Suizo×Jersey (H×P×J).
- $\beta_2 M_k$: Efecto fijo para el k -ésimo mes de parto. Clases: Enero hasta Diciembre.
- $\beta_3 Y_l$: Efecto fijo para el l -ésimo año de parto. Clases: anterior a 1995, 1995-1999, 2000-2004, 2005-2009 y posterior a 2009.
- $\beta_4 Z_m$: Efecto fijo para la m -ésima zona de vida (Holdridge 1987). Clases: Bosque húmedo premontano, Bosque húmedo tropical, Bosque muy

húmedo montano, Bosque muy húmedo montano bajo, Bosque muy húmedo premontano, Bosque muy húmedo tropical, Bosque pluvial montano bajo, Bosque seco tropical, Bosque húmedo montano bajo.

- $\beta_5 N_n$: Efecto fijo para el n-ésimo número de parto. Clases: 1 hasta ≥ 6 .
- $B_6 E_o$: Periodo de la lactancia. Clases: 1 a 30 días posparto, 31 a 60, ... (≥ 451 días posparto).
- h_{ou} : Efecto aleatorio para el u-ésimo hato.
- ε : Error residual aleatorio $N(0, \sigma_s^2)$.

El modelo con efectos de lactancia previa (modelo alternativo) consideró, además de los factores descritos para el modelo anterior, otros factores de riesgo adicionales:

- $\beta_7 C_p$: Efecto fijo para la o-ésima historia de casos de MC previos (Clases: 1 Caso presente, 0 Caso no presente).
- $B_8 L_q$: Efecto fijo para la q-ésima duración de la lactancia anterior (en días).
- $B_9 S_r$: Efecto fijo para la r-ésima duración del periodo seco (en días).
- $B_{10} P_s$: Efecto fijo para la s-ésima producción previa corregida a 305 días (en kg).
- $\beta_{11} A_t$: Efecto fijo para la t-ésima duración del intervalo entre partos (en días).

En este modelo con efectos de lactancia previa, la cantidad de información analizada se redujo considerablemente pues fue necesario excluir a las hembras de primer parto que no tenían lactancias previas y los hatos que no registraban la producción de leche.

Ambos modelos fueron analizados mediante el comando GLIMMIX del programa estadístico SAS (SAS Inst. 2009). Este comando permite considerar modelos con efectos aleatorios, errores correlacionados y estructuras de correlación causadas por existencia de agrupaciones o conglomerados. En el presente estudio, los efectos de animal y hato fueron considerados como aleatorios, ya que un mismo animal pudo tener varios casos de MC durante su vida productiva. Del mismo modo, el efecto de hato podría causar una correlación estructural debido a que existen características afines dentro de ese conglomerado de animales.

A partir de los resultados del modelo se calcularon las probabilidades marginales (PM) de ocurrencia de MC para cada categoría dentro de factor, así como también la razón de posibilidades (odds ratio, OR) para cada categoría con respecto a una categoría de referencia.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Frecuencia relativa y tasa de incidencia

Se contabilizó un total de 36 415 lactancias con al menos un caso de MC reportado, para una frecuencia relativa (FR) global de 11,6%. A nivel de hato, las frecuencias relativas oscilaron entre 0,3% y 70,7%, con un promedio de 13,6% y una desviación estándar de 12,2% (Figura 1, superior). La frecuencia relativa obtenida se asemejó a prevalencias reportadas por estudios conducidos en Etiopía (11,9%; Biffa et al. 2005) y Egipto (9,9%; Elbably et al. 2013), pero fue inferior a las prevalencias observadas en los Países Bajos (19,1%; Steeneveld et al. 2008) y Canadá (23,0%; Olde et al. 2008).

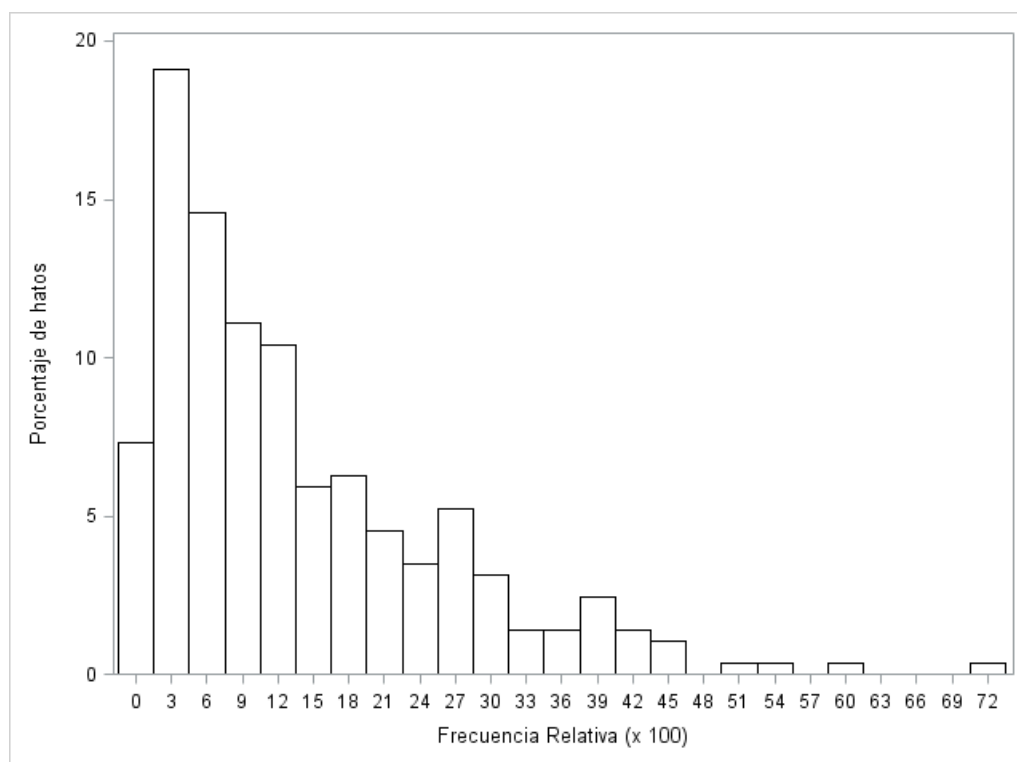


Figura 1. Distribución de hatos según frecuencia relativa de mastitis clínica (n=288 hatos).

La tasa de incidencia obtenida fue 4,7 casos por cada 10 000 DAR o 0,2 casos por año en riesgo. Esta tasa de incidencia es similar a las tasas reportadas en estudios realizados en los Países Bajos (2,0-7,4 casos por cada 10 000 DAR; Steeneveld et al. 2008), en Uruguay (0,1 casos por año en riesgo; Giannechini et al. 2002) y en Etiopía (0,2 casos por año en riesgo; Almaw et al. 2012), pero inferior a la tasa observada en Canadá (6,3 casos de MC por 10 000 DAR; Olde et al. 2008). A nivel de hato, las tasas de incidencia oscilaron entre 0 y 57 casos por cada 10 000 DAR, con un promedio de 6,6 casos por cada 10 000 DAR o 0,2 casos por año en riesgo (Figura 2). Tasas de incidencia con rangos de variación entre hatos similares fueron reportadas en un estudio canadiense reciente (0-27 casos por cada 10 000 DAR; Olde et al. 2008).

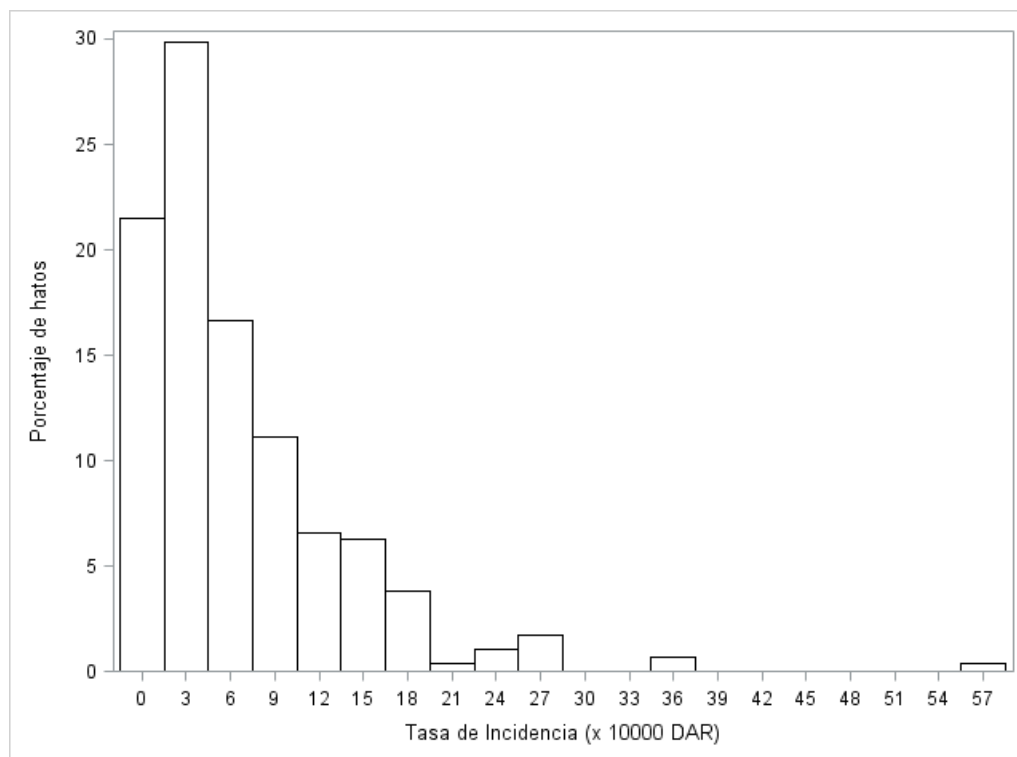


Figura 2. Distribución de hatos según tasa de incidencia de mastitis clínica (n=288 hatos).

Las distribuciones de FR y TI entre hatos fueron claramente asimétricas; la mayoría de los hatos presentó bajas FR o TI, pero sólo unos pocos mostraron valores más elevados. Entre ambos estadísticos (FR y TI) se obtuvo una correlación de 96,6%, lo que expone un comportamiento similar para ambos. Es importante considerar que es

factible que se haya producido un subregistro de casos de MC en algunos hatos, debido a que los datos fueron reportados voluntariamente. También es importante considerar que, dado que hubo gran variabilidad en el tamaño de las fincas, las fincas de mayor tamaño podrían haber tenido un peso mayor en los estimados. Es posible también que haya existido una gran variación en la cantidad de lactancias disponibles por hato (rango = 40-16 023), por lo que la precisión de los estimados intra-hato fue muy heterogénea.

3.2. Modelo de regresión logística

Ambos modelos de regresión logística convergieron con ajustes altamente significativos ($P < 0,001$). Los resultados del modelo base (o sin efectos de lactancia previa) indicaron que todos los factores de riesgo evaluados se asociaban de forma significativa ($P < 0,05$) con la ocurrencia de MC (Cuadro 1). Cuando se ajustó en el modelo por los efectos de lactancias previas (modelo alternativo), la mayoría de los factores de riesgo se mantuvieron asociados de manera significativa con la ocurrencia de mastitis, con excepción de zona ecológica y periodo de secado previo.

