

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**PRODUCCIÓN DE LECHE Y EFICIENCIA REPRODUCTIVA EN VACAS
LECHERAS**

Trabajo de Tesis realizado como requisito para optar al título de
DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS

Autor: MV, Ramiro Rearte

Director: MV, DrCsVet, Mauricio Javier Giuliadori

Codirectora: Dra, Isabel Lacau de Mengido

AGRADECIMIENTOS

La realización de esta tesis doctoral fue posible gracias al apoyo recibido por parte del CONICET, que me otorgó una Beca doctoral. También recibí una beca de formación de parte del Canadian Department of Foreign Affairs Emerging Leaders in the Americas program (ELAP).

Además, Este estudio fue parcialmente financiado por la Asociación de la Regional Pampeana de Entidades de Control Lechero (ARPECOL) y por el subsidio V11/230 de la UNLP a R.L. de la Sota.

El trabajo realizado tampoco hubiera sido posible de realizar sin el apoyo de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La plata, de sus autoridades, del cuerpo docente y no docente, y de los compañeros estudiantes de grado y de postgrado.

PRÓLOGO

El trabajo de tesis aquí presentado surge como una línea de investigación del Instituto de Investigación en Reproducción Animal de la Universidad Nacional de La Plata - CONICET, desarrollada a partir del trabajo colaborativo con entidades del sector lechero y profesionales veterinarios que se desempeñan en la práctica lechera diaria. A medida que las prácticas productivas de la lechería se especializaron cada vez más, se incrementó la necesidad de desarrollar criterios analíticos para poder utilizar los datos que estas prácticas generan; es decir, nuevos criterios que nos ayuden a generar información de utilidad, que guíe la toma de decisiones en estos sistemas de producción que son cada vez más complejos. En este contexto los resultados de los planteos productivos de las empresas lecheras están definidos por la efectividad que se alcance en la producción de leche. En este sentido, el desempeño reproductivo cumple un papel determinante durante la vida productiva de las vacas. Por esta razón es que la tesis está compuesta por estudios cuantitativos que intentan establecer correlaciones que expliquen los resultados productivos y reproductivos registrados en establecimientos comerciales de producción de leche en Argentina. El hecho de que esos estudios incluyan observaciones realizadas en una gran cantidad de establecimientos lecheros nos permite tener una noción precisa de la heterogeneidad de las asociaciones establecidas entre rodeos y, por tanto, nos otorga poder para generalizar los resultados obtenidos. Este quizás sea el principal aporte del presente trabajo de tesis al conocimiento general, ya que las conclusiones a las que arribamos aportan información valiosa al entendimiento de los patrones generales de la dinámica de los resultados productivos y, además, permiten proponer aproximaciones metodológicas válidas para la toma de decisiones en situaciones productivas particulares.

INDICE

AGRADECIMIENTOS	ii
PRÓLOGO	iii
PUBLICACIONES PARCIALES DEL PRESENTE TRABAJO DE TESIS	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE TABLAS	ix
LISTA DE FIGURAS	xiii
RESUMEN	xv
SUMMARY	xvii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
PRODUCCIÓN DE LECHE Y FERTILIDAD	4
MONITOREO DE LA CONDICIÓN	5
CONTEO DE CÉLULAS SOMÁTICAS, PRODUCCIÓN DE LECHE Y FERTILIDAD.....	7
2. IMPACTO DE LA PRODUCCION DE LECHE EN EL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE LAS VACAS LECHERAS.....	9
INTRODUCCIÓN.....	9
Objetivos	11
Hipótesis.....	12
MATERIALES Y MÉTODOS	12
Construcción de la base de datos	12
Validación de la base de datos.....	15
Definición de indicadores	17
Análisis estadístico	19
RESULTADOS	23
DISCUSIÓN	37
CONCLUSIÓN.....	41
3. ASOCIACIÓN ENTRE EL CONTEO DE CÉLULAS SOMÁTICAS, LA PRODUCCIÓN DE LECHE Y EL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO.....	43
INTRODUCCIÓN.....	43
Objetivos	45
Hipótesis.....	45
MATERIALES Y MÉTODOS	46
Set de datos	46

Definición de las variables en estudio.....	46
Análisis estadístico	47
Criterios de inclusión.....	50
RESULTADOS	52
CCS y desempeño reproductivo	52
CCS y producción de leche	56
DISCUSIÓN	60
CONCLUSIÓN.....	64
4. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD PREDICTIVA DE UN SISTEMA DE MONITOREO DE LA SALUD BASADO EN MEDICIONES DE CONDICIÓN CORPORAL A NIVEL DEL RODEO	65
INTRODUCCIÓN.....	65
Objetivos	68
Hipótesis.....	68
MATERIALES Y MÉTODOS	69
Manejo de los rodeos	69
Diseño del estudio y análisis estadístico.....	70
RESULTADOS	75
DISCUSIÓN	84
CONCLUSIONES.....	90
5. CONCLUSIONES.....	91
6. BIBLIOGRAFIA.....	94

PUBLICACIONES PARCIALES DEL PRESENTE TRABAJO DE TESIS

1. **R. Rearte**, S. J. LeBlanc, S. G. Corva, R. L. de la Sota, I. M. Lacau-Mengido, and M. J. Giuliadori. 2018. Effect of milk production on reproductive desempeño in dairy herds. *Journal of Dairy Science*. 101:7575–7584. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13796>.

LISTA DE ABREVIATURAS

ABC	Área bajo la curva
RRa	Riesgo relativo ajustado
BE	Balance energético
BEN	Balance energético negativo
BHB	Beta hidroxibutirato
CC	Condición corporal
CCS	Conteo de células somáticas
CCS_DIARIO	Indicador categórico del conteo de células somáticas diario
CCS_ESTATUS	Indicador categórico del conteo de células somáticas en las primeras cuatro inseminaciones artificiales de la lactancia
CCS_C	Conteo de células somáticas categorizado en 11 niveles
CCS_SEVERIDAD	Conteo de células somáticas categorizadas en función de su severidad
CCS_SL	Score lineal del conteo de células somáticas diario
CL	Cuerpo Lúteo
CONCEPCION	variable categórica del estado de preñez
CPL	Cuartil de producción de leche intra-rodeo
CME	Cuadrado medio del error.
DE	Desvío estándar
DEL	Días en leche
ER80 = ENERGÍA_RODEO_80	Categoría de rodeo en función de la media de la energía neta secretada en leche a los 80 días en leche para cada año
EV80 = ENERGÍA_VACA_80	Energía neta secretada en leche a los 80 DEL
Sp	Especificidad
FAP	Fracción atribuible poblacional
IA	Inseminación artificial
IC de 95%	Intervalo de confianza del 95%
RIQ	Rango inter-cuartil
LECHE	Litros de leche de cada control lechero mensual utilizada como variable tiempo-dependiente

LECHE_RODEO_80 (LR80) Categorías de la media de producción de leche acumulada a los 80 días en leche de cada para cada rodeo/año

LECHE_VACA_80 (LV80) Producción de leche acumulada a los 80 días en leche

LH Hormona luteinizante

AGNE Ácidos grasos no esterificados

OR Odds ratios

P4 Progesterona

PL1 Producción de leche al primer control lechero

PRE100 Tasa de preñez a los 100 DEL

PRE21 Tasas de preñez cada 21 días

RI Riesgo instantáneo

Se Sensibilidad

LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1 Análisis descriptivo del número de rodeos, vacas por rodeo, producción de leche acumulada a los 305 DEL y preñez a los 100 DEL para el período de 12 años (2001 a 2012) utilizado en este estudio.	13
Tabla 2.2 Modelo de regresión logística que evalúa el efecto de la producción de leche a los 80 DEL a nivel de la vaca (LV80) y a nivel del rodeo (LR80) en las chances de preñez a los 100 DEL para las 657.968 lactancias, de los 677 rodeos lecheros localizados en la provincia de Buenos Aires, Argentina, durante un período de 12 años (2001 – 2012).	24
Tabla 2.3 Modelo de regresión logística que evalúa el efecto de la energía secretada en leche a los 80 DEL a nivel de la vaca (EV80) y a nivel del rodeo (ER80) en las chances de preñez a los 100 DEL para las 657.968 lactancias, de los 677 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires, Argentina, durante un período de 12 años (2001 – 2012).	26
Tabla 2.4 Modelo de riesgos proporcionales de Cox que evalúa el efecto de la producción de leche diaria de las vacas (LECHE), estratificado por los cuartiles de producción de leche del rodeo (LECHE_RODEO_80) en el riesgo instantáneo de preñez en momentos puntuales de la lactancia de 94.593 lactancias pertenecientes a 402 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires, Argentina.	28
Tabla 2.5 Modelo de riesgos proporcionales de Cox que evalúa el efecto de la producción de leche diaria de las vacas (LECHE), estratificado por los cuartiles de producción de leche del rodeo (LECHE_RODEO_80) por año en el riesgo instantáneo de preñez en momentos puntuales de la lactancia de 94.593 lactancias pertenecientes a 402 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires, Argentina.	30