Cuadro 1. Estadísticos asociados a factores riesgo que inciden sobre la ocurrencia de MC en ganado lechero de Costa Rica, obtenidos del análisis de regresión logística de efectos mixtos en el modelo base y modelo alternativo.

Factores de riesgo	Modelo base ¹			Modelo alternativo ²		
	GL ³	Valor F	Valor P	GL	Valor F	Valor P
<u>Efectos Fijos</u>						
Tipo racial	8	33,1	<0,01	6	8,9	<0,01
Mes de parto	11	6,2	<0,01	11	6,7	<0,01
Año de parto	4	188,3	<0,01	4	155,6	<0,01
Zona ecológica	8	2,5	0,01	8	1,6	0,13
Número de parto	5	242,1	<0,01	4	35,1	<0,01
Periodo de lactancia	14	1 930,1	<0,01	14	1333,6	<0,01
Caso previo de mastitis	-	-	-	1	845,5	<0,01
Duración de la lactancia previa ⁴	-	-	-	1	97,9	<0,01
Duración del periodo seco previo ⁴	-	-	-	1	3,8	0,05
Producción de leche (305 d) previa ⁴	-	-	-	1	318,2	<0,01
<u>Efectos aleatorios</u>						
		Magnitud	E.E		Magnitud	E.E
Hato		1,4	0,11		1,7	0,16
Residual		1,2	0,003		1,2	0,004

¹ El modelo base (sin efectos de lactancia previa) incluyó 313 406 lactancias, de 101 125 vacas en 288 hatos.

² El modelo alternativo (con efectos de lactancia previa) incluyó 172 346 lactancias, de 63 304 vacas en 280 hatos.

³ Grados de libertad del efecto correspondiente.

⁴ Incluidas como covariables.

Como se observa en el Cuadro 1, los componentes de varianza estimados para los efectos aleatorio de hato y residual fueron similares en ambos modelos, en ambos casos siendo mayor el componente del hato, lo que denota la importancia del factor hato en la variabilidad observada para la ocurrencia de MC, según se observó en las Figuras 1 y 2.

Los Cuadros 2 y 3 muestran las razones de posibilidades (*odds ratio*, OR) y las probabilidades marginales (PM) de presentación de primeros eventos de MC para vacas en diferentes categorías de un mismo factor de riesgo, obtenidos a partir de la solución del modelo alternativo (con efectos de lactancias previas). Los valores obtenidos del modelo sin efectos de lactancias previas (Anexo 1) fueron similares para las categorías coincidentes.

Cuadro 2. Razón de probabilidades (OR)¹ y probabilidad marginal (PM) a sufrir MC, con intervalos de confianza (IC 95%) para los factores de riesgo tipo racial, año de parto, zona ecológica y número de parto, según modelo alternativo (con efectos de lactancia previa).

Factores de riesgo	n	OR	IC _{OR} 95%		PM	IC _{PM} 95%	
			LI	LS		LI	LS
<u>Tipo racial</u>							
Jersey	49 429	1,38	1,17	1,63	0,09	0,07	0,12
Holstein×Jersey	33 968	1,35	1,15	1,58	0,09	0,07	0,11
Holstein	70 897	1,56	1,34	1,83	0,10	0,08	0,13
Holstein×Pardo Suizo	7 919	1,28	1,14	1,45	0,09	0,07	0,11
Cruce Jersey×Pardo Suizo	2 350	1,67	1,37	2,04	0,11	0,08	0,14
Guernsey	1 699	1,65	0,98	2,77	0,11	0,06	0,17
Pardo Suizo	6 084	1,00			0,07	0,05	0,09
<u>Año de parto</u>							
Previo a 1995	11 375	2,19	1,98	2,43	0,13	0,10	0,16
1995 a 1999	27 624	1,66	1,54	1,80	0,10	0,08	0,13
2000 a 2004	37 989	1,30	1,22	1,39	0,08	0,06	0,10
2005 a 2009	50 489	1,93	1,82	2,04	0,11	0,09	0,14
Posterior a 2009	44 869	1,00			0,06	0,05	0,08
<u>Zona ecológica</u>							
Bosque húmedo premontano	26 538	1,76	0,71	4,37	0,09	0,06	0,13
Bosque muy húmedo montano	1 364	1,28	0,28	5,91	0,07	0,02	0,21
Bosque muy húmedo montano bajo	21 282	1,69	0,66	4,28	0,09	0,06	0,13
Bosque muy húmedo premontano	38 886	1,64	0,69	3,91	0,09	0,06	0,12
Bosque muy húmedo tropical	44 156	1,39	0,59	3,30	0,07	0,05	0,10
Bosque pluvial montano bajo	12 275	1,77	0,69	4,50	0,09	0,06	0,14
Bosque seco tropical	931	11,33	2,30	55,75	0,39	0,14	0,72
Bosque húmedo montano bajo	20 537	1,03	0,38	2,75	0,06	0,03	0,09
Bosque húmedo tropical	6 377	1,00			0,05	0,02	0,11
<u>Número de parto</u>							
2	46 144	1,03	0,97	1,09	0,08	0,06	0,11
3	38 604	1,25	1,18	1,33	0,10	0,08	0,13
4	30 339	1,36	1,27	1,45	0,11	0,08	0,13
5	22 488	1,23	1,15	1,32	0,10	0,08	0,12
6 y posteriores	34 771	1,00			0,08	0,06	0,10

Abreviaturas: LI, límite inferior; LS, límite superior.

¹Los OR se reportan en relación a la última categoría dentro de cada variable.

En el caso del tipo racial (Cuadro 2), los grupos más propensos a sufrir mastitis clínica fueron el cruce de Jersey×Pardo Suizo y la raza Guernsey, mientras que el grupo menos propenso fue la raza Pardo Suizo. Entre las dos 2 razas más comunes en Costa Rica, se observa que la Holstein tiende a una mayor propensión que la Jersey, si bien los OR no difieren significativamente entre sí. Las probabilidades de MC oscilan entre 0,07 (Pardo Suizo) y 0,11 (Jersey×Pardo Suizo y Guernsey). Los OR de los grupos *Bos taurus*×*Bos indicus* y el cruce Holstein×Pardo Suizo×Jersey no aparecen en este modelo alternativo, ya que no contaban con información para la covariable de producción. No obstante, los OR obtenidos para estos grupos, según el modelo base fueron 1,0 (IC 95% 0,9-1,2) y 1,4 (IC 95% 1,0-1,8), respectivamente.

Estudios previos han reportado que las vacas de la raza Holstein presentan un riesgo mayor de sufrir MC, en comparación con vacas de las razas Jersey, criollas, y sus cruces (Biffa *et al.* 2005, Santivañez *et al.* 2013). Sin embargo, la selección intensa por parámetros de producción en algunas razas lecheras podría influir negativamente en su propensión a MC, dado que existe una correlación genética negativa entre producción y propensión a MC (Oltenacu y Broom 2010). Otros estudios han reportado que no existe un efecto significativo de la raza sobre la prevalencia de MC (Rahman *et al.* 2009, Prendiville *et al.* 2010, Richert *et al.* 2013).

En cuanto al año de parto (Cuadro 2), la mayor propensión a MC se observó en las vacas paridas antes de 1995 y la menor en vacas paridas después del 2009. La tendencia en los periodos intermedios no es consistente, ya que se presentan altibajos. Las probabilidades marginales de MC oscilaron entre 0,06 (posterior a 2009) y 0,13 (anterior a 1995). Estas variaciones en el tiempo podrían estar ligadas a varios factores tanto ambientales como de manejo. Por ejemplo, es necesario tomar en cuenta que la población de hatos no es uniforme, sino que ha ido aumentando con el paso del tiempo, y que los factores climáticos también sufren cambios notables a lo largo de los años o periodos.

Según el modelo alternativo, la zona agroecológica (Cuadro 2) en la que se dio una mayor propensión a MC fue el bosque tropical seco y las de menor propensión fueron el bosque húmedo tropical y el bosque húmedo montano bajo. Las probabilidades marginales de MC oscilaron entre 0,11 y 0,39. Aunque esta variable no fue

estadísticamente significativa en el modelo alternativo, sí lo fue en el modelo base. No obstante, las tendencias en los OR y PM mostraron patrones concordantes en ambos modelos, con una marcada mayor propensión para la zona bosque tropical seco y menor para bosque húmedo tropical. Esta mayor propensión a MC en la zona bosque tropical seco podría estar ligada a las altas temperaturas características de esta zona, que facilitarían la mayor proliferación de bacterias causantes de esta enfermedad. Sin embargo, también debe considerarse que gran parte de los hatos de esta zona son de doble propósito, donde las prácticas de ordeño y manejo difieren marcadamente de los hatos de otras zonas. Otro factor que debe considerarse es la baja disponibilidad de datos en esta zona, lo que incrementa los errores estándar y disminuye la precisión de los estimados.

En el Cuadro 2 se observa que las vacas más propensas a MC fueron aquellas con cuatro lactancias, mientras que las menos propensas fueron las de seis o más lactancias. Se debe tener en cuenta que en el modelo con efectos de lactancia previa no se incluyeron las primerizas, que es precisamente el grupo menos propenso de acuerdo con los resultados del modelo sin efectos de lactancia previa. Las probabilidades marginales de MC oscilaron desde 0,03 (primera lactancia, del modelo sin efectos de lactancia previa) hasta 0,08 (tercer, cuarto y quinto parto; modelo con efectos de lactancia previa). En ambos modelos, la probabilidad de contraer MC aumentó de manera consistente hasta las lactancias cuatro y cinco y luego se estabilizó. Es posible que en lactancias más avanzadas haya existido un efecto de selección pues las vacas más propensas a MC son desechadas paulatinamente. Steeneveld *et al.* (2008) también reportaron una menor incidencia de MC en primerizas en comparación con vacas multíparas.

En cuanto a los meses de parto, se observó que las vacas que parieron en los meses de marzo, abril y mayo tuvieron una mayor propensión a presentar MC, mientras que las que parieron en octubre y noviembre fueron menos propensas (Cuadro 3). Las probabilidades marginales de MC oscilaron entre 0,06 (octubre y noviembre) y 0,08 (febrero hasta mayo). En este período de tres meses en el cual se observó una mayor prevalencia de mastitis constituye usualmente el intervalo más calientes del año (IMN 2016).

Cuadro 3. Razón de probabilidades (OR) y probabilidad marginal (PM) de ocurrencia de MC, con intervalos de confianza (IC 95%) para los factores de riesgo de lactancia, mes de parto y periodo de lactancia, según modelo alternativo (con efectos de lactancia previa).