Tabla 2.6 Análisis de sensibilidad del modelo de riesgos proporcionales de Cox que evalúa el efecto de la producción de leche diaria de las vacas (LECHE), estratificado por los cuartiles de producción de leche del rodeo (LECHE_RODEO_80) en el riesgo instantáneo de preñez en momentos puntuales de la lactancia bajo la hipótesis de una correlación completamente positiva entre censura y preñez.....	34
Tabla 2.7 Análisis de sensibilidad del modelo de riesgos proporcionales de Cox que evalúa el efecto de la producción de leche diaria de las vacas (LECHE), estratificado por los cuartiles de producción de leche del rodeo (LECHE_RODEO_80) en el riesgo instantáneo de preñez en momentos puntuales de la lactancia bajo la hipótesis de una correlación completamente negativa entre censura y preñez.....	35
Tabla 2.8 Efecto del año de parición (AÑO) en el riesgo instantáneo de preñez, ajustado por LECHE, estación de parto, categoría de parición, de 94.593 lactancias pertenecientes a 402 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires, Argentina.	36
Tabla 3.1 Modelo de regresión lineal multinivel que evalúa la asociación entre el conteo de células somáticas y la chance de concepción en 802.066 servicios, de 427.148 lactancias pertenecientes a 580 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires, Argentina, entre los años 2000 y 2014. ..	53
Tabla 3.2 Modelo de regresión lineal multinivel que evalúa la asociación entre la severidad del conteo de células somáticas en vacas con conteos crónicamente altos y la chance de concepción en 177.148 servicios, de 115.466 lactancias pertenecientes a 557 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires, Argentina, entre los años 2000 y 2014.	54
Tabla 3.3 Modelo de riesgos proporcionales de Cox que evalúa la asociación entre el conteo de células somáticas y el riesgo instantáneo de recibir un servicio en 536.190 lactancias,	

pertenecientes a 777 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires Argentina, entre los años 2000 y 2014.....	55
Tabla 3.4 Modelo de regresión lineal multinivel que evalúa la asociación entre el score lineal del conteo de células somáticas y la producción de leche diaria en los diferentes cuartiles de producción de leche en 29.830 lactancias de vacas primíparas pertenecientes a 159 rodeos de la provincia de Buenos Aires, Argentina	57
Tabla 3.5 Modelo de regresión lineal multinivel que evalúa la asociación entre el score lineal del conteo de células somáticas y la producción de leche diaria en los diferentes cuartiles de producción de leche en 29.830 lactancias de vacas de segundo parto provenientes de 159 rodeos de la provincia de Buenos Aires, Argentina.	58
Tabla 3.6 Modelo de regresión lineal multinivel que evalúa la asociación entre el score lineal del conteo de células somáticas y la producción de leche diaria en los diferentes cuartiles de producción de leche en 29.830 lactancias de vacas de tres o más partos provenientes de 159 rodeos de la provincia de Buenos Aires, Argentina.	59
Tabla 4.1 Modelos logísticos multivariados que explican las chances de metritis antes de los 21 DEL, de anestro y de mastitis hasta los 50 DEL, de haber recibido una IA antes de los 80 DEL (IA80) y de preñez a los 100 DEL (PRE100).de También se muestra el modelo lineal que explica la producción de leche al primer control lechero (30 – 40 DEL). Los modelos fueron estratificados por categoría de parición y por rodeo.	77
Tabla 4.2 Estimación de la sensibilidad (Se) y de la especificidad (Sp), del área bajo la curva (ABC), de los odds ratios (OR) y del punto de corte de la frecuencia de vacas con baja condición corporal al parto (CC_P<3), como predictor de las tasas anestro por encima de la mediana poblacional, en los diferentes rodeos y categorías de parición.	79

Tabla 4.3 Estimación de la sensibilidad (Se) y de la especificidad (Sp), del área bajo la curva (ABC) y de los odds ratios (OR), del punto de corte de la frecuencia de vacas con baja condición corporal al parto ($CC_P < 3$) o alta pérdida de condición corporal hasta los 30 – 40 DEL ($\Delta CC > 0.5$) como predictor de las tasas anestro por encima de la mediana poblacional, en los diferentes rodeos y categorías de parición..... 80

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1** Promedio de las medianas de producción de leche corregida a los 305 DEL de los rodeos (●) y de la proporción de vacas preñadas a los 100 DEL (■) durante un período de 12 años (2001 a 2012) en 677 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires, Argentina 14
- Figura 2.2** Probabilidad de preñez en períodos de 21 días para 657.968 lactancias, provenientes de 677 rodeos lecheros localizados en la provincia de Buenos Aires, Argentina, durante un periodo de 12 años. 15
- Figura 2.3** Diagrama de flujo de la validación de la base de datos de los registros productivos y reproductivos de 12 años (2001 a 2012) de 1.576.593 lactancias de 862 rodeos lecheros localizados en la provincia de Buenos Aires, Argentina.. 17
- Figura 3.1** Producción diaria de leche estimada ($CME \pm ES$) en vacas lecheras (n: 89.490 lactancias) en función de las categorías del conteo de células somáticas (CCS), estratificada por el número de partos..... 60
- Figura 4.1** Histograma de las condiciones corporales al parto, por categoría de parición, en dos rodeos lecheros localizados en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Rodeo A: Vaquillonas (n=2.147) Vacas(n=2.887); Rodeo B: Vaquillonas (n=3.899) Vacas (n=4.066)..... 70
- Figura 4.2** Histograma de la variación de las condiciones corporales entre el parto y 40 - 60 días post parto, por categoría de parición, en dos rodeos lecheros localizados en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Rodeo A: Vaquillonas (n=2.147) Vacas(n=2.887); Rodeo B: Vaquillonas (n=3.899) Vacas (n=4.066)71

Figura 4.3 Tasa de anestro y fracción atribuible poblacional a la baja condición corporal al parto, por cohortes de 21 días, por categoría de parición, en un rodeo (Rodeo A) lechero localizados en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Vaquillonas (n=2.147) Vacas(n=2.887) 81

Figura 4.4 Tasa de anestro y fracción atribuible poblacional a la baja condición corporal al parto, por cohortes de 21 días, por categoría de parición, en un rodeo (Rodeo B) lechero localizado en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Vaquillonas (n=3.899) Vacas (n=4.066)82

RESUMEN

TITULO: PRODUCCIÓN DE LECHE Y EFICIENCIA REPRODUCTIVA EN VACAS LECHERAS

PALABRAS CLAVES: producción de leche, fertilidad, conteo de células somáticas, condición corporal.

RESUMEN:

Los objetivos de esta tesis fueron: 1- estimar la asociación entre la producción de leche y el desempeño reproductivo de las vacas y evaluar cómo esta asociación varía en función del nivel de productivo del rodeo; 2- estimar la asociación entre el conteo de células somáticas (CCS) y los indicadores de desempeño productivo y reproductivo, considerando la variabilidad entre rodeos; 3- estimar la asociación entre los indicadores de condición corporal (CC) y los indicadores sanitarios, reproductivos y de producción de leche a nivel de la vaca para establecer estrategias de vigilancia poblacional que se basen en las frecuencias de vacas con valores de CC subóptimos y en determinar las medidas de impacto de esos indicadores poblacionales de CC sobre las tasas de enfermedad. Para alcanzar estos objetivos se realizaron tres estudios observacionales longitudinales retrospectivos. En el primer estudio se incluyeron 657.968 lactancias iniciadas entre el 1 de enero del 2001 y el 31 de diciembre del 2012, provenientes de 677 rodeos lecheros de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. Se ajustaron modelos logísticos multinivel para estimar las chances de preñez a los 100 DEL que incluyeron a los indicadores de producción de leche a nivel individual y a nivel del rodeo como predictores fijos. Además, se ajustaron modelos de riesgos proporcionales de Cox para estimar el riesgo instantáneo de preñez hasta los 200 DEL en función de la producción diaria de leche y estratificando el análisis en función del nivel productivo medio del rodeo. Los resultados de este primer estudio mostraron que la producción de leche se asoció negativamente con la chance de preñez a los 100 DEL, principalmente en los rodeos de alta producción, aun cuando los mejores indicadores reproductivos se presentaron en los tambos más productivos. Durante el período abarcado en este estudio se observó un incremento individual de la producción de leche concomitantemente con una disminución en la tasa de preñez, pero el tamaño de efecto de esa asociación entre producción de leche y riesgo instantáneo de preñez se mantuvo constante. En el segundo estudio, se incluyeron 29.830 lactancias, pertenecientes a 159 rodeos lecheros de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. Se ajustaron modelos lineales multinivel para evaluar la asociación entre el score lineal del CCS a nivel de las vacas y la producción diaria de leche. Estos modelos se estratificaron por el número de parición y por nivel de producción del rodeo. Además, se ajustaron modelos similares, pero con el predictor CCS como variable categórica (en niveles crecientes de 100.000 CCS/ml). Por otra parte, se ajustaron modelos logísticos multinivel para estimar la asociación del CCS con la chance de preñez sobre un total de 900.168 IA. Estos modelos incluyeron el CCS como predictor categórico (con cuatro niveles construidos mediante dos registros de CCS desde los 43 días previos a la IA hasta los 30 días posteriores a la IA). Además, se ajustaron modelos similares para las vacas que contaban con valores altos de CCS tanto en los días previos como posteriores a la IA. Se construyó un predictor