Factores de riesgo	n	OR	IC _{OR} 95%		PM	IC _{PM} 95%	
			LI	LS		LI	LS
<u>Mes de parto</u>							
Enero	15 294	1,03	0,94	1,13	0,09	0,07	0,11
Febrero	12 274	1,17	1,06	1,29	0,10	0,08	0,13
Marzo	13 133	1,25	1,13	1,38	0,10	0,08	0,13
Abril	13 029	1,24	1,12	1,36	0,10	0,08	0,13
Mayo	13 273	1,18	1,07	1,30	0,10	0,08	0,13
Junio	12 382	1,13	1,03	1,25	0,10	0,07	0,12
Julio	12 547	1,14	1,03	1,26	0,10	0,07	0,12
Agosto	13 869	1,04	0,94	1,14	0,09	0,07	0,11
Setiembre	15 706	1,06	0,97	1,16	0,09	0,07	0,11
Octubre	17 318	0,95	0,87	1,04	0,08	0,06	0,10
Noviembre	16 918	0,98	0,90	1,07	0,08	0,06	0,11
Diciembre	16 603	1,00			0,09	0,07	0,11
<u>Periodo de lactancia (días posparto)</u>							
1 – 30	9 249	103,98	89,89	120,27	0,63	0,57	0,69
31 – 60	6 578	41,52	35,81	48,13	0,41	0,34	0,48
61 – 90	7 360	31,11	26,84	36,05	0,34	0,28	0,40
91 – 120	7 492	24,87	21,45	28,84	0,29	0,24	0,35
121 – 150	7 208	22,52	19,40	26,14	0,27	0,22	0,33
151 – 180	7 183	18,59	16,00	21,59	0,23	0,19	0,29
181 – 210	7 337	14,54	12,50	16,91	0,19	0,15	0,24
211 – 240	8 984	8,88	7,63	10,33	0,13	0,10	0,16
241 – 270	16 033	3,11	2,68	3,63	0,05	0,04	0,06
271 – 300	29 425	1,13	0,97	1,31	0,02	0,01	0,02
301 – 330	23 073	0,97	0,83	1,14	0,02	0,01	0,02
331 – 360	14 937	1,10	0,93	1,31	0,02	0,01	0,02
361 – 390	9 849	1,06	0,87	1,28	0,02	0,01	0,02
391 – 420	6 430	0,94	0,75	1,18	0,02	0,01	0,02
421 – 450	11 208	1,00			0,02	0,01	0,02
<u>Mastitis en lactancia previa</u>							
Sí	19 764	2,10	2,00	2,21	0,13	0,10	0,16
No	152 582	1,00			0,07	0,05	0,08
<u>Covariables¹</u>							
Periodo de secado previo (días)		0,99	0,98	1,00			
Duración de lactancia previa (días)		1,04	1,03	1,05			
Producción en lactancia previa (kg)		1,17	1,15	1,19			

¹Los OR reportados están calculados para incrementos de 30 d sobre el promedio de periodo de secado (x = 83 d) y duración de lactancia (x = 311 d) ; y 1 000 kg en producción de leche (x = 5 750 kg).

La humedad y las altas temperaturas son condiciones que propician el desarrollo de muchas de las bacterias causantes de MC (FAO 2014). Los efectos estacionales han sido identificados en estudios previos. Por ejemplo, Elbably et al. (2013) y Olde et al. (2008) observaron una mayor prevalencia de mastitis durante el verano. Sin embargo, en Etiopía, Dego and Tareke (2003) reportaron una mayor prevalencia de MC en la época lluviosa. Estos resultados contradictorios podrían explicarse por un aumento en el estrés animal asociado con la exposición a altas temperaturas (o una mayor proliferación de bacterias asociada con las épocas más lluviosas).

La propensión a primeros eventos de MC fue acentuadamente mayor en el primer mes posparto. La reducción en la propensión fue consistente conforme aumentaron los días posparto y luego se estabilizó a partir del día 300. Las probabilidades marginales de MC oscilaron entre 0,02 (a partir del día 270 posparto) y 0,63 (primer mes posparto). Otros estudios también reportaron un mayor riesgo de contraer MC durante los primeros días de lactancia (Suriyasathaporn *et al.* 2000, Berry y Meany 2005, Biffa *et al.* 2005, Steeneveld et al. 2008, Elbably et al. 2013). La primera fase de la lactancia es, sin duda alguna, el momento de mayor estrés para la vaca lechera, pues en ese período que se produce un marcado incremento en producción de leche en un tiempo reducido, lo que sin duda contribuye a una mayor susceptibilidad a las infecciones mamarias. Además, es posible que, si los animales se secan con un problema subclínico, se produzca una incubación bacteriana, la cual se podría agravar durante el periodo seco y, al haber un sistema inmune debilitado, se convertiría en MC.

En el estudio actual se observó que las vacas que fueron positivas para MC en la lactancia anterior tuvieron un riesgo 2,1 (IC 95%: 2,00-2,21) veces mayor de contraer MC en la lactancia actual en comparación con aquellas vacas que fueron negativas en la lactancia anterior (Cuadro 3). Estos resultados son similares a los obtenidos por Biffa et al. (2005), Pinedo et al. (2012) y Pantoja et al. (2009), quienes observaron que los animales con casos de MC en lactancias previas tenían riesgos 4,20, 5,00 y 4,11 veces mayores de presentar la enfermedad en la siguiente lactancia, respectivamente.

Con respecto a las covariables se observó que un incremento de 30 días sobre el promedio de duración de la lactancia previa se asociaba con una mayor propensión a MC en la lactancia presente (OR 1,0, IC 95%: 1,03-1,05; Cuadro 3). Lactancias extensas

pueden estar ligadas a deficiencias en el manejo de la vaca seca, con la consecuente mala preparación de la ubre para la lactancia siguiente, lo que podría promover la aparición de MC. De modo similar, se observó que un incremento en producción de 1 000 kg por lactancia sobre el promedio también se asociaba con un incremento marcado en la propensión a contraer MC (OR 1,2; IC 95%: 1,15-1,19; Cuadro 3). Este hallazgo concuerda con los resultados reportados por Elbably et al. (2013), quienes concluyeron que existe una alta relación entre la producción de leche y la ocurrencia de MC. Se han encontrado además correlaciones genéticas desfavorables entre producción de leche y mastitis (Oltenacu y Broom 2010).

4. CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio demuestran la importancia de factores ligados a la vaca y su entorno en la frecuencia de eventos de MC dentro de los hatos lecheros. La incidencia de MC observada en este estudio, obtenida a partir de registros de hato, se encuentra dentro de los rangos reportados por estudios previos. El tipo racial, zona ecológica de vida, mes y año de parto, número de partos, periodo de lactancia, presencia de casos previos y producción de leche fueron identificados como factores de riesgo para el desarrollo de la MC en los hatos lecheros de Costa Rica. Estos hallazgos pueden ser útiles para el desarrollo de protocolos preventivos enfocados a reducir la incidencia de mastitis en los grupos de mayor riesgo.

5. BIBLIOGRAFÍA

- ALMAW G., MOLLA W., MELAKU A. 2012. Incidence rate of clinical bovine mastitis in selected smallholder dairy farms in Gondar town, Ethiopia. *Ethiopian Veterinary Journal* 16 (1): 93-99.
- ANDRESEN H. 2001. Mastitis, prevención y control. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 12(2): 55-64.
- BERRY D.P., MEANEY W.J. 2005. Cow factors affecting the risk of clinical mastitis. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 44(1): 147–156.

- BIFFA D., DEBELA E., BEYENE F. 2005. Prevalence and Risk Factors of Mastitis in Lactating Dairy Cows in Southern Ethiopia. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine* (3): 189-198.
- BLOWEY R.W., EDMONDSON P. 2010. *Mastitis Control in Dairy Herds*. 2 ed. CAB International, Oxfordshire, UK. 266 p.
- DEGO O.K., TAREKE F. 2003. Bovine Mastitis in selected areas of Southern Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production*, 35(3): 197–205.
- ELBABLY M.A., EMEASH H.H., ASMAA N.M. 2013. Risk Factors Associated with Mastitis Occurrence in Dairy Herds in Benisuef, Egypt. *World's Veterinary Journal* 3(1): 05-10.
- FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION). 2014. Impact of mastitis in small scale dairy production systems. *Animal Production and Health Working Paper*. No. 13. Rome.
- GIANNEECHINI R., CONCHA C., RIVERO R., DELUCCI I., MORENO J. 2002. Occurrence of clinical and sub-clinical mastitis in dairy herds in the west littoral region in Uruguay. *Acta veterinaria scandinavica* 43(1): 221-230.
- HOLDRIDGE L. 1987. *Ecología basada en zonas de vida*. Traducido por Humberto Jiménez Saa. IICA, San José, Costa Rica. 216 p.
- IMN (INSTITUTO METEOROLÓGICO NACIONAL, CR). 2016. Promedios mensuales climáticos 1985-2013. (correspondencia personal). San José, Costa Rica.
- KLEINBAUM D.G., KLEIN M. 2010. *Logistic regression a self-learning text. Statistics for biology and health*. 3rd edition. Springer editorial, New York, USA. 709 p.
- NIELSEN C. 2009. *Economic Impact of Mastitis in Dairy Cows*. Tesis Doctoral, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Suecia. 81 p.
- NOORDHUIZEN J.P.T.M., BUURMAN J. 1984. Veterinary automated management and production control program for dairy farms (VAMPP). The application of MUMPS for data processing. *Veterinary Quarterly* 6(2): 62-77.

- OLDE R.M., BARKEMA H., STRYHN H. 2007. The Effect of Season on Somatic Cell Count and the Incidence of Clinical Mastitis. *Journal of Dairy Science* 90(4): 1704-1715.
- OLTENACU P.A., BROOM D.M. 2010. The impact of genetic selection for increased milk yield on the welfare of dairy cows. *Animal Welfare* 19(S): 39-49.
- PANTOJA J.C.F., HULLAND C., RUEGG P.L. 2009. Somatic cell count status across the dry period as a risk factor for the development of clinical mastitis in the subsequent lactation *Journal of Dairy Science* 92(1): 139–148.
- PÉREZ E., BAAYEN M.T., CAPELLA E., BARKEMA H. 1989. Development of a livestock information system for Costa Rica. In KUIL H., PALIN R.W., HUHNS J.E. eds. *Livestock Production and Diseases in the Tropics. Proceedings 4th International Conference Inst. Trop. Vet. Med. Utrecht; The Netherlands.* 221-224 p.
- PINEDO P.J., FLEMING C., RISCO C.A. 2012. Events occurring during the previous lactation, the dry period, and peripartum as risk factors for early lactation mastitis in cows receiving 2 different intramammary dry cow therapies. *Journal of Dairy Science* 95(12): 7015–7026.
- PRENDIVILLE R., PIERCE K.M., BUCKLEY F. 2010. A comparison between Holstein-Friesian and Jersey dairy cows and their F1 cross with regard to milk yield, somatic cell score, mastitis, and milking characteristics under grazing conditions. *Journal of Dairy Science* 93(6): 2741-2750.
- QUESADA C. 1994. Incidencia de mastitis subclínica en seis fincas de la zona de San Carlos. *Práctica de Especialidad presentada para obtener el grado de Bachiller en Ingeniería Agronómica, Instituto Tecnológico de Costa Rica, San Carlos, Costa Rica.* 76 p.
- RAHMAN M.A., BHUIYAN M.M.U., KAMAL M.M., SHAMSUDDIN M. 2009. Prevalence and risk factors of mastitis in dairy cows. *The Bangladesh Veterinarian* 26(2): 54-60.
- RICHERT R.M., CICCONI K.M., GAMROTH M.J., SCHUKKEN Y.H., STIGLBAUER K.E., RUEGG P.L. 2013. Risk factors for clinical mastitis, ketosis, and pneumonia in

- dairy cattle on organic and small conventional farms in the United States. *Journal of Dairy Science* 96(7): 4269-4285.
- ROTHMAN K.J., GREENLAND S., LASH T.L. 2008. *Modern Epidemiology*, 3rd Edition. Philadelphia, PA: Lippincott, Williams & Wilkins. 758 p.
- RUPP R., BOCCHARD D. 2004. Genetics of resistance to mastitis in dairy cattle. *Veterinary Research* 34(5): 671-688.
- SANTIVANEZ C.S., GÓMEZ O.E., CÁRDENAS L.A., ESCOBEDO M.H., BUSTINZA R.H., PEÑA J. 2013. Prevalencia y factores asociados a la mastitis subclínica bovina en los Andes peruanos. *Veterinaria y Zootecnia* 7(2): 92-104.
- SAS INST. INC. 2009. *SAS/STAT® User's guide: Statistics; Version 9.2*. Cary; NC, USA.
- SCHUKKEN Y.H., BARB D., HERTL J., GRÖHN Y.T. 2010. Correlated time to event data: Modeling repeated clinical mastitis data from dairy cattle in New York State. *Preventive Veterinary Medicine* 97(3): 150-156.
- STEENEVELD W., HOGEVEEN H., BARKEMA H.W., VAN DEN BROEK J., HUIRNE R.B.M. 2008. The Influence of Cow Factors on the Incidence of Clinical Mastitis in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 91(4): 1391-1402.
- SUDHAN N.A., SHARMA N. 2010. Mastitis - An important production disease of dairy animals. *SMVS' Dairy Year Book 2010*.
- SURIYASATHAPORN W., SCHUKEN Y.H., NIELEN M., BRAND A. 2000. Low Somatic Cell Count: a Risk Factor for Subsequent Clinical Mastitis in a Dairy Herd. *Journal of Dairy Science* 83(6): 1248-1255.
- VARGAS B., SOLÍS O., SÁENZ F., LEÓN H. 2013. Análisis multivariado para caracterización y clasificación de hatos lecheros en Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana* 24(2): 257-275.

Capítulo 2

FACTORES GENÉTICOS Y AMBIENTALES QUE INCIDEN SOBRE EL RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN GANADO LECHERO DE COSTA RICA

MARÍA GABRIELA MORA-MORA

FACTORES GENÉTICOS Y AMBIENTALES QUE INCIDEN SOBRE EL RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN GANADO LECHERO DE COSTA RICA

María Gabriela Mora-Mora

Se realizó un análisis observacional de cohorte histórico, se evaluó el efecto de factores genéticos y ambientales sobre el puntaje de células somáticas [SCS, por sus siglas en inglés, = \log_2 (RCS/1 000)] en ganado lechero de Costa Rica. Se analizaron 183 116 registros individuales de células somáticas provenientes de 39 883 lactancias, 21 880 vacas, 241 hatos y 2 razas. Se ajustó un modelo mixto con efectos fijos de hatos, raza, número de lactancia, mes y año de registro y periodo de lactancia; y efectos aleatorios de ambiente permanente, hato×semental y vaca. A partir de este modelo, se estimaron los componentes de varianza para los efectos aleatorios y parámetros genéticos de heredabilidad (h^2) y repetibilidad (r), así como los estimados de valor de cría (BLUP, por sus siglas en inglés) con su respectiva confiabilidad. El valor promedio de SCS fue 7,0 (DE = 1,9). Todos los efectos fijos, con excepción de la raza, se asociaron significativamente con el SCS. El SCS aumentó conforme aumentaron las lactancias. Además, se observó que las vacas que habían parido en enero presentaban mayores SCS, mientras que las que habían parido en abril y mayo presentaron menores SCS; también se identificó una reducción en los SCS de las vacas que habían parido después del año 2004. Se observó un patrón no lineal en SCS a lo largo de la lactancia, iniciando con valores altos de 7,5 en los primeros 30 días posparto, que se redujeron hasta alcanzar un mínimo de 6,6 en el día 60 posparto, y luego aumentaron progresivamente hasta un valor máximo de 8,1 en el día 365 posparto. Se obtuvo un índice de heredabilidad de 0,1 (DE = 0) y una repetibilidad de 0,3 (DE = 0) para SCS. El promedio de confiabilidad de los BLUP en vacas fue de 0,4 (DE = 0,2) y en toros fue de 0,4 (DE = 0,2). Estos resultados son útiles para la formulación de programas de control de SCS a nivel de hatos basados en prevención o manejo adecuado de los factores de riesgo identificados y la optimización del descarte en vacas problema.

Palabras claves: recuento de células somáticas, heredabilidad, salud de la ubre, vacas lecheras, salud de hatos.

SUMMARY

A retrospective observational study was conducted to evaluate the effect of genetic and environmental factors on the Somatic Cell Score [SCS = \log_2 (RCS/ 1000)] in Costa Rica dairy cattle. Data on 183 116 individual records of somatic cells count from 39 883 lactations, 21 880 cows, 241 herds and 2 breeds were analyzed. A mixed animal model was assessed with herd, breed, number of lactation, month/year of event registration and lactation period as fixed effects; and permanent environment, herd×sire and cow as random effects. Variance components for random effects were obtained, from which heritability (h^2), repeatability (r^2), breeding values (BLUP) and reliabilities for SCS were estimated. The average value of SCS was 6.96 (SD=1.87). All fixed effects, except breed, showed highly significant effect on SCS. SCS among herds ranged from 4.1 to 9.7. SCS increased with lactations. SCS was slightly higher for cows in January (7.5) and lower in April to May (7.3). A reduction in SCS of cows had given birth after 2004 (8.0). A non-linear pattern was observed in SCS throughout lactation, starting at 7.5, with a marked decrease to a minimum of 6.6 around day 60 postpartum, then increased to a maximum of 8.1 around day 365 postpartum. Heritability and repeatability indices for SCS were 0.08 (SD=0.01) and 0.33 (SD=0.01) respectively. Breeding values ranged from -1 to +1. Reliabilities of BLUP for cows and bulls were 0.40 (SD=0.16) and 0.44 (SD=0.20), respectively. These results can be used in the design of control programs for SCS at the herd level, based on prevention and proper management of risk factors, optimization of cow culling strategies and improved sire selection.

Key words: somatic cell count, heritability, udder health, dairy cows, herd health.

1. INTRODUCCIÓN

La mastitis es uno de los problemas de salud más frecuentes en vacas lecheras, siendo una de las principales razones para la eliminación permanente de vacas en los hatos, y causa de grandes pérdidas económicas al sector lácteo (USDA 2007). La presencia de esta enfermedad no sólo afecta físicamente a las vacas, sino también la calidad de su leche. Una de las medidas a nivel mundial, en la actualidad, que más se utiliza para evaluar la calidad de la leche y la salud de la ubre es el RCS. Las CS están conformadas en su mayoría por leucocitos, los cuáles intervienen a nivel de la ubre para combatir la infección (Sharma *et al.* 2011).

Harmon (2001) describe que, en leche proveniente de cuartos no infectados, un RCS normal se encuentra por debajo de las 200 000 CS/ml; sin embargo, en animales en su primera lactancia, este conteo puede ser menor a 100 000 CS/ml. Asimismo, cuando se obtiene un RCS mayor a 200 000 CS/ml en el tanque, se puede confirmar la presencia de MSC en el hato lechero (García 2004).

Existen múltiples factores, tanto ambientales como genéticos, que pueden afectar el RCS. Entre los factores ambientales, los procedimientos de ordeño, el espacio en el área de confinamiento o los materiales de las camas, son ejemplos de factores que inciden en los RCS (Lévesque 2004, Hogeveen 2005, Blowey y Edmondson 2010).

Entre los factores ligados al animal, se ha observado que el RCS es menor en vacas de primer parto y aumenta conforme se incrementa el número de parto (Mitev *et al.* 2012, McParland *et al.* 2013). Se han descrito también patrones irregulares de RCS a lo largo de la lactancia, con descensos rápidos al inicio y posteriores aumentos hacia el final de la lactancia (Rodríguez-Zas *et al.* 2000, Haas *et al.* 2002, Atakan 2008).

Entre los factores raciales, Berry *et al.* (2007) reportaron una diferencia significativa entre el RCS de las vacas Holstein-Friesian (RCS=84 965 CS/ml) y Jersey (RCS=100 709 CS/ml). Mediante la selección por bajo RCS en leche es posible mejorar genéticamente el ganado lechero para reducir la incidencia de mastitis (Schutz 1994). A pesar de que la tasa de mejoría tiende a ser muy lenta, el costo económico que esto implica es menor en comparación con el costo de los tratamientos que se hacen contra la MC y la pérdida en términos de producción de leche por casos de MSC. Si bien el manejo es la manera más efectiva de corregir la calidad de la leche y los problemas de

mastitis a corto plazo, la mejor genética debe ser una parte importante de la estrategia para mejorar la calidad de la leche y la salud de la ubre a largo plazo (Shook 2001).

El rango reportado para la heredabilidad de los RCS es muy amplio (Detilleux *et al.* 1997). Se encontraron valores que van desde 0,05 (Mrode y Swanson 1996) hasta 0,73 (Vallimont *et al.* 2009). Esta alta variación en los valores de heredabilidad puede deberse, en parte, a los distintos modelos estadísticos y genéticos asumidos, los procedimientos de estimación y las poblaciones utilizadas en dichos estudios. Estudios similares al presente reportan índices de heredabilidad que van de 0,08 (Al-Seaf *et al.* 2007) a 0,18 (Gaddis *et al.* 2015).

El presente estudio pretende estimar el efecto de factores genéticos aditivos y factores relacionados con la vaca lechera y el hato sobre el RCS durante la lactancia.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. Fuente de información

Se realizó un estudio de carácter observacional y retrospectivo, mediante el análisis de la información recolectada en la base nacional de datos VAMPP (Noordhuizen y Buurman 1984, Pérez *et al.* 1989) del programa Consultoría Regional en Informática para la Producción Animal Sostenible (CRIPAS), abarcando el periodo entre el 01/01/1985 y 01/03/2015.

Bajo este esquema, los productores lecheros ingresan voluntariamente la información de su animales (eventos productivos, reproductivos y sanitarios) al programa VAMPP Bovino. Esta información se envía periódicamente al programa CRIPAS, donde es sometida a revisión y edición para su análisis posterior. Los hatos participantes tienen diferentes periodos de seguimiento, que pueden variar desde pocos meses hasta más de 20 años. Asimismo, los periodos de seguimiento de las vacas y de las lactancias fueron de longitud variable.

La medición de los RCS se realizó a partir de muestras individuales de leche de cada animal en el estudio. Posteriormente estas fueron analizadas, en su mayoría, por el Laboratorio de Recibo de Leche de la Dos Pinos utilizando el equipo Fossomatic™ FC 200 (Foss 2015).

2.2. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico, se transformó la variable original de RCS (en unidades por ml de leche) a un score en escala logarítmica (SCS), utilizando la siguiente fórmula (Shook 1993):

$$SCS = \log_2(RCS/1000)$$

La transformación logarítmica es un procedimiento estandarizado en el análisis estadístico de RCS (Rupp y Foucras 2003), cuyo objetivo es normalizar la distribución de esta variable que originalmente presenta un sesgo marcado hacia valores elevados.