categorico (de cuatro niveles) en función de la severidad del CCS. Por último, se ajustó un modelo de supervivencia de Cox para estimar la asociación entre el CCS y el riesgo diario de recibir una IA. Los resultados mostraron una relación negativa entre el CCS y la producción de leche diaria, que es más marcada en las vacas más productivas, que esa asociación negativa no es lineal y, además, que varía mucho entre rodeos. También se observó que el CCS se relaciona con el éxito de las IA y que su impacto depende de la severidad del proceso inflamatorio y de la asociación temporal con la IA, pero, por el contrario, el CCS no se relacionó con el riesgo diario de recibir una IA. En el tercer estudio se incluyeron los registros productivos, reproductivos, sanitarios y de CC de vacas de dos establecimientos lecheros de la provincia de Buenos Aires que iniciaron sus lactancias (n: 5.034 y 7.965, respectivamente) entre el 1 de enero del 2014 y el 31 de diciembre del 2017. Se ajustaron modelos de regresión logística y lineales para evaluar la asociación entre la CC al parto y su cambio hasta los 40 a 60 días postparto (como predictores categóricos), con las chances de haber recibido una IA a los 80 DEL, de estar preñada a los 100 DEL, de sufrir un evento de anestro, metritis, o mastitis y con la producción de leche diaria. Además, se calculó en cohortes de vacas que parieron cada 21 días, la frecuencia de vacas con indicadores de CC desfavorables y se emplearon esas frecuencias para estimar las medidas de posición (cuartiles 1, 2 y 3). Luego, para cada cuartil, se evaluó la capacidad predictiva de aumento en la frecuencia de anestro. Por último, se graficaron las medidas de impacto de la CC sobre la tasa de anestro, calculadas en función de la frecuencia de vacas con indicadores de CC desfavorables. Los resultados muestran que los indicadores de CC a nivel de las vacas son buenos predictores del desempeño sanitario, reproductivo y productivo. Ahora bien, cuando estos indicadores de CC son agregados en cohortes de vacas, su capacidad predictiva de la frecuencia poblacional de anestro es pobre. Por el contrario, las medidas de impacto estimadas resultaron ser indicadores más útiles para determinar cuándo y en qué magnitud los indicadores de CC del rodeo podrían explicar el desempeño sanitario del rodeo. Por tanto, basándose en los resultados obtenidos en los tres estudios que conforman esta tesis podemos concluir que, bajo las condiciones de producción de leche argentinas, es posible alcanzar altos niveles productivos manteniendo buenos indicadores reproductivos y, además, que la disminución en los indicadores de fertilidad observados en los últimos años estaría explicada en gran medida por otros aspectos que variaron concomitantemente con las producciones individuales de leche. También podemos concluir que los procesos inflamatorios de las ubres generan mermas importantes de producción de leche y que, dependiendo de la severidad del proceso inflamatorio, también, pueden afectar de forma significativa el desempeño reproductivo. Por último, podemos concluir que la CC alrededor del parto es un buen predictor de los indicadores productivos y sanitarios, pero que las estrategias de monitoreo poblacional de la CC basadas en la definición de valores umbrales tienen una capacidad predictiva pobre de la frecuencia de enfermedades. Por lo tanto, las estrategias de monitoreo poblacional que se basen en calcular indicadores epidemiológicos de fuerza de asociación y de potencial de impacto, resultarían más informativos para los tomadores de decisiones. Un aspecto general sobre el cual podemos extraer conclusiones es acerca de la importancia de considerar la variabilidad existente entre rodeos al evaluar la asociación entre los indicadores productivos y sus factores determinantes. Es así, que la información que arrojan los estudios de investigación epidemiológica como los aquí presentados, deben ser valoradas en función de lo apropiado que resulta la metodología aplicada a las evaluaciones realizadas, ya que, tanto las tendencias como los tamaños de efectos reportados, deben ser considerados como estimadores poblacionales generales. Para que estos parámetros puedan resultar de utilidad a quienes toman decisiones en la práctica de producción lechera diaria, estas herramientas de vigilancia epidemiológica deben ser aplicadas a la realidad de cada rodeo

lechero en particular, para que en conjunto con otras fuentes de información puedan establecer las asociaciones causales que determinan los aspectos más importantes de la producción de leche de forma robusta y exhaustiva.

SUMMARY

TITLE: MILK PRODUCTION AND REPRODUCTIVE EFFICIENCY IN DAIRY COWS

KEY WORDS: milk yield, fertility, somatic cell count, body condition score.

SUMMARY:

The objectives were: to estimate the association between milk yield and reproductive performance at the cow and at herd level over a period of 12 years; to determine if the observed associations at the cow level varied depending on the herd level of milk production; to estimate the association between the CCS with insemination rate by 200 DIM, and with the odds for conception; to estimate the association between the severity of CCS with conception rate; to estimate the association between CCS with daily milk yield (taking into account individual milk yield and herd variability); to estimate the association between indicators of body condition with indicators of health status, reproductive performance and milk yield at the cow level; to define the cut-off points of the frequencies of cows with suboptimal body condition values, based on the predictive capacity of health events at the herd level; to monitor graphically the herd based on the calculation of the impact measures of body condition indicators on disease rates. To achieve all these objectives, three retrospective longitudinal observational studies were carried out. The first study included 657,968 lactations started between January 1, 2001 and December 31, 2012, belonging to 677 herds. A multilevel logistic model was used to assess the association between the cumulative milk production at 80 DIM at cow level with the odds for pregnancy by 100 DIM. The model also included the effect of herd mean milk yield and the interaction between cow and herd levels. Cox proportional hazards models were also adjusted to estimate the association between daily milk yield with the hazard of pregnancy up to 200 DIM. Daily milk yield was included as a time dependent variable, and the model was stratified by the level of milk yield of the herd. The results showed that milk production was negatively associated with pregnancy risk by 100 DIM, with greater effect size in high milk yield herds than in low milk yield herds, even though the best reproductive indicators are presented by the more productive herds. It was also observed an increase in cow's milk yield accompanied by a decrease in pregnancy rate during the study period, but the association between milk yield and the hazard of pregnancy remained constant throughout of the study period. In the second study, 29,830 lactations belonging to 159 herds were included. Multilevel linear models, stratified by parity were used to assess the associations between linear score of CCS and the herd level of milk yield and their interaction as fixed predictors with cow's daily milk yield. Repeated measurements within the same lactation and herds were considered as random effects. A similar model was also adjusted, but with the CCS included as categorical

predictor (100,000 CCS / ml per level). The effect of the CCS on the odds for conception in cows (receiving one to four AI) was estimated from a total of 900,168 AI. The four levels of the categorical predictor were built from two CCS records measured around each AI (the first during the 43 days before AI, and the second during 30 days after AI). Lactation number was considered as a random effect. A similar model was adjusted for cows having both CCS records with high values, naming the fixed categorical predictor as CCS severity. Finally, a Cox survival model was fitted to estimate the association between CCS and the hazard of receiving an AI. The obtained results suggest that the negative relationship between daily CCS and daily milk yield is greater in higher producers than in lower producer cows, that the milk loss was not linear, and that there was a high variability among herds. In addition, CCS was associated with the hazard of pregnancy, and that relationship depends on the severity of the inflammatory process and on the temporal association with the AI. In the third study, the records having data about productive, reproductive, health, and body condition score from cows calving between January 1, 2014 and December 31, 2017, belonging to two dairy herds (n lactations= 5,034 and 7,965) were evaluated. The body condition scores at calving and its change by 40 and 60 DIM were used to build categorical predictors that were included in logistic and linear regression models assessing the association with the odds for reproductive events (IA80, PRE100), disease risk (anestrus, metritis and mastitis) and daily milk yield. The frequency of cows having low BCS indicators every 21-day period was calculated and quartiles 1,2,3 were determined. Then, the predictive capacity of anestrus was estimated for every quartile. Finally, the association between frequency of cows with poor BCS with the risk for anestrus was estimated, and the effect size was represented graphically every 21-day period. Although both herds had large differences in BCS, health and reproductive indicators, the indicators of BC at cow level during the transition period were good predictors of health status, reproductive performance and milk yield., Conversely, when these indicators were grouped in cohorts of cows, their predictive capacity for anestrus was poor, and that the estimated impact measures turned out to be more useful indicators to determine when the metabolic performance of the herd could be explaining the sanitary performance of herd.

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

Para que las empresas lecheras puedan consolidarse en el mercado es clave que se planteen modelos productivos que sean compatibles económica y financieramente con el contexto económico vigente. Además, el desarrollo de esos procesos productivos debe ser monitoreado con el fin de evaluar si se alcanzan los niveles de eficiencia productiva planteados. A su vez, esa eficiencia productiva depende de la utilización de los recursos forrajeros y, por tanto, define parcialmente la rentabilidad de las empresas lecheras. Es sabido que la eficiencia de conversión del alimento en leche varía a lo largo de la lactancia, siguiendo la forma de la curva de producción de leche. En relación con esto, algunos estudios estimaron que alrededor del 50% de los ingresos generados por la leche producida, en función del costo total de alimentación, se registran durante los primeros 100 a 120 DEL y el 50% restante de los ingresos se observa durante los siguientes 200 días de lactancia. Por lo tanto, la leche producida en los primeros 100 días de lactancia representa un valor 3 veces mayor que el de la leche producida en los 200 días restantes de lactancia (Ferguson y Galligan, 1999). Por esta razón, para incrementar el beneficio económico mediante un aumento de producción marginal de leche, es decir, mediante un aumento de producción que no implique un aporte adicional de capital, es clave que las vacas estén el mayor tiempo posible cerca de su pico de producción láctea. Por lo tanto, este comportamiento fisiológico de las vacas lecheras pone de manifiesto el rol central del desempeño reproductivo, puesto que un alargamiento del intervalo entre partos repercute negativamente sobre la eficiencia global de producción de leche. En tal sentido, no se requiere de estimaciones muy sofisticadas para entender que las intervenciones que mejoren la eficiencia reproductiva de las vacas impactan sobremanera en la

rentabilidad económica de las empresas lecheras (DeVrie, 2006; LeBlanc, 2007; Giordano y col., 2012).

Por tanto, ante las circunstancias previamente descritas resulta fundamental determinar qué factores condicionan la producción de leche y el desempeño reproductivo para poder diagramar planteos productivos eficientes e intervenciones de manejo acorde a esos planteamientos. Un aspecto a tener en cuenta es la amplia variación que se ha observado entre rodeos con relación a los factores que condicionan la producción y el desempeño reproductivo. Por lo tanto, al momento de planificar un estudio es importante considerar el nivel de agregación de los datos sobre el que se establecen las asociaciones; es decir, si las asociaciones se van a estimar a nivel de la vaca o a nivel del rodeo. Esto último es clave para que la interpretación de los resultados sea válida (Dohoo, 2009). En este sentido, se ha reportado que la salud de la ubre juega un rol clave como determinante de la producción de leche. Así se han estimado los costos directos asociados a los episodios de mastitis clínica y los costos ocultos relativos a la merma de producción asociada a los episodios de mastitis subclínica. Esos datos se han utilizado para determinar la relación de costo-efectividad de las intervenciones tendientes a la prevención, mitigación y tratamiento de mastitis (Halasa y col, 2007; Van Asseldonk y col 2010). Además, se ha evaluado la asociación entre la mastitis y la chance de preñez y se ha sugerido que se podría justificar la aplicación del tratamiento específico en algunos casos particulares (McDougall y col., 2015). Otro de los factores que se relacionan, tanto con la producción de leche como con el desempeño reproductivo, es el balance energético (BE) especialmente durante el período de transición que va desde los 30 días previos al parto, hasta los 30 días de lactancia. Si bien existen diferentes biomarcadores que reflejan el BE de las vacas en el corto plazo (como el BHB y AGNE), y que han sido sugeridos como herramientas para monitorear el BE general del rodeo (Giuliodori y col., 2011; Ospina y col., 2013), la evaluación

de la condición corporal de las vacas es el indicador más utilizado debido a su practicidad y bajo costo. Si bien la evaluación de la condición corporal es un buen indicador del BE individual a largo plazo y se asocia con la salud reproductiva (Grigera y col., 2007) no se ha estudiado con profundidad qué sucede cuando esos datos de CC son agregados a nivel del rodeo, con el fin de generar un sistema de vigilancia poblacional del BE.

ANÁLISIS DE DATOS Y TOMA DE DECISIONES

El desarrollo tecnológico que representan, por ejemplo, los sensores y la robótica, sumado a la digitalización de los registros y a las nuevas tecnologías basadas en internet que se están aplicando en los establecimientos lecheros comerciales destacan la importancia de la correcta gestión de la información, que posibilite una correcta toma de decisiones para que los beneficios potenciales de la aplicación de estas tecnologías se hagan realmente efectivos (Wolfert y col. 2017). Por tanto, para diseñar intervenciones concretas que nos permitan mejorar el desempeño productivo, reproductivo o sanitario se requieren estrategias de gestión de esa enorme cantidad de información generada en la práctica diaria en los establecimientos; es decir, se requiere de capacidad analítica e interpretativa de la información disponible que nos permita mejorar la toma de decisiones. Los tomadores de decisiones deberán construir indicadores para monitorear los eventos de interés, no sólo desde una perspectiva descriptiva (¿qué?), sino también desde una perspectiva diagnóstica (¿Por qué?) o predictiva (¿Qué sucede sí?) del fenómeno en cuestión. Por lo expuesto anteriormente queda claro que quienes toman decisiones deben prescribir acciones concretas (¿qué hacer?) que se deriven del análisis riguroso de los datos provenientes de variadas fuentes de información y, además, deben contar con un amplio entendimiento de la realidad productiva en cuestión (Eastwood y col., 2012).

PRODUCCIÓN DE LECHE Y FERTILIDAD

En el marco de la “revolución verde” ocurrida a nivel global en las décadas del 60’ y 70’ y cuyos cambios tecnológicos implicaron un quiebre en los niveles de productividad agrícola, las industrias lecheras se especializaron en el manejo de los rodeos, mejoraron sus programas de nutrición y de selección genética. Esto devino en sistemas de producción más intensivos en el uso de los recursos tecnológicos y, en conjunto con mayores exigencias económicas y financieras, explica en buena medida las tendencias globales del aumento constante de las producciones individuales de litros de leche año tras año, del aumento de las escalas de producción de los establecimientos lecheros y de la disminución en el número de establecimientos productivos (FAO, 2005). Concomitantemente con esta tendencia global de aumento de productividad individual, algunos grupos de investigación reportaron tendencias negativas en los indicadores de fertilidad, lo que habilitó la pregunta acerca de un posible antagonismo entre producción de leche y fertilidad (Lucy, 2001). A partir de entender los cambios fisiológicos que implican las altas producciones de leche se propusieron varias explicaciones biológicamente plausibles acerca de los posibles efectos negativos que las altas producciones de leche tendrían sobre la fertilidad de las vacas, asumiendo que las vacas de alta producción tienen un BEN más marcado, como consecuencia de una mayor demanda energética que no llega a ser compensada por una mayor ingesta. De modo que un BEN más pronunciado llevaría a disminuciones en las concentraciones circulantes de hormonas metabólicas como IGF1 e insulina (Giuliodori y col., 2011; Ingvarsen y Andersen 2000; Roche, 2006), lo que tendría un efecto negativo sobre la reproducción (Rhoads y col 2008) debido a que, por ejemplo, se disminuye la pulsatilidad de LH a nivel hipofisario, y se altera la expresión de receptores de LH a nivel ovárico, retrasándose el reinicio de la ciclicidad posparto (Butler, 2000). Además, la alta producción de leche podría alterar el nivel de progesterona (P4) en sangre como consecuencia del

incremento del aclaramiento hepático de P4, lo que podría alterar tempranamente el mantenimiento de la preñez (Opsomer y col., 1998; Quinteros y col., 2019). También aumentarían el aclaramiento hepático de las hormonas estrogénicas lo que se asociaría a una menor intensidad del celo y a un acortamiento de su duración (Lopez y col., 2004).

Como la fertilidad de las vacas lecheras es un fenómeno que depende de múltiples factores, si se pretende determinar la importancia relativa del incremento de producciones de leche sobre la eficiencia reproductiva, deberíamos emplear estudios epidemiológicos que contemplen los factores que hayan variado concomitantemente con la producción individual de leche a lo largo del tiempo y que podrían estar sesgando la asociación entre producción de leche y fertilidad. También se debería estimar la variabilidad entre rodeos para los indicadores de asociación que se intenta calcular. De ese modo, se podría ponderar el posible efecto de la producción de leche sobre la fertilidad a nivel poblacional y, además, se podría proyectar el efecto productivo de todas aquellas intervenciones que se realicen en una empresa lechera en particular.

MONITOREO DE LA CONDICIÓN

Hay un acuerdo generalizado en que la profundidad y la duración del BEN al inicio de la lactancia desempeña un rol clave en el desempeño reproductivo, puesto que se ha reportado un efecto negativo sobre el reinicio de la ciclicidad posparto y sobre la tasa de concepción (Grigera y col., 2007). Además, también afecta indirectamente a la fertilidad por ser un factor de riesgo de las enfermedades uterinas y metabólicas (Giuliodori y col., 2011; 2012; 2013). Es por esta razón que los planteos nutricionales de las vacas lecheras durante el período de transición deben ser ajustados por los requerimientos de las diferentes categorías de vacas y por el nivel de producción esperado, ya que el BEN es explicado principalmente por la capacidad que tengan las vacas de consumir los aportes energéticos necesarios para cubrir los requerimientos durante este período crítico (Cardoso

y col., 2013). En este sentido, se han desarrollado kits diagnósticos de metabolitos que pueden ser utilizados como indicadores de movilización de grasa corporal en el corto plazo, como los AGNE y BHB, que son buenos predictores de las enfermedades metabólicas como cetosis, desplazamiento de abomaso o mastitis y, por ende, del desempeño reproductivo (LeBlanc y col 2010a). Por otro lado, la evaluación de la condición corporal en el tiempo también es un indicador de la movilización grasa a más largo plazo, que ha demostrado buena capacidad predictiva para identificar aquellas vacas con mayor chance de padecer enfermedades o problemas reproductivos (Carvalho y col., 2014). Si bien se han estimado puntos de corte para los valores de estos indicadores que han demostrado ser útiles para la identificación individual de vacas problemáticas, la evidencia acerca de la mejor forma de agregar la información a nivel del rodeo, con el fin de definir las intervenciones a nivel poblacional, es poco consistente. Una gran parte de los estudios citados ha explorado diferentes formas de utilizar la información recolectada a nivel de las vacas para desarrollar programas de control estadístico de los procesos productivos, similares a los aplicados en ámbitos por fuera de la producción animal (Lukas y col., 2015). Otros estudios evaluaron diferentes programas de vigilancia epidemiológica a nivel poblacional, que se fundan en establecer las capacidades predictivas de los patrones de frecuencia de los factores de riesgo (Ospina y col 2013; Dubuc y Denis-Roubichaud, 2017). Las falencias que estas estrategias de control presentan, son que su aplicación práctica termina siendo una propuesta mecanicista fundada en el establecimiento correlacional entre las frecuencias poblacionales de los factores de riesgo y los indicadores poblacionales de los resultados productivos de interés. Esto, desde una perspectiva general termina siendo una aproximación unicausal de procesos biológicos determinados por múltiples factores (la mayoría de ellos determinados a nivel poblacional, y que

a su vez presentan una alta variabilidad entre rodeos), lo que hace imposible generalizar una estrategia de control.

CONTEO DE CÉLULAS SOMÁTICAS, PRODUCCIÓN DE LECHE Y FERTILIDAD

La medición periódica del CCS en vacas en lactancia es una de las herramientas más importantes para monitorear la salud de las ubres. Esta herramienta nos permite definir acciones a seguir en función de la eficacia de los tratamientos de secado, de la caracterización de la trayectoria del CCS de las vacas durante la lactancia y, además, calcular indicadores que evalúen la efectividad del programa de sanidad de las ubres a nivel poblacional (Ruegg, 2011). Los episodios de mastitis clínica representan uno de los costos económicos más importantes de los establecimientos lecheros, puesto que involucran los costos directos del tratamiento, de los programas de control, de la leche descartada durante el tratamiento y, finalmente, el costo derivado de la merma productiva posterior al episodio de mastitis, que se prolonga durante toda la vida productiva de las vacas (Huijps y col 2008). De igual manera, los costos ocultos asociados a los episodios de mastitis subclínica podrían incluso ser superiores a los de la enfermedad clínica. Se sugiere que la mejor aproximación de control de la mastitis subclínica es una combinación de vigilancia poblacional, intervenciones en las rutinas de trabajo del rodeo y saneamiento ambiental (Ruegg, 2011). Por esta razón, varios grupos de investigación han estimado la merma productiva asociada a los episodios de mastitis subclínica. Esto último es importante para que los tomadores de decisiones puedan valorar los programas de control aplicados en la práctica diaria en función de una estimación más precisa de la relación costo/efectividad de las intervenciones realizadas (Boland y col. 2013). Cabe destacar que la complejidad que implica pretender generalizar los resultados reportados en la bibliografía disponible, principalmente, debido a que las mermas de producción de leche han sido estimadas mediante estudios epidemiológicos que utilizaron diferentes diseños, distintos

indicadores de salud, y que, además, se realizaron en países con diferentes sistemas de producción de leche. Por otra parte, se incluyeron vacas lecheras provenientes de un número muy variable de rodeos, que en buena medida determinan la variabilidad observada en los estimadores calculados y cuyos efectos de agrupación tampoco han sido controlados de igual manera, o incluso han sido completamente ignorados (Boland y col., 2013).