Esta variable fue analizada mediante un modelo animal mixto con repetibilidad, el cual se describe a continuación:

$$Y_{ijklmnopq} = \beta_0 + \beta_1 R_i + \beta_2 H_j + \beta_3 L_k + \beta_4 M_l + \beta_5 Y_m + \beta_6 P_n + A_o + AP_p + HS_q + \varepsilon_{ijklmnopq} \quad [1]$$

donde:

- $Y_{ijklmnopq}$: SCS, Score de Células Somáticas.
- β_0 : Intercepto.
- $\beta_1 R_i$: Efecto fijo para la *i*-ésima raza (Clases: Holstein, Jersey).
- $\beta_2 H_j$: Efecto fijo para la *j*-ésimo hato (Clases: Hatos 1 hasta 241).
- $\beta_3 L_k$: Efecto fijo para el *k*-ésimo número de lactancia (Clases: 1 hasta ≥ 6).
- $\beta_4 M_l$: Efecto fijo para el *l*-ésimo mes del registro (Clases: Enero hasta Diciembre).
- $\beta_5 Y_m$: Efecto fijo para el *m*-ésimo año del registro (Clases: 2000 hasta el 2015).
- $\beta_6 P_n$: Efecto para el *n*-ésimo periodo de lactancia (Clases: Periodos de 15,2 días desde 1 hasta ≥ 24).
- A_o : efecto aleatorio del *o*-ésimo animal, ligado a la genealogía. El archivo de genealogías estuvo constituido por un total de 36 588 animales distribuidos en 18 generaciones. Los padres desconocidos fueron asignados a una sola población base.
- AP_p : efecto aleatorio del *p*-ésimo ambiente permanente. Cuantifica efectos ambientales que pueden influenciar el rendimiento de un animal de por vida.

- HS_q : efecto aleatorio de la q -ésima clase hato-semental. Cuantifica las posibles diferencias entre progenies de un mismo semental nacidas en distintos hatos.
- $\varepsilon_{ijklmnopq}$: error aleatorio.

Este modelo se resolvió utilizando el programa computacional ASREML (Gilmour *et al.* 1998) mediante el método de Máxima Verosimilitud Restringida REML (Harville 1977), obteniéndose estimados para efectos fijos y de componentes de varianza para efectos aleatorios.

A partir de los componentes de varianza se estimaron los parámetros genéticos de heredabilidad (h^2) y repetibilidad (r), mediante las siguientes fórmulas:

$$h^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_F^2} \quad [2]$$

$$r = \frac{\sigma_a^2 + \sigma_{ap}^2}{\sigma_F^2} \quad [3]$$

donde:

h^2 = Índice de heredabilidad,

r = Índice de repetibilidad,

σ_a^2 = Varianza genética aditiva,

σ_{ap}^2 = Varianza atribuida a ambiente permanente,

σ_F^2 = Varianza Fenotípica.

Se obtuvieron además los estimados Mejores Estimadores Lineales Insesgados (BLUP, por sus siglas en inglés), los cuales en mejoramiento genético son interpretados como valores de cría para los individuos dentro de la muestra. Para cada BLUP, se calculó además un estimado de confiabilidad (o precisión) mediante la fórmula [4]:

$$Conf_i = \sqrt{\left(1 - \frac{s_i^2}{(1 + f_i)\sigma_A^2}\right)} \quad [4]$$

donde:

$Conf_i$ = Valor de confiabilidad para el BLUP del *i*-ésimo individuo,

s_i = Error estándar reportado para el BLUP del *i*-ésimo individuo,

F_i = Coeficiente de consanguinidad del *i*-ésimo individuo,

σ_A^2 = Varianza genética obtenida a partir de la matriz de parentescos (A).

3. RESULTADOS

Se analizaron en total 183 116 registros individuales de CS provenientes de 39 883 lactancias (21 880 vacas) distribuidas en 241 hatos lecheros. El valor medio del SCS fue de 6,96 (DE=1,87), equivalente a 125 000 CS/ml. La variable RCS presentó una distribución con un alto coeficiente de sesgo (6,4), ya que sólo una minoría de animales presentan elevados conteos, mientras que el grueso de la muestra se encuentra en niveles normales. El coeficiente de sesgo se redujo a 0,27 después de aplicar la transformación logarítmica, obteniéndose una distribución aproximadamente normal, más adecuada para el análisis mediante modelos estadísticos lineales.

En el Cuadro 1 se presentan los estadísticos de ajuste general y valores de significancia de los efectos fijos evaluados por el modelo estadístico. El ajuste del modelo fue altamente significativo ($P < 0,001$). Todos los efectos fijos evaluados fueron altamente significativos ($P < 0,001$), con excepción del factor raza ($P = 0,31$).

Cuadro 1. Estadísticos para los factores incluidos en el Análisis de Varianza de la variable SCS.

Fuente de variación	Grados de Libertad	Valor F	Valor P
Ajuste general (Intercepto)	1	359,0	<0,001
Hato	240	14,07	<0,001
Raza	1	0,96	0,306
Número de lactancia	5	686,90	<0,001
Mes de registro	11	20,44	<0,001
Año de registro	13	48,82	<0,001
Periodo de lactancia	23	702,44	<0,001

En cuanto a la raza no se obtuvieron diferencias significativas entre el SCS de las vacas Holstein (SCS= 7,36) y las Jersey (SCS= 7,39). Esto coincide resultados reportados por otros estudios, en los que se comparó el SCS de vacas Holstein, Ayrshire y Jersey (Sewalem *et al.* 2006), y entre Holstein, Jersey y el F1 de Holstein × Jersey (Prendiville *et al.* 2010). En este último estudio obtuvieron un promedio de SCS (*log natural* de RCS) de 10,6; 10,8 y 10,7 para las razas mencionadas. Por el contrario, Berry *et al.* (2007) reportaron una diferencia significativa entre el SCS de las vacas Holstein-Friesian y Jersey, con medias de 11,35 (RCS = 84 965 células/mL) y 11,52 (RCS = 100 709 células/mL), respectivamente.

En cuanto al número de lactancia (Figura 1), se observa que los RCS aumentan conforme lo hacen las lactancias, siendo la primera lactancia la que presenta la menor cantidad de CS, seguida por la segunda lactancia, y así sucesivamente. Esto coincide con la tendencia encontrada por McParland *et al.* (2013) quienes encontraron que en la primer lactancia el SCS fue menor, y este aumentó con el número de lactancias. Este aumento en el SCS puede estar asociado a que conforme aumenta el número de lactancias, la enfermedad se va haciendo más crónica en vacas que no son tratadas desde la aparición de la MSC y en el caso de los animales que no reciben una adecuada terapia de secado (Neijenhuis *et al.* 2001, McParland *et al.* 2013).

En el caso de los meses del registro (Figura 1) se observa que las vacas presentan mayores RCS en enero, mientras que en abril y mayo es cuando se presentan los menores RCS. Esto puede deberse a que las vacas paridas en diciembre, enero y febrero son secadas en invierno, por lo que existe una mayor posibilidad de que se sequen enfermas, debido a la alta humedad y a las pocas o nulas rutinas correctas de secado. Después de 60 días de incubación, las vacas estarían pariendo en verano, con altos RCS. Además, durante abril y mayo la humedad ambiental es baja, por lo que la posibilidad de contaminación por bacterias ambientales es baja. Sin embargo, para un estudio de este tipo, con una variación tan pequeña como la que se observa para este factor, es aventurado poder establecer relaciones de causalidad definitivas.

En cuanto al año del registro (Figura 1), se observa un comportamiento irregular entre los años 2002 y 2004. Estas variaciones en el tiempo se pueden deber a varios factores, tanto ambientales como de manejo. Posteriormente se observa una tendencia

consistente a la reducción en SCS a través de los años, siendo más evidente entre los años 2004 (8,0) y 2009 (7,2). Los años con menores RCS fueron del 2012 al 2015 (7,1). Esta mejora a partir del 2004 puede ser debido a un aumento en la rigurosidad de las políticas de control por parte de la industria láctea, la cual obliga a los productores a realizar mejoras en el manejo de los animales antes, durante y después de los ordeños, a tener una selección más rigurosa en relación a eventos de salud como la mastitis, con lo cual, eventualmente hay salida de animales, y al desvío de la leche proveniente de animales con altos RCS. También se ha implementado un mayor seguimiento y asesoría en los programas de control de mastitis en las fincas.

En cuanto al efecto del periodo (Figura 2), se observa una tendencia no lineal a lo largo de toda la lactancia, iniciando con valores altos en el periodo 1 (1-15 días posparto, 7,5) para luego sufrir una reducción marcada hasta el periodo 4 (días 45 a 60 posparto, 6,6) donde se alcanza el mínimo de SCS. Posteriormente los valores aumentan progresivamente hasta alcanzar un máximo en el periodo 24 (días 350-365 posparto, 8,1). Es posible que esta tendencia se deba a una mayor interacción animal sano – animal enfermo, lo que podría generar un mayor contagio entre animales. Además, este aumento en la proliferación de bacterias se puede ver favorecido por una mayor manipulación de la ubre y una mayor la abertura del pezón conforme avanzan los días, lo que se vería reflejado en un aumento de los RCS. El comportamiento obtenido es similar al que describen Rodríguez-Zas *et al.* (2000) en su estudio, donde mencionan que durante la lactancia el SCS hace un rápido descenso al inicio, con un subsecuente aumento después del décimo día posparto, y una estabilización o leve descenso al final de la lactancia. Haas *et al.* (2002) y Atakan (2008) también encontraron un efecto significativo del periodo de lactancia sobre el SCS. Estos autores observaron que después del segundo mes de lactancia, los RCS descienden, obteniendo los valores más bajos durante el segundo y tercer mes de lactancia. Posteriormente, al cuarto mes, estos conteos empiezan a incrementarse y continúan haciéndolo hasta el final de la lactancia.

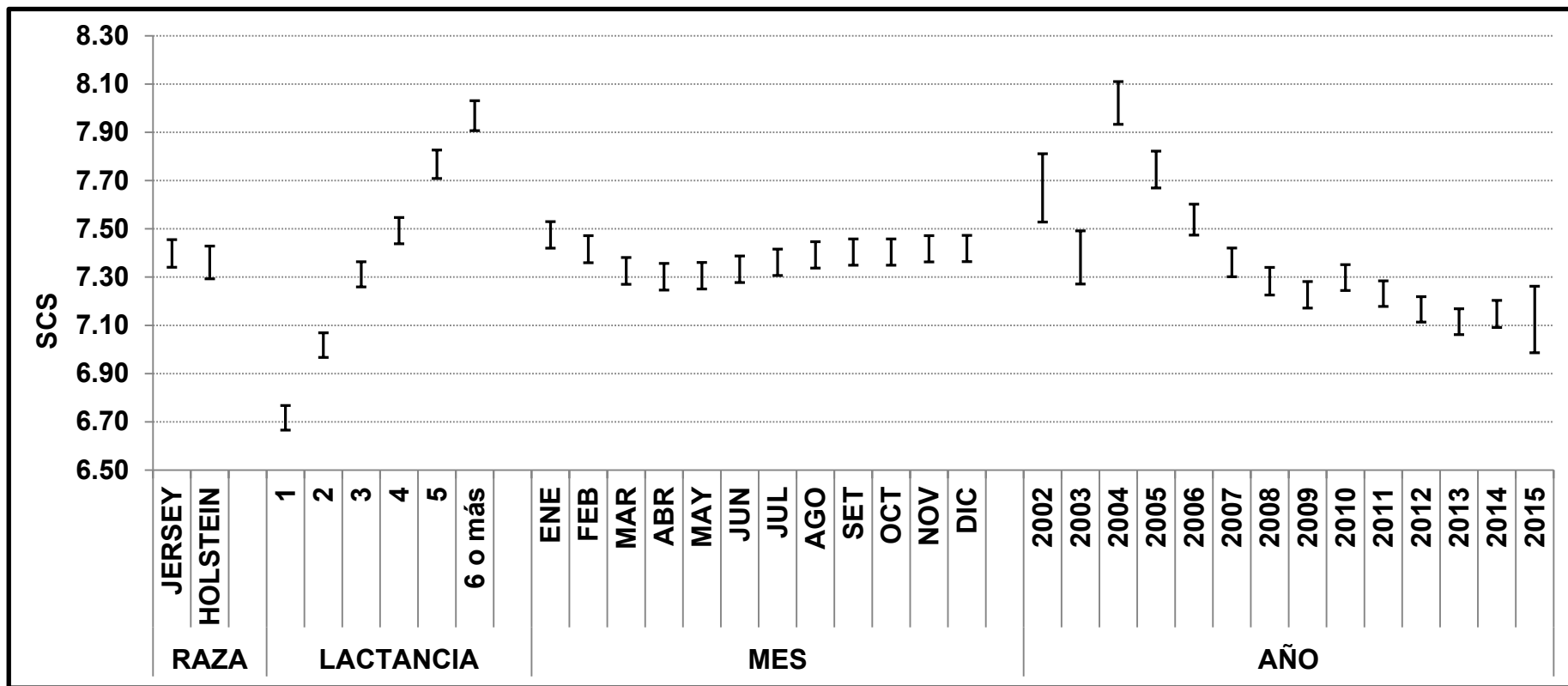


Figura 1. Valores predichos e Intervalos de confianza 95% de la variable SCS para todas las clases de los factores Raza, Lactancia, Mes y Año del Registro.