Por otro lado, en varios estudios se reportan los efectos deletéreos de los episodios de mastitis clínica y subclínica sobre la fertilidad (Fuenzalida y col., 2015; Lavon y col., 2011). Algunos de estos trabajos plantean que la mastitis clínica tiene un efecto negativo sobre la chance de concepción que se continúa hasta 60 días posteriores al evento de mastitis clínica (Hudson y col 2012), pero la mayoría de los trabajos refieren que el mayor efecto deletéreo se observa cuando los episodios de mastitis ocurren durante los 15 días posteriores a la IA (Fuenzalida y col., 2015; Lavon y col., 2011). Si bien todos estos estudios han reportado tamaños de efectos importantes, la severidad del proceso inflamatorio y la asociación temporal entre el evento de mastitis y la IA son factores que modulan estas asociaciones que deberían considerarse. Esto último hace que el efecto de la mastitis sobre la fertilidad del rodeo dependa de la incidencia de mastitis propia de cada rodeo y que en comparación con otros determinantes de los indicadores reproductivos como, por ejemplo, la tasa de detección de celo, su efecto global no pueda ser generalizado linealmente (Hudson y col., 2015). Por lo tanto, es clave que se realicen estudios que determinen la correlación entre estas variables y, especialmente, su variabilidad entre rodeos, lo que permitirá proponer medidas puntuales de mitigación para los rodeos en estudio, tanto a nivel individual como poblacional.

CAPITULO I

2. IMPACTO DE LA PRODUCCION DE LECHE EN EL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE LAS VACAS LECHERAS

INTRODUCCIÓN

La lechería argentina ha sufrido profundos cambios durante los últimos 30 años. Tradicionalmente, la lechería se había desarrollado sobre la base de un sistema pastoril, mostrando una marcada estacionalidad en la producción de leche que acompañaba la curva de crecimiento de las pasturas. Pero a partir de la década de los años 90' el sistema de producción comenzó a intensificarse por medio de la modernización de los recursos agronómicos y por el aumento de la escala productiva. En este sentido, la producción anual de leche se incrementó de 6.000 millones de kg en 1988 a 10.000 millones de Kg en 2002. Durante ese período el tamaño promedio del rodeo prácticamente se duplicó (de 67 a 134 vacas/rodeo) pero la producción individual se incrementó en 3 kg/d (de 8.5 a 11.5 Kg/d). Por tanto, la mejora productiva se basó en una mayor carga animal por hectárea. Al mismo tiempo se redujo a la mitad el número de establecimientos (de 30.141 a 15.000), lo que representa una reducción anual del 3,6%, pero el tamaño del rodeo nacional se mantuvo (disminuyó un 0.02%). Contrariamente, entre los años 2002 y 2012 la disminución del número de establecimientos se desaceleró a un ritmo anual de 2.3%, pero se acompañó de una reducción del 12% en la población nacional de vacas (decreció de 2.005.000 a 1.748.000). Esto último, se produjo a consecuencia de una selección por producción, que elevó la producción diaria individual de 11.5 a 18.5 Kg/d (Taverna, 2013; Parellada, 1999).

Este proceso de intensificación en el uso de los recursos agrícolas fue un fenómeno global que se acompañó de una mayor productividad a nivel mundial, especialmente en países con industrias lecheras altamente tecnificadas y especializadas (FAO,2005). Concomitantemente, algunos

investigadores reportaron una disminución en los indicadores de fertilidad de las vacas lecheras y propusieron varios mecanismos fisiológicos que explicarían el impacto negativo de las altas producciones individuales en la fertilidad (Lucy, 2001; Butler, 2003; Wiltbank y col., 2005). Varios grupos de investigación han evaluado este posible antagonismo entre producción de leche y fertilidad. Sin embargo, los resultados han sido contradictorios, puesto que se han reportado tanto una asociación negativa (Butler, 2003; Eicker et al. 1996; Grohn and Rajala-Schultz, 2000; Lucy, 2001; Madouasse y col.,2010; Melendez and Pinedo, 2007; Piccardi y col.,2013), como positiva (Campbell y col.,2009; Cook y col.,2016; Rajala-Schultz y col.,2000). Se han realizado algunas revisiones para intentar esclarecer si algunas cuestiones metodológicas podrían explicar estas inconsistencias (Bello y col.,2012; LeBlanc, 2010^b; Morton, 2006). Bello y col. (2012) modelaron simultáneamente los efectos de la producción de leche en la reproducción, tanto a nivel del rodeo como a nivel de las vacas, y reportaron una asociación diferente en ambos niveles que, a su vez, estaba influenciada por las prácticas de manejo. En ese trabajo se resalta la importancia de la aplicación de modelos multinivel, que permiten evaluar los efectos contextuales, puesto que incluyen un predictor de un nivel superior que representa el efecto del contexto o del grupo al cual pertenecen los individuos (Snijders and Bosker, 2012). Esta manera de modelar las observaciones permite estimar separadamente la magnitud y la dirección de la asociación entre producción de leche y desempeño reproductivo, tanto a nivel de la vaca como del rodeo. LeBlanc (2010b) analizó los posibles sesgos que tendrían las estimaciones de la asociación entre la tasa de preñez y la producción de leche, empleando los indicadores de desempeño productivo y reproductivo más difundidos en la práctica de campo, tales como los días abiertos, la tasa de concepción, la tasa de no retorno y la producción de leche acumulada a los 305 DEL. Este trabajo concluyó que todos estos indicadores utilizados traen aparejados claros sesgos en la selección de las vacas incluidas

en los estudios. En otro estudio, Morton (2006) observó que muchos estudios de los que estimaban la tendencia en el tiempo de la relación entre producción de leche y fertilidad no incluían las mismas poblaciones de rodeos en los diferentes momentos de tiempo y, además, que muchos de esos estudios fueron realizados en rodeos comerciales, en los que las decisiones de manejo podrían tener sesgos de selección o de permanencia; por ejemplo, aumentar el período de espera voluntaria o darles más inseminaciones a las vacas más productivas que a las menos productivas. Piccardi y col. (2013) evaluaron esta asociación bajo las condiciones de producción de Argentina. Incluyeron los registros productivos y reproductivos de unos 300 rodeos lecheros de la zona centro y sur de Santa Fe y Córdoba, recolectados durante dos años. Este estudio reportó que las vacas con bajo nivel productivo tenían mayores chances de preñez que las más productivas, pero no reportó la variabilidad de la asociación entre rodeos, ni su tendencia en el tiempo durante un período más prolongado.

Objetivos

Los objetivos de este capítulo fueron:

- a. Estimar la asociación entre la producción de leche y el desempeño reproductivo a nivel de las vacas.
- b. Estimar la asociación entre producción de leche y el desempeño reproductivo a nivel del rodeo.
- c. Estimar si las asociaciones observadas a nivel de las vacas varían en función del nivel de producción de leche del rodeo.
- d. Estimar la tendencia temporal de los indicadores de desempeño productivo y reproductivo, y de los indicadores de asociación entre ambos aspectos.

Hipótesis

- a. La producción de leche y el desempeño reproductivo a nivel de las vacas no tienen una relación antagónica.
- b. La asociación entre la producción de leche y el desempeño reproductivo a nivel de las vacas está influenciada por el efecto del rodeo.
- c. La producción de leche y el desempeño reproductivo a nivel del rodeo están positivamente asociadas.
- d. Las tendencias temporales son positivas para los indicadores de producción de leche y negativas para los indicadores reproductivos, y los indicadores de la asociación entre ambos aspectos se mantienen constantes a través del tiempo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Construcción de la base de datos

Se realizó un estudio longitudinal retrospectivo utilizando información proveniente de rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Se dispuso de los registros productivos, reproductivos y sanitarios de todas las lactancias iniciadas entre el 1 de enero del 2001 y el 31 de diciembre del 2012 (1.573.593 lactancias pertenecientes a 862 rodeos) recolectados por la asociación oficial de entidades de control lechero [Asociación de la Regional Pampeana de Entidades de Control Lechero (ARPECOL)], extractados desde un software comercial (DIRSA S.A., Gonnet, Argentina) y centralizados en una base de datos relacional única (Mysql®). El análisis descriptivo de la base de datos, que incluye el número de rodeos que la conforman, los parámetros del número de vacas por rodeo, las producciones de leche acumulada a los 305 DEL, y las tasas de preñez a los 100 DEL se muestran en la Tabla 2.1 y en la Figura 2.1. Las tasas de

preñez cada 21 días, calculadas a partir de todas las vacas incluidas en la base de datos, se muestran en la Figura 2.2.

Tabla 2.1 Análisis descriptivo del número de rodeos, vacas por rodeo, producción de leche acumulada a los 305 DEL y preñez a los 100 DEL para el período de 12 años (2001 a 2012) utilizado en este estudio.

Año	Rodeos (n)	Vacas ^a Media (Min -Max)	LECHE305 ^b Mediana y RIQ	PRE100 (%) ^c Mediana y RIQ
2001	163	141(26-660)	5950(5091-6911)	33(26-41)
2002	175	145(26-714)	5767(4961-6738)	31(23-40)
2003	271	138(26-802)	6390(5520-7378)	30 (23-38)
2004	320	151(27-917)	6923(5969-7939)	32(23-41)
2005	397	138(26-987)	7140(6158-8180)	31(25-40)
2006	463	147(26-1221)	7189(6211-8290)	30(25-40)
2007	503	148(26-1267)	7105(6129-8186)	28(20-35)
2008	530	155(26-1111)	7360(6339-8493)	28(20-37)
2009	522	167(26-1339)	7417(6423-8541)	28(19-34)
2010	519	172(27-1506)	7910(6832-9116)	30(23-36)
2011	526	186(26-1648)	8153(7089-9351)	29(21-35)
2012	476	188(27-1673)	7697(6695-8835)	27(20-34)

^a Vacas: Número de lactancias iniciadas por rodeo y por año.

^bLECHE305: Producción de leche cruda acumulado a los 305 DEL por rodeo y por año (expresados en Kg como la mediana y el rango inter-cuartil (RIQ) (percentiles 25 a 75).

^cPRE100: porcentaje de vacas preñadas a los 100 DEL por rodeo y por año [mediana y el RIQ (percentiles 25 a 75)].

La media del número de lactancias por vaca fue de 2.03 (rango = 1 a 11) y la media de años por rodeo en el estudio fue 6.89 (rango = 1 a 12).

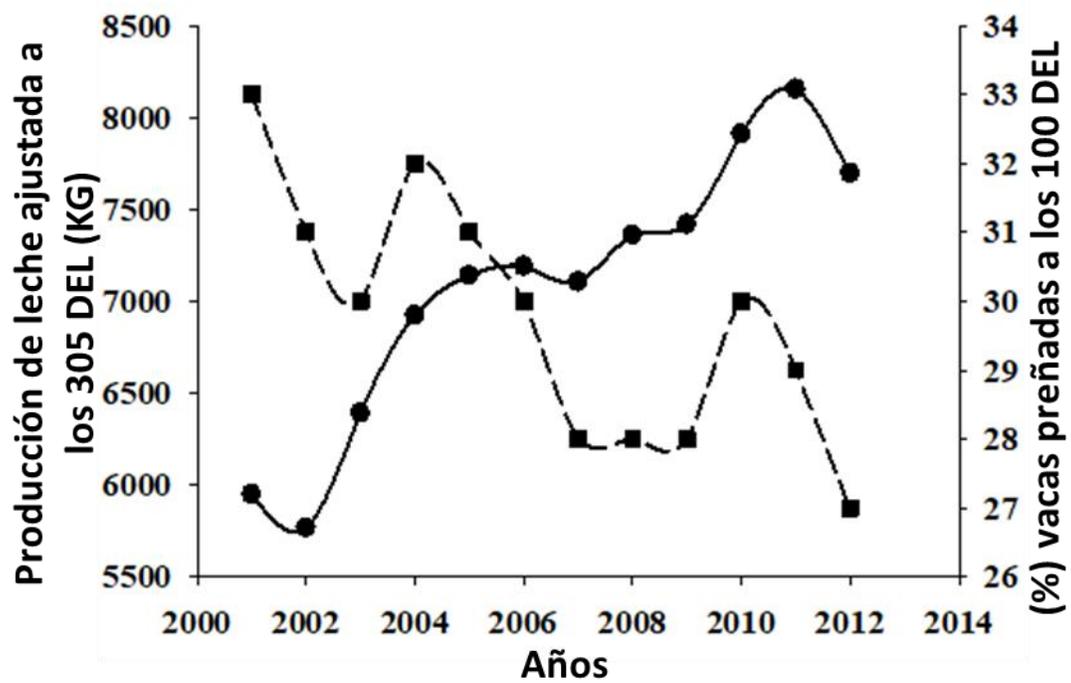


Figura 2.1 Promedio de las medianas de producción de leche corregida a los 305 DEL de los rodeos(●) y de la proporción de vacas preñadas a los 100 DEL (■) durante un período de 12 años (2001 a 2012) en 677 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires, Argentina.

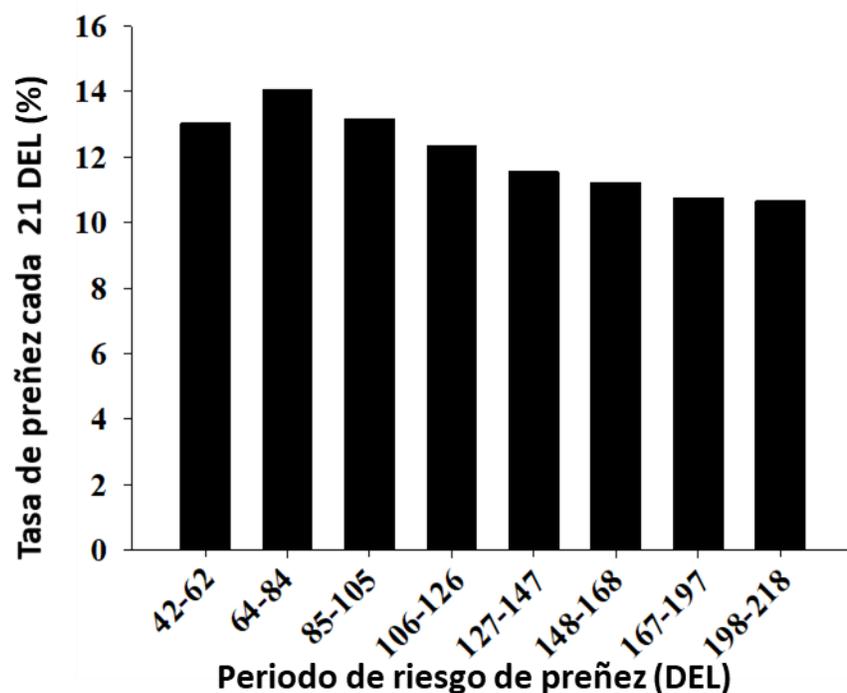
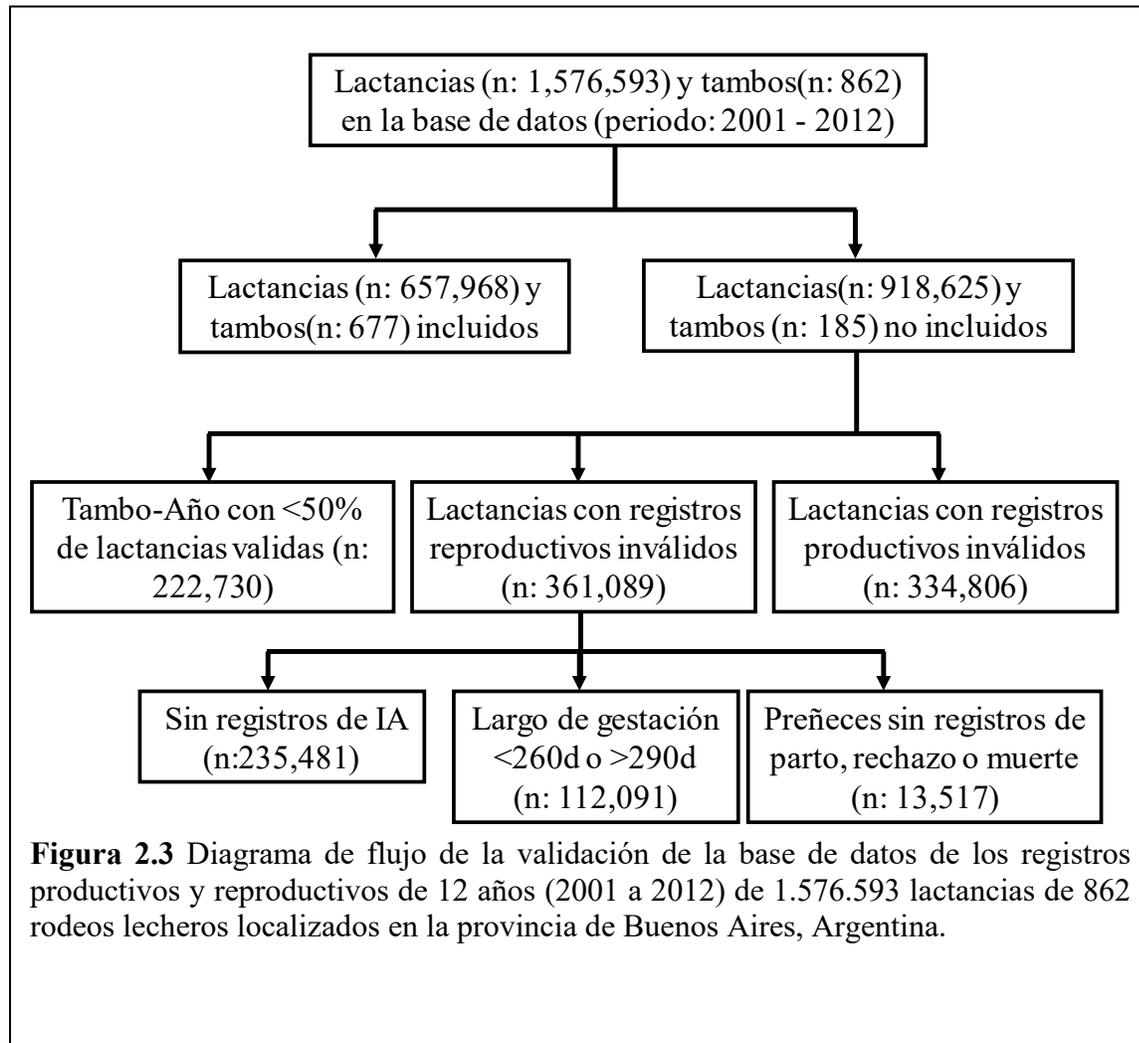


Figura 2.2 Probabilidad de preñez en períodos de 21 días para 657.968 lactancias, provenientes de 677 rodeos lecheros localizados en la provincia de Buenos Aires, Argentina, durante un periodo de 12 años (2001 a 2012).

Validación de la base de datos

A continuación, se describen los criterios de inclusión establecidos. Las lactancias fueron consideradas con registros reproductivos válidos cuando cumplían con los siguientes requisitos: 1- contaban con al menos un registro de IA; 2- en aquellas lactancias que se haya registrado un parto subsiguiente, debieron contar con un registro de IA entre los 260 y 290 días previos al nuevo parto; y 3- las lactancias que tenían un registro de diagnóstico positivo de preñez, pero que no registraban un parto subsiguiente, debían tener un registro de evento de rechazo, de venta o de muerte posterior al diagnóstico de preñez. Los registros de producción de leche se consideraron válidos si tenían al menos dos controles lecheros en los primeros 80 DEL (con mediciones del porcentaje de grasa butirosa y de proteína; ISO 9622:99) y con al menos 40 días de diferencia entre ellos. También se

validó la base de datos a nivel de los rodeos. Se incluyeron todas las lactancias provenientes de los rodeos que contaban con registros válidos de al menos el 50% de las lactancias pertenecientes al mismo rodeo, e iniciadas en el mismo año. De esta manera, se pudieron incluir en el estudio 657.968 lactancias provenientes de 677 rodeos, de un total de 1.576.593 lactancias pertenecientes a 862 rodeos que conformaban la base de datos. En la Figura 2.3 se muestra el diagrama del flujo de las lactancias rechazadas y los motivos de rechazo.