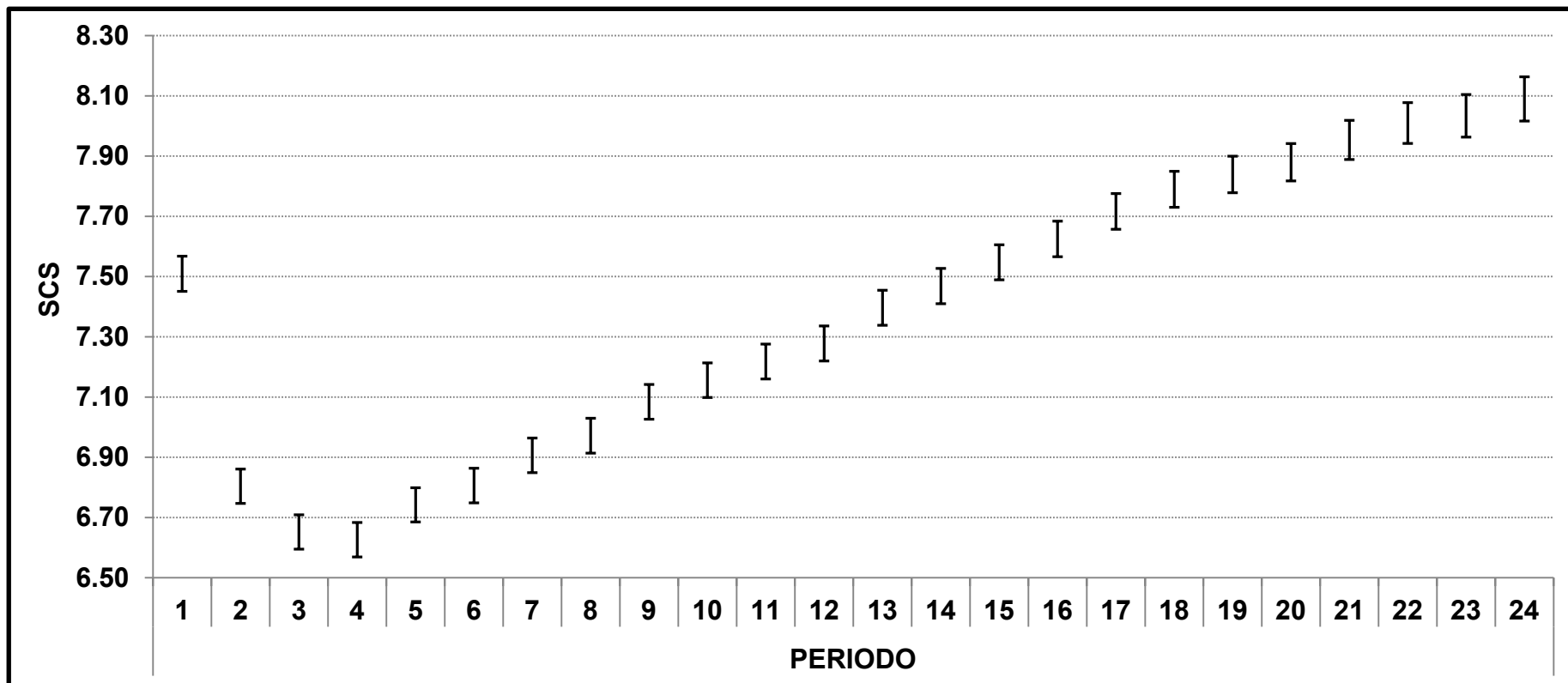


Figura 2. Valores predichos e Intervalos de confianza 95% de la variable SCS según periodo 1 (0-15 d posparto) a 24 (350-365 d posparto).

En relación al factor hato, el histograma en la Figura 3 muestra la distribución de los hatos según el promedio predicho para SCS. Se observa un amplio margen de variación, con SCS promedio por hato desde 4 hasta 10. Esta variación entre los hatos puede deberse a múltiples razones, tales como sistema de manejo, confinamiento, métodos de control de mastitis, condiciones climáticas de la zona, etc.

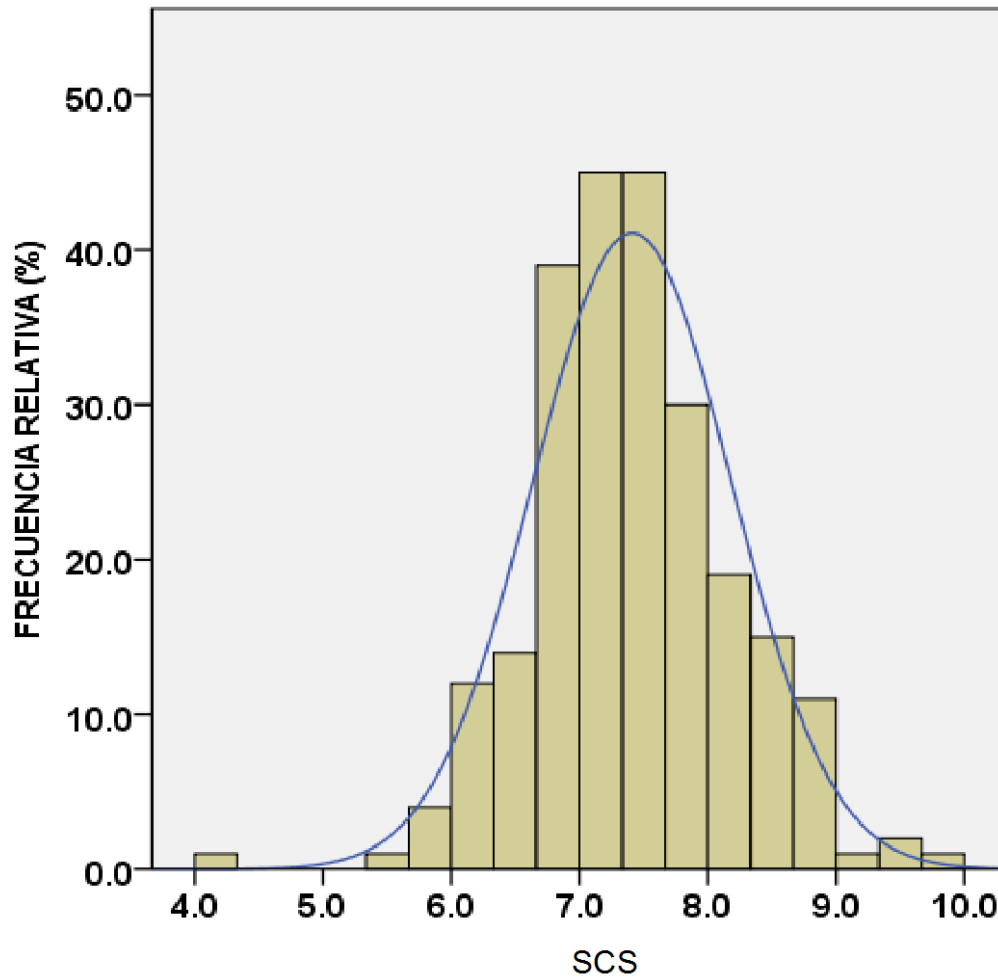


Figura 3. Histograma de los valores predichos por hato para la variable SCS.

Diversos estudios han revelado cómo el manejo y los procedimientos pre y post ordeño inciden sobre los RCS. Aspectos básicos de la rutina de ordeño, como los son el presellado, el secado, los tiempos de ordeño y el sellado, son claves para mejorar significativamente los RCS. El espacio en el área de confinamiento y materiales de las camas también son factores que inciden en los RCS (Lévesque 2004, Blowey y Edmondson 2010).

En cuanto a los factores aleatorios, el Cuadro 2 resume los componentes de varianza obtenidos a partir de la solución del modelo [1] y los estimados de heredabilidad y repetibilidad derivados a partir de estos componentes.

Cuadro 2. Componentes de varianza para SCS obtenidos a partir de la solución del modelo [1]

Componente	Valor
Varianza residual (<i>r</i>)	1,883
Animal (<i>a</i>)	0,243
Ambiente permanente (<i>ap</i>)	0,733
Interacción Hato-Semental (<i>hs</i>)	0,074
Varianza Fenotípica ($F=r+a+ap+hs$)	2,934
Heredabilidad (a/F)	0,08 (DE= 0,01)
Repetibilidad ($(a+ap)/F$)	0,33 (DE= 0,01)

Como se observa, el índice de heredabilidad obtenido fue de 0,08, mientras que la repetibilidad fue de 0,33. Mrode y Swanson (1996) estimaron heredabilidades entre 0,05 y 0,47. De igual manera Haile-Mariam *et al.* (2001) reportaron una heredabilidad entre 0,04 y 0,05 para la primer lactancia, al principio de la misma, y de 0,11 a 0,13 al final de la primer lactancia; mientras que en la segunda y tercer lactancia encontraron una heredabilidad promedio de 0,09 a 0,11. Carlén *et al.* (2004) también reportaron un resultado similar, de 0,10 a 0,14 de heredabilidad. Posteriormente, Costa *et al.* (2010), en ganado Holstein brasileño, obtuvieron valores de 0,07 y 0,34 para la heredabilidad y la repetibilidad de los SCS, respectivamente, muy similares a los encontrados en el presente estudio. De igual manera Zhao *et al.* (2014) encontraron una repetibilidad de 0,195 y una heredabilidad de 0,05; porcentaje que aumentó ligeramente en relación al número de partos.

El estimado de h^2 obtenido en el presente estudio ratifica que el componente genético juega un papel importante en el valor de SCS, similar al reportado para otras latitudes. Cabe señalar que esta variable ya es considerada dentro de los índices de selección de la mayoría de los programas de mejoramiento genético para ganado lechero que operan a nivel mundial. Una prueba de esto es que de los 10 países que participan en INTERBULL, 6 incluyeron en sus índices totales de mérito el rasgo de mastitis, el cual considera tanto el SCS como el índice de mastitis (INTERBULL, 2015).