Definición de indicadores

Para construir los indicadores de fertilidad es fundamental determinar con exactitud la fecha de la IA exitosa. Por lo tanto, en el caso de las lactancias que contaban con el registro del parto siguiente, se utilizó la fecha de la última IA previa al nuevo parto como la fecha de concepción; mientras que en el caso de las lactancias que tenían un registro de diagnóstico positivo de preñez, que carecían del registro del parto subsiguiente, y que tenían un registro de rechazo, de venta o de muerte posterior a ese diagnóstico positivo de preñez, se utilizó la fecha de la última IA previa al diagnóstico de preñez como fecha de concepción. Los indicadores de desempeño reproductivo se construyeron basándose en el período de tiempo en el que la vaca estuvo en riesgo de quedar preñada dentro de cada lactancia y empleando el estado gestacional a los 100 DEL (**PRE100**: si / no). En las vacas que quedaron preñadas, el período de riesgo de preñez se definió como el intervalo de tiempo (en días) entre el parto y la fecha de concepción, mientras que para las vacas que no volvieron a quedar preñadas se definió como el intervalo de días entre el parto y la última IA recibida. La tasa de preñez cada 21 DEL (**PRE21**) se estimó dividiendo el número de vacas preñadas en cada período de 21 días, posteriores al período de espera voluntario, por el número de vacas en riesgo de quedar preñadas en ese mismo tiempo (Figura 2.2). El período de espera voluntaria se estableció para cada rodeo como el número de DEL en el que el 10% de las vacas en el rodeo/año habían recibido su primera IA (Miller y col., 2007).

Como indicadores de producción de leche a nivel de la vaca se estimaron la producción de leche acumulada a los 80 DEL [**LECHE_VACA_80** (en Kg)] mediante el método de los intervalos (Sargent, 1968) para todas las lactancias incluidas en el estudio. Como indicador de producción de leche a nivel del rodeo se utilizó la media de **LECHE_VACA_80** de cada rodeo/año, de todas las lactancias iniciadas en el mismo año calendario y expresado en forma categórica mediante el uso

de los cuartiles [LECHE_RODEO_80; (Alto, Medio alto, Medio bajo y bajo)]. Finalmente, cada dato individual de LECHE_VACA_80 fue centrado en la LECHE_RODEO_80, y expresado como la desviación estándar respecto de la media de su rodeo/año. Por último, el total de la energía neta secretada a los 80 DEL (ENERGÍA_VACA_80) se estimó con la siguiente fórmula: $[(0,038 \times \text{g de grasa cruda} + 0.024 \times \text{g de proteína cruda} + 0.017) \times \text{kg de leche}] \div 3,14$ (RAP, 1999). Además, se estimó la media de ENERGIA_VACA_80 para cada rodeo/año usando los valores de todas las lactancias iniciadas en el mismo año calendario y expresadas en cuartiles [ENERGIA_RODEO_80; (Alto, Media alto, Media bajo y bajo)]. Finalmente, la ENERGIA_VACA_80 también se centró en la ENERGIA_RODEO_80 y se expresó en desvíos estándares respecto de la media de su rodeo/año.

Análisis estadístico

Se ajustaron dos modelos de regresión logística múltiple con el software estadístico MLwin (Rasbash y col., 2009) para estimar las probabilidades de PRE100. En el Modelo 2.1,

MODELO 2.1

$$\text{logit}(\widehat{PRE100}_{VR}) = \gamma_0 + \gamma_1 \text{VACA_LECHE_80}_{VR} + \gamma_2 \text{RODEO_LECHE_80}_R + \gamma_3 \text{VACA_LECHE_80}_{VR} * \text{RODEO_LECHE_80}_R + \gamma_4 \text{AÑO}_{VR} + \gamma_5 \text{ESTACIÓN}_{VR} + \gamma_6 \text{CATEGORÍA}_{VR} + U_{0R} + E_{VR}$$

las variables VACA_LECHE_80, RODEO_LECHE_80 y su interacción fueron forzados a permanecer en el modelo final para poder evaluar los efectos a nivel de las vacas, del rodeo y de la interacción entre niveles (Snijders and Bosker, 2012). Además, el año del inicio de la lactancia

(2001 a 2012), la estación de inicio de la lactancia [verano (del 21 de diciembre al 20 de marzo), otoño (del 21 de marzo al 20 de junio), invierno (del 21 de junio al 20 de septiembre) y primavera (del 21 de septiembre al 20 de diciembre)] y la categoría de parición (1^{ra}, 2^{da}, 3^{ra} y $\geq 4^{\text{ta}}$) fueron ofrecidas como covariables a ambos modelos. La modelización se realizó con el método de selección de variables “hacia atrás” excluyendo aquellas variables cuyo intervalo de confianza del

MODELO 2.2

$$\begin{aligned} \text{logit}(\widehat{PRE100}_{VR}) = & \gamma_0 + \gamma_1 \text{VACA_ENERGÍA_80}_{VR} + \gamma_2 \text{RODEO_ENERGIA_80}_R + \\ & \gamma_3 \text{VACA_ENERGÍA_80}_{VR} * \text{RODEO_ENERGIA_80}_R + \gamma_4 \text{AÑO}_{VR} + \gamma_5 \text{ESTACIÓN}_{VR} + \\ & \gamma_6 \text{CATEGORÍA}_{VR} + U_{0R} + E_{VR} \end{aligned}$$

95% del odds ratio incluía el 1.00. Cabe destacar que el efecto aleatorio del rodeo se incorporó al modelo a nivel del intercepto (U_{0R}) para tener en cuenta la correlación entre las lactancias del mismo rodeo, considerando una varianza a nivel de la lactancia de $\pi^2 / 3$, donde $\pi = 3,1416$, basándonos en una interpretación de la variable PRE100 como el resultado de un proceso subyacente latente, con una distribución logística continua (Snijders and Bosker, 2012). En el modelo 2.2,

se incluyó a las variables VACA_ENERGÍA_80 y RODEO_ENERGIA_80 y su interacción entre niveles, siendo el resto de los predictores similares a los del modelo 1. La exploración inicial del modelo se realizó con el método de estimación de los parámetros llamado quasi-likelihood penalizada y el modelo final se construyó por medio de cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), con diseño de muestreo de Gibbs, definiendo distribuciones planas por defecto para los efectos fijos asintóticos ($p(\beta) \propto 1$) y distribuciones Gamma para los efecto aleatorios [\sim distribución Gamma ($\alpha = 0,001, \beta = 0,001$)] (Rasbash y col., 2009). Ambos modelos MCMC tuvieron un

período de definición de parámetros iniciales de 5000 iteraciones y otro período de estimación de los parámetros de 50.000 iteraciones, que fue suficiente para la estimación correcta de los parámetros, según los diagnósticos de Raferty-Lewis y de Brooks-Draper. Los parámetros estimados se consideraron estadísticamente significativos cuando el intervalo de credibilidad del 95% no incluyó al 1.00. El ajuste del modelo se evaluó gráficamente, a nivel del rodeo, mediante el examen de los residuales bayesianos (gráfico Caterpillar de los residuos estandarizados). A nivel de la vaca, mediante la comparación gráfica de la estimación del número de vacas preñadas en cada decil de los valores ajustados (asumiendo la proporción ajustada entre todas las lactancias que se ubicaban en cada decil), con el número de vacas preñadas observadas en ese mismo decil (Green y col., 2004).

Se ajustó un modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox (Modelo 2.3; PROC PHREG, SAS 9.4) para evaluar la asociación entre la producción individual de leche diaria y el riesgo instantáneo de preñez hasta los 200 DEL estratificado en función del nivel de producción del rodeo.

Modelo 2.3

$$\log PRE_{VR}(42 - 200 DEL) = \alpha_z(42 - 200 DEL)RODEO_LECHE_80_R + \gamma_1 LECHE_V(42 - 200 DEL) + \gamma_2 RODEO_LECHE_80_R * LECHE_V(42 - 200 DEL) + \gamma_3 DEL * LECHE_V(42 - 200 DEL) + \gamma_4 AÑO_V + \gamma_5 ESTACIÓN_V + \gamma_6 CATEGORÍA_V$$

Por razones operacionales (demasiado demandante computacionalmente) este modelo fue ajustado en un subconjunto de la base datos, obtenido por medio de un muestreo por conglomerados y proporcionalmente estratificados por años, con los rodeos como unidad de aglomeración.