De manera similar, la CDN (Canadian Dairy Network) inició recientemente evaluaciones genéticas para resistencia a mastitis en las razas Holstein, Ayrshire y Jersey (Jamrozik *et al.* 2013, Miglior *et al.* 2013, CDN 2014).

En la Figura 4 se observa la distribución de los valores genéticos (BLUPs) para SCS en la población evaluada. Como se observa la gran mayoría de los animales se incluyen en el rango entre -1 y 1, lo que ratifica una importante variabilidad genética para SCS dentro de la población analizada.

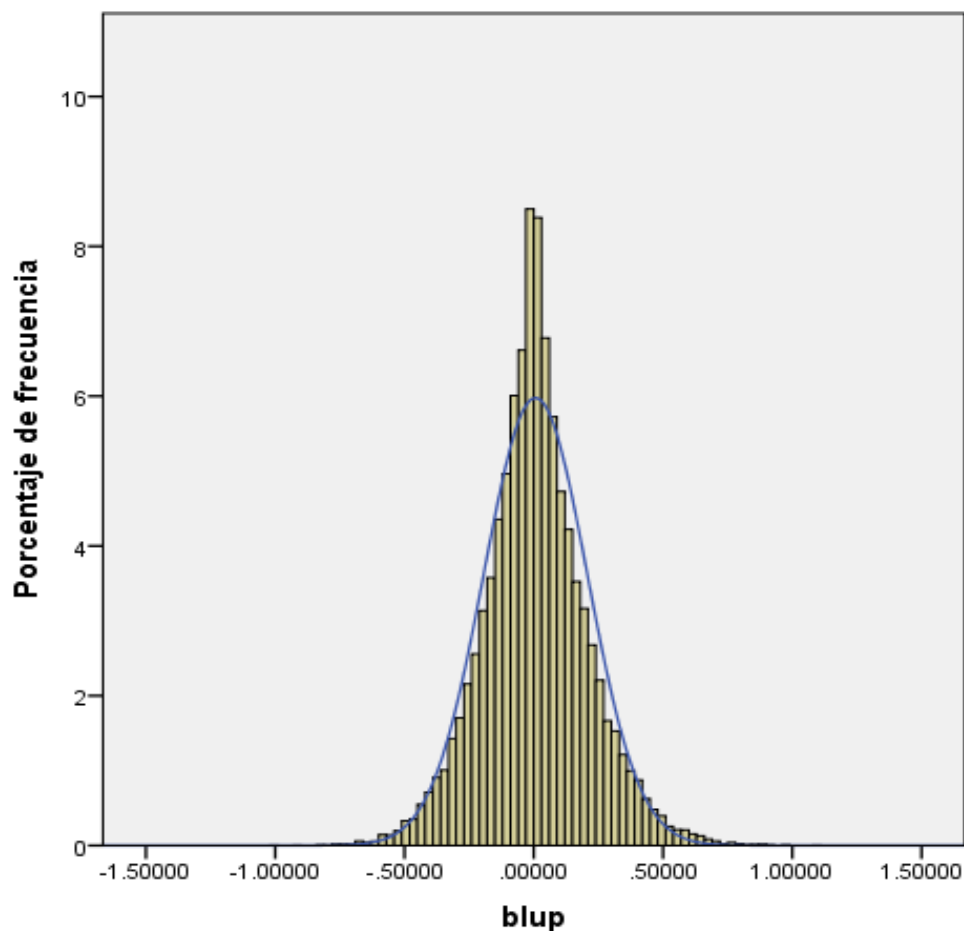


Figura 4. Histograma de Mejores Estimadores Lineales Insesgados (BLUP) de la variable SCS para los individuos dentro de la muestra evaluada.

La confiabilidad para los BLUP, obtenida mediante la fórmula [4], presentó un valor promedio de 0,40 (DE=0,16) en la población total. En las vacas con registros de SCS la confiabilidad promedio fue de 0,43 (DE=0,14), y varió principalmente en función del

número de registros de SCS y lactancias disponibles por vaca. Para las vacas sin registros de SCS la confiabilidad promedio fue de 0,24 (DE=0,15), variando principalmente en función del número de hijas con datos de SCS. En cuanto a los toros se obtuvo un valor promedio de confiabilidad de 0,44 (DE=0,20) variando también en función del número de hijas con datos de SCS.

4. CONCLUSIONES

La inclusión del SCS en los índices de selección puede disminuir la susceptibilidad a esta enfermedad en el mediano plazo; además de mejorar la eficiencia económica de las fincas lecheras. A nivel de hato es importante descartar aquellas vacas que demuestran una mayor propensión a mastitis así como procurar el uso de sementales con índices favorables para este rasgo.

Debido a que gran parte de los casos de mastitis que ocurren durante la lactación se deben a infecciones intramamarias que ocurrieron durante el periodo seco o que persistieron a lo largo de este periodo, es importante implementar terapias de secado adecuadas, principalmente en las épocas críticas.

Es importante realizar muestreos periódicos y llevar los registros de RCS a nivel individual, al ser este un indicador de susceptibilidad de cada vaca. Esto facilitaría la toma de decisiones, ya que no hay que olvidar que la mastitis es una enfermedad de suma importancia económica.

BIBLIOGRAFIA

- AL-SEAF A., KEOWN J.F., VAN VLECK L.D. 2007. Estimates of correlations among yield traits and somatic cell score with different models to adjust for bovine somatotropin effects on Holstein dairy cows. *Genetics and Molecular Research* 6(1): 67-78.
- ATAKAN K.O.Ç. 2008 A Study of Somatic Cell Counts in the Milk of Holstein-Friesian Cows Managed in Mediterranean Climatic Conditions. *Turkish Journal Veterinary Animal Science* 32(1): 13-18.

- BERRY D.P., LEE J.M., MACDONALD K.A., STAFFORD K., MATTHEWS L., ROCHE J.R. 2007. Associations among body condition score, body weight, somatic cell count, and clinical mastitis in seasonally calving dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 90(2): 637–648.
- BLOWEY R.W., EDMONDSON P. 2010. *Mastitis Control in Dairy Herds*. 2 ed. CAB International, Oxfordshire, UK. 266 p.
- CARLÉN E., STRANDBERG E., ROTH A. 2004. Genetic Parameters for Clinical Mastitis, Somatic Cell Score, and Production in the First Three Lactations of Swedish Holstein Cows. *J. Dairy Sci.* 87(9): 3062–3070.
- CDN (CANADIAN DAIRY NETWORK, CA). 2013. Official Genetic Evaluation for Mastitis Resistance (en línea). Consultado 11 set. 2015. Disponible en <https://www.cdn.ca/Articles/GEBOCT2013/Mastitis%20Resistance%20Article%20-%20September%202013.pdf>
- CDN (CANADIAN DAIRY NETWORK, CA). 2014. Mastitis Resistance Selection: Now a Reality! (en línea). Consultado 11 set. 2015. Disponible en https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCIQFjAAahUKEwiGwfe7nO_HAhUGjq0KHWxsCow&url=https%3A%2F%2Fwww.cdn.ca%2Fdocument.php%3Fid%3D356&usg=AFQjCNHWzFIZKBdDhBdrx1yj-uy0A2p-hA&bvm=bv.102537793,d.eXY&cad=rja
- COSTA C., FREITAS A., COBUCI J., THOMPSON G., CARVALHEIRA J., SILVA M., VALLOTO A. 2010. Genetic Parameters for Test Day Somatic Cell Count in Brazilian Holstein Cattle. *Proceedings of the 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Leipzig, Alemania.
- DE HAAS Y., BARKEMA H.W., VEERKAMP R.F. 2002. The Effect of Pathogen-Specific Clinical Mastitis on the Lactation Curve for Somatic Cell Count. *J. Dairy Sci.* 85(5): 1314–1323.
- DETILLEUX J., LEROY P., VOLCKAERT D. 1997. Alternative use of somatic cell counts in genetic selection for mastitis resistance. *Proceedings of the international workshop on genetic improvement of functional traits in cattle health*. Uppsala, Sweden. 34-44 p.

- FOSS. 2015. Fossomatic™ FC (en línea). Consultado 28 may. 2015. Disponible en <http://www.foss.dk/industry-solution/products/fossomatic-fc/>
- GARCÍA A.D. 2004. Células somáticas y alto recuento bacteriano. ¿Cómo controlarlo? (en línea). Consultado 5 jul. 2011. Disponible en http://pubstorage.sdstate.edu/AgBio_Publications/articles/ExEx4031-S.pdf
- GILMOUR A.R., CULLINS B.R., WELHAM S.J., THOMPSON R. 1998. ASREML user's manual. New South Wales Agriculture, Orange Agricultural Institute, Orange, NSW, Australia.
- HAILE-MARIAM M., GODDARD M.E., BOWMAN P.J. 2001. Estimates of Genetic Parameters for Daily Somatic Cell Count of Australian Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 84(5): 1255–1264
- HARMON R.J. 2001. Somatic cell counts: a primer. Reno, Nevada, Estados Unidos. 40th Annual Meeting, National Mastitis Council. 6 p.
- HARVILLE D.A. 1977. Maximum Likelihood Approaches to Variance Component Estimation and to Related Problems. *Journal of the American Statistical Association* 72(358): 320–338.
- HOGVEEN H. 2005. Mastitis in Dairy Production: Current Knowledge and Future Solutions. Wageningen Academic Pub .744 p.
- INTERBULL (INTERNATIONAL BULL EVALUATION SERVICE, SE). 2015. International Bull Evaluation Service Official Website (en línea). Uppsala, Sweden. Consultado 9 set. 2015. Disponible en <http://www.interbull.org/index>
- JAMROZIK J., KOECK A., MIGLIOR F., KISTEMAKER G.J., SCHENKEL F.S., KELTON D.F., VAN DOORMAAL B.J. 2013. Genetic and Genomic Evaluation of Mastitis Resistance in Canada. Nantes, France. *INTERBULL Bulletin* (47): 43-51.
- LÉVESQUE P. 2004. Menos mastitis, mejor leche. Québec, Canada, Institut de Technologie Agroalimentaire. 96 p.
- MCPARLAND S., O'BRIEN B., MCCARTHY J. 2013. The association between herd- and cow- level factors and somatic cell count of Irish dairy cows. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 52: 151-158.

- MIGLIOR F., KOECK A., JAMROZIK J., SCHENKEL F.S., KELTON D.F., KISTEMAKER G.J., VAN DOORMAAL B.J. 2014. Index for Mastitis Resistance and Use of BHBA for Evaluation of Health Traits in Canadian Holsteins. Berlin, Germany. INTERBULL Bulletin (48): 73-78.
- MITEV J.E., GERGOVSKA ZH.I., MITEVA TCH.M. 2012. Effect of teat end hyperkeratosis on milk somatic cell counts in Bulgarian Black-and-White dairy cattle. Bulgarian Journal of Agricultural Science 18 (3): 451-454.
- MRODE R.A., SWANSON G.J.T. 1996. Genetic and statistical properties of somatic cell count and its suitability as an indirect means of reducing the incidence of mastitis in dairy cattle. Animal Breeding Abstracts 64: 847-857.
- NEIJENHUIS F., MEIN G.A., BRITT J.S., REINEMANN D.J., HILLERTON J.E., FARNSWORTH R., BAINES J.R., HEMLING T., OHNSTAD I., COOK N., MORGAN W.F., TIMMS L. 2001b. Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: 4. Relationship between teat-end callosity or hyperkeratosis and mastitis. National Mastitis Council. 2th International Symposium on Mastitis and Milk Quality. Vancouver, BC, Canada. 1 disco compacto, 8 mm.
- PRENDIVILLE R., PIERCE K.M., BUCKLEY F. 2010. A comparison between Holstein-Friesian and Jersey dairy cows and their F1 cross with regard to milk yield, somatic cell score, mastitis, and milking characteristics under grazing conditions. J. Dairy Sci. 93(6): 2741–2750.
- RODRIGUEZ-ZAS S.L., GIANOLA D., SHOOK G.E. 2000. An Approximate Bayesian Analysis of Somatic Cell Score Curves in Holsteins. Acta Agric. Scand., Sect. A, Animal Sci. 50: 291-299.
- RUPP R., FOUCRAS G. 2003. Genetic of mastitis in dairy ruminants. Veterinary Research, BioMed Central 34(5): 671-688.
- SCHUTZ M.M. 1994. Genetic Evaluation of Somatic Cell Scores for United States Dairy Cattle. J Dairy Sci. 77(7): 2113-2129.
- SEWALEM A., MIGLIOR F., KISTEMAKER G.J., VAN DOORMAAL B.J. 2006. Analysis of the Relationship Between Somatic Cell Score and Functional Longevity in Canadian Dairy Cattle. J. Dairy Sci. 89(9): 3609–3614.

- SHARMA N., SINGH N.K., BHADWAL M.S. 2011. Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: An Overview. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 24(3): 429-438.
- SHOOK G.E. 1993. Genetic improvement of mastitis through selection on somatic cell count. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice* 9(3): 563-581.
- SHOOK G. 2001. Breeding, selection and somatic cell counts: Where are we today? (en línea). Consultado 15 mar. 2015. Disponible en <http://www.nmconline.org/articles/GenSCS.pdf>
- USDA (DEPARTMENT OF AGRICULTURE, US). 2007. Dairy 2007 Part I: Reference of Dairy Cattle Health and Management Practices in the United States, 2007 (en línea). Colorado, Estados Unidos. Consultado 15 mar. 2015. Disponible en http://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy07/Dairy07dr_PartI.pdf
- VALLIMONT J.E., DECHOW C.D., SATTLER C.G., CLAY J.S. 2009. Heritability estimates associated with alternative definitions of mastitis and correlations with somatic cell score and yield. *J. Dairy Sci.* 92: 3402-3410.
- ZHAO F., GUO G., WANG Y., GUO X., ZHANG Y., DU L. 2015. Genetic parameters for somatic cell score and production traits in the first three lactations of Chinese Holstein cows. *Journal of Integrative Agriculture* 14(1): 125–130.

CONCLUSIONES GENERALES

La incidencia de mastitis clínica observada en este estudio, aunque obtenida a partir de registros de hato, se encuentra dentro de los rangos reportados por estudios realizados en otros países.

El mes y año de parto, así como el número de parto y el periodo de lactancia se identificaron como factores de riesgo para el desarrollo de mastitis clínica y los RCS en los hatos lecheros de Costa Rica. El tipo racial, la presencia de casos previos y el nivel de producción de leche también resultaron factores de riesgo para el desarrollo de mastitis clínica. Sin embargo, la raza (Holstein o Jersey) no fue un factor significativo para los RCS.

El factor hato presentó un efecto estadísticamente significativo sobre el SCS, pero con un amplio rango de variación. Entre los factores ligados al hato se encuentran las prácticas de manejo, las cuales pueden ser mejoradas en un corto plazo. Por su parte, la heredabilidad y repetibilidad obtenidas para el RCS demuestran que los factores genéticos juegan un importante papel en la susceptibilidad de las vacas a la mastitis clínica.

RECOMENDACIONES GENERALES

Debido a que el periodo de la lactancia y el número de partos son factores que influyen en la incidencia de mastitis clínica y en los RCS, es recomendable no prolongar mucho las lactancias de las vacas, secarlas a tiempo, y descartar los animales con múltiples lactancias. Además, es importante llevar registros individuales de mastitis clínica y RCS y registros del tanque, ya que esto permite darle seguimiento a casos específicos. Esto también puede facilitar la toma de decisiones en cuanto al descarte de animales y la selección de vacas de reemplazo.

Con respecto a la selección de animales y el mejoramiento genético del hato lechero, se debe practicar el descarte de vacas con antecedentes de mastitis clínica y/o altos RCS a repetición. Asimismo, se debe procurar el uso de sementales con índices favorables para rasgo de mastitis clínica o RCS con el fin de disminuir el ritmo en el que aumenta la susceptibilidad a esta enfermedad.

Algunas prácticas de manejo resultan relativamente sencillas y pueden tener un efecto inmediato. Por ejemplo, es importante seguir los pasos de presellado, secado y sellado de la rutina de ordeño, en las condiciones más limpias posibles e implementar terapias de secado con el uso de antibióticos. También es importante cumplir con el tiempo de ordeño adecuado: un minuto de estimulación del pezón y no más de 4 minutos de ordeño, con el fin de no causar daños mecánicos en los pezones. El confinamiento debe realizarse con un material que no retenga humedad, como la arena, para evitar el desarrollo de bacterias causantes de mastitis.

Dada la amplia variación entre hatos detectada para mastitis clínica y SCS es importante promover más investigación a nivel poblacional enfocada a la evaluación del impacto de las distintas prácticas de manejo que se realizan a nivel de finca. También es necesario examinar más a fondo las diferencias entre hatos con el fin de identificar posibles prácticas de manejo u otro tipo de condiciones que relacionadas con estos índices. Finalmente, en el programa VAMPP es necesario incorporar opciones para el registro de las prácticas de manejo ligadas al ordeño y que podrían tener efecto sobre mastitis clínica y/o SCS.

ANEXOS CAPÍTULO 1

Anexo 1. Razón de probabilidades (OR) y probabilidad marginal (PM) de ocurrencia de MC, con intervalos de confianza (IC 95%) para los factores de riesgo de tipo racial, mes de parto, periodo de parto, zona agroecológica de vida, número de partos y estadio de lactancia, según modelo sin efectos de lactancia previa.

Factores de riesgo	n	OR	IC _{OR} 95%		PM	IC _{PM} 95%	
			LI	LS		LI	LS
<u>Tipo racial</u>							
Jersey	81 827	1,31	1,16	1,47	0,06	0,05	0,07
Cruce Holstein x Jersey	58 255	1,40	1,25	1,57	0,06	0,05	0,08
Holstein	128 154	1,78	1,59	1,99	0,08	0,06	0,10
Cruce Holstein x Pardo suizo	13 011	1,63	1,49	1,79	0,07	0,06	0,09
Cruce Jersey x Pardo suizo	4 242	1,50	1,30	1,74	0,07	0,05	0,09
Cruce Leche x Brahman	10 084	1,10	0,96	1,25	0,05	0,04	0,06
Cruce Leche x <i>Bos indicus</i>	3 208	0,85	0,71	1,02	0,04	0,03	0,05
Guernsey	2 831	1,40	0,97	2,02	0,06	0,04	0,09
Cruce Holstein x Pardo x Jersey	1 148	1,37	1,04	1,81	0,06	0,04	0,08
Pardo suizo	10 646	1	-	-	0,05	0,04	0,06
<u>Mes de parto</u>							
Febrero	23 867	1,11	1,02	1,19	0,06	0,05	0,07
Marzo	25 720	1,19	1,10	1,28	0,06	0,05	0,08
Abril	24 995	1,18	1,09	1,27	0,06	0,05	0,08
Mayo	24 882	1,16	1,07	1,25	0,06	0,05	0,08
Junio	22 989	1,14	1,06	1,23	0,06	0,05	0,08
Julio	23 480	1,12	1,04	1,21	0,06	0,05	0,08
Agosto	25 024	1,08	1,00	1,17	0,06	0,05	0,07
Setiembre	27 043	1,07	0,99	1,15	0,06	0,05	0,07
Octubre	29 120	0,98	0,91	1,05	0,05	0,04	0,07
Noviembre	28 970	1,01	0,94	1,08	0,05	0,04	0,07
Diciembre	29 414	1,04	0,96	1,11	0,06	0,04	0,07
Enero	27 902	1	-	-	0,05	0,04	0,07
<u>Periodo de parto</u>							
1995 - 1999	49 352	1,19	1,12	1,27	0,06	0,05	0,07
2000 - 2004	68 349	1,16	1,08	1,24	0,06	0,04	0,07
2005 - 2009	90 889	1,86	1,74	1,99	0,09	0,07	0,11
>= 2010	75 345	1,15	1,08	1,24	0,05	0,04	0,07
< 1995	29 471	1	-	-	0,05	0,04	0,06
<u>Zona agroecológica de vida</u>							
Bosque húmedo premontano	46 886	1,50	0,80	2,80	0,06	0,04	0,08
Bosque húmedo tropical	13 405	0,65	0,27	1,54	0,03	0,01	0,05
Bosque muy húmedo montano	2 313	1,11	0,31	3,96	0,04	0,01	0,13
Bosque muy húmedo montano bajo	38 806	1,36	0,71	2,62	0,05	0,03	0,08

Bosque muy húmedo premontano	76 164	1,61	0,90	2,87	0,06	0,05	0,08
Bosque muy húmedo tropical	79 397	1,25	0,70	2,22	0,05	0,04	0,06
Bosque pluvial montano bajo	21 952	1,84	0,96	3,54	0,07	0,05	0,10
Bosque seco tropical	2 285	9,81	2,73	3,53	0,28	0,11	0,56
Bosque húmedo montano bajo	32 198	1	-	-	0,04	0,02	0,06
<u>Número de partos</u>							
2	64 950	1,53	1,45	1,60	0,05	0,04	0,07
3	52 490	1,94	1,85	2,04	0,07	0,05	0,08
4	40 818	2,19	2,08	2,31	0,07	0,06	0,09
5	29 797	2,12	2,00	2,25	0,07	0,06	0,09
6	45 990	1,84	1,75	1,94	0,06	0,05	0,08
1	79 361	1	-	-	0,04	0,03	0,04
<u>Periodo de lactancia</u>							
1	14 994	73,61	66,03	82,05	0,51	0,45	0,57
2	11 387	26,75	23,95	29,88	0,27	0,23	0,32
3	15 261	16,63	14,90	18,55	0,19	0,16	0,23
4	15 738	13,69	12,26	15,29	0,16	0,13	0,20
5	15 330	12,64	11,31	14,12	0,15	0,12	0,18
6	15 141	10,96	9,80	12,26	0,13	0,11	0,16
7	15 389	8,87	7,92	9,93	0,11	0,09	0,14
8	17 975	5,76	5,14	6,45	0,07	0,06	0,09
9	29 300	2,34	2,09	2,63	0,03	0,03	0,04
10	49 840	0,96	0,85	1,08	0,01	0,01	0,02
11	38 699	0,86	0,76	0,97	0,01	0,01	0,02
12	25 159	0,97	0,85	1,10	0,01	0,01	0,02
13	16 856	0,97	0,84	1,13	0,01	0,01	0,02
14	11 157	0,96	0,81	1,14	0,01	0,01	0,02
15	21 180	1	-	-	0,01	0,01	0,02