Entonces, para cada año (estratos) el subconjunto incluyó todas las lactancias, de los rodeos/años(conglomerados) seleccionados aleatoriamente. El número de rodeos seleccionados en cada año ($n=77$), se definió para asegurarse una precisión de 1 kg en la estimación de la media de producción de los rodeos al primer control lechero, asumiendo un desvío estándar de dicha media de 4 kg y definiendo un IC de 95% (WinEpi, 2006). Los rodeos se seleccionaron aleatoriamente con planillas de números aleatorios (Excel, Microsoft), lo que resultó en un subconjunto de datos con 94.593 lactancias, pertenecientes a 402 rodeos durante un período de estudio de 12 años. Los criterios de censura para el modelo de riesgos instantáneos incluyeron las vacas que tuvieron un período de riesgo de preñez <42 DEL (censura a la izquierda); las vacas no preñadas, las que fueron rechazadas, murieron o tuvieron un período de riesgo de preñez <200 DEL (censura a la derecha al momento del evento respectivo); y las vacas que tuvieron un período de riesgo de preñez >200 DEL (censura a la derecha a los 200 DEL). En este análisis, la producción de leche de cada control lechero mensual (LECHE en kg) se incluyó como variable tiempo-dependiente, usando el método de conteo y asumiendo una producción de leche constante entre dos controles lecheros sucesivos (Allison, 1995). Además, se incluyó el efecto de los DEL y su interacción con LECHE para evaluar la asunción de proporcionalidad de los riesgos instantáneos, permitiendo que los coeficientes de LECHE varíen en función de los DEL. La estratificación se basó en la categoría estimada a partir de la media de producción de leche del rodeo (RODEO_LECHE_80), lo que permite estimar una función de riesgo instantáneo diferente para cada nivel de RODEO_LECHE_80. Por último, se incluyó la interacción entre LECHE y RODEO_LECHE_80 para evaluar si el efecto de la LECHE sobre el riesgo instantáneo de preñez varía con los diferentes niveles de RODEO_LECHE_80 (Borucka, 2013). Se estimó el parámetro del riesgo diario de preñez para un incremento de un DE de la media de LECHE (8 kg; estimada en el conjunto de datos de LECHE) a los 63, 84, 105, 126,

147, 168 y 189 DEL. Además, se ofrecieron otros predictores al modelo como el año de inicio de la lactancia (2001 a 2012), la estación de inicio de lactancia (verano, otoño, invierno y primavera) y la parición (1^{ra}, 2^{da}, 3^{ra} y $\geq 4^{\text{ta}}$). Estas covariables permanecieron en el modelo si tenían una asociación significativa con el riesgo instantáneo de preñez. Se empleó la aproximación de Efron para manejar los datos enlazados. La significación estadística de cada variable independiente se evaluó con el Wald test mediante una estimación de sándwich robusta (Lin y Wei,1989) para considerar el efecto de aglomeramiento del rodeo. Además, se ajustó el modelo con la inclusión de la interacción del año de inicio de lactancia y de la LECHE para evaluar la repetibilidad de los parámetros estimados en el tiempo. Finalmente, se realizó un análisis de sensibilidad para evaluar la asunción de independencia de las censuras, suponiendo la existencia de dos situaciones extremas: 1- una correlación completamente positiva entre censura a la derecha y preñez, situación en la que todas las vacas censuradas a la derecha se consideraron preñadas al momento de la censura; y 2- una correlación completamente negativa entre censura a la derecha y preñez, situación en la que todas las vacas censuradas a las derechas (antes de los 200 DEL) se consideraron como censura a la derecha a los 200 DEL.

RESULTADOS

En la Tabla 2.2 se muestran los parámetros estimados para la asociación entre VACA_LECHE_80, RODEO_LECHE_80 y su interacción con la chance de PRE100. Se observó que la chance de PRE100 decrece un 5.8% cuando VACA_LECHE_80 aumenta un DE sobre la media de su respectivo rodeo/año (OR=0,942, Tabla 2.2) en las vacas pertenecientes al nivel Alto de RODEO_LECHE_80. La interacción VACA_LECHE_80 y RODEO_LECHE_80 también se asoció con la chance de PRE100, debido a que el incremento de un DE en VACA_LECHE_80 se acompañó de una reducción en la chance de PRE100 de 4,2 y de 1,3% en vacas pertenecientes a

los niveles Medio Alto y Medio Bajo de RODEO_LECHE_80 (OR=0,958 y 0,987, respectivamente, Tabla 2.2). Contrariamente, el mismo incremento de un DE de VACA_LECHE_80 en vacas pertenecientes al nivel Bajo de RODEO_LECHE_80 se asoció con un aumento de la chance de PRE100 de un 2.9% (OR=1,029, Tabla 2.2). Además, el predictor RODEO_LECHE_80 también se asoció con la chance de PRE100, dado que vacas de producción promedio pertenecientes a los niveles Medio Alto, Medio Bajo y Bajo de RODEO_LECHE_80, respectivamente, tuvieron un 4,5%, 10,0% y 17,7% menos de chance de PRE100 que la vaca de producción promedio del nivel Alto de RODEO_LECHE_80 (OR = 0,955, 0,900 y 0,823, respectivamente, Tabla 2.2). En la tabla 2.1 se muestran los parámetros estimados para el año de inicio de lactancia, estación de inicio de lactancia y categoría de parición. En términos generales, la chance de PRE100 fue menor a medida que aumentó el número de partos y en los partos de primavera. Finalmente, el efecto aleatorio del rodeo explicó el 4% de la variación en PRE100. La comparación entre las preñeces esperadas y las observadas, en cada uno de los deciles de los valores ajustados, muestra que el modelo logístico multinivel subestimó la PRE100 entre un 0,6 y un 2,1 % en todos los deciles, a excepción del decil mayor donde la PRE100 se sobreestimó un 1,6%.

Tabla 2.2 Modelo de regresión logística que evalúa el efecto de la producción de leche a los 80 DEL a nivel de la vaca (LV80) y a nivel del rodeo (LR80) en las chances de preñez a los 100 DEL para las 657.968 lactancias, de los 677 rodeos lecheros localizados en la provincia de Buenos Aires, Argentina, durante un período de 12 años (2001 – 2012).

Variable	PRE100 ^a Media (% de vacas)	VL80 ^b Kg Media (DE)	Odds Ratio ^s	Intervalo de credibilidad del 95%
VL80 por RL80				
VL80 al RL80 alto ^c			0.942	0.938-0.945
VL80 al RL80 medio alto ^{d*}			0.958	0.948-0.967
VL80 al RL80 medio bajo ^{d*}			0.987	0.977-0.996
VL80 al RL80 bajo ^{d*}			1.029	1.017-1.040

RL80^e					
	Alto	31.4	2490 (251)	1	(Referencia)
	Medio Alto	30.1	2160 (173)	0.955	0.946-0.964
	Medio Bajo	29.9	1960 (154)	0.900	0.890-0.910
	Bajo	27.9	1696 (183)	0.823	0.811-0.834
Numero de parto					
	1	33		1	(Referencia)
	2	31		0.996	0.989-1.003
	3	31		0.979	0.971-0.987
	≥4	26		0.752	0.746-0.758
Estación de parto					
	Otoño	35		1	(Referencia)
	Invierno	31		0.851	0.845-0.857
	Primavera	24		0.640	0.596-0.686
	Verano	35		0.832	0.825-0.839
Año de parto					
	2001	33		1	(Referencia)
	2002	31		0.864	0.839-0.890
	2003	30		0.931	0.906-0.958
	2004	32		0.859	0.836-0.882
	2005	31		0.910	0.887-0.934
	2006	30		0.809	0.788-0.830
	2007	28		0.727	0.708-0.747
	2008	28		0.728	0.557-0.951
	2009	28		0.687	0.669-0.706
	2010	30		0.749	0.729-0.770
	2011	29		0.696	0.678-0.715
	2012	27		0.621	0.605-0.638
	Efecto Aleatorio de Rodeo			1.217	1.203-1.230

^a PRE100: proporción de vacas preñadas a los 100 DEL (%);

^b ES80: Media de producción de leche por vaca a los 80 DEL (LECHE_VACA_80) para cada cuartil de la energía secretada por el rodeo (RE80);

^c VL80 al cuartil de RL80 Alto: Producción de leche de la vaca a los 80 DEL en el cuartil de RL80 de alta producción (Referencia) [unidad = 1 Desviación Estándar];

^d VL80 a los cuartiles de RL80 medio alto, medio bajo y bajo: Producción de leche de la vaca a los 80 DEL en los diferentes cuartiles de RL80 [unidad = 1 Desviación Estándar];

^e RL80: categoría(cuartiles) de la media de producción del rodeo a los 80 DEL;

^s Error estándar de Monte Carlo del parámetro de OR fue < 0.01.

En la Tabla 2.3 se muestran los parámetros estimados para la asociación entre VACA_ENERGÍA_80, RODEO_ENERGÍA_80 y su interacción con la chance de PRE100. Se observó que la chance de PRE100 decreció un 5.8% cuando VACA_ENERGÍA_80 aumentó un DE sobre la media de su respectivo rodeo/año (OR=0,942, Tabla 2.3) en las vacas pertenecientes al nivel Alto de RODEO_ENERGIA_80. La interacción VACA_ENERGÍA_80 y

RODEO_ENERGÍA_80 se asoció con la chance de PRE100, debido a que el incremento de un DE en VACA_ENERGÍA_80 se acompañó de una reducción de la chance de PRE100 de 4,2 y 1,3% en las vacas pertenecientes a los niveles Medio Alto y Medio Bajo de RODEO_ENERGÍA_80 (OR=0,958 y 0,987, respectivamente, Tabla 2.3). Contrariamente, ese mismo incremento de VACA_ENERGÍA_80 en las vacas pertenecientes al nivel Bajo de RODEO_ENERGÍA_80 se asoció con un aumento de 2,9% en la chance de PRE100 (OR=,029, Tabla 2.3). El predictor RODEO_ENERGIA_80 también se asoció con la chance de PRE100, debido a que las vacas de producción promedio pertenecientes a los niveles Medio Alto, Medio Bajo y Bajo de RODEO_ENERGÍA_80 tuvieron, respectivamente, una chance de PRE100 6,0%, 8,2% y 9,9% menor que la de las vacas de producción promedio del nivel Alto de RODEO_ENERGÍA_80 (OR = 0,940, 0,918 y 0,901, respectivamente, Tabla 2.3).

Tabla 2.3 Modelo de regresión logística que evalúa el efecto de la energía secretada en leche a los 80 DEL a nivel de la vaca (EV80) y a nivel del rodeo (ER80) en las chances de preñez a los 100 DEL para las 657.968 lactancias, de los 677 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires, Argentina, durante un período de 12 años (2001 – 2012).

	PRE100 ^a (%)	ES80 ^b (Media)	Odds Ratios	Intervalo de credibilidad del 95%
EV80 por ER80				
EV 80 al ER alto ^c			0.942 ^{\$}	0.938-0.945
EV 80 al ER media alto ^d			0.958 ^{\$}	0.946-0.970
EV 80 al ER media bajo ^d			0.987 ^{\$}	0.975-0.999
EV80 Bajo ^d			1.029 ^{\$}	1.017-1.041
ER80^e				
Alto ^e	32.2	1737	1	
Medio Alto ^e	31.3	1525	0.940 ^{\$}	0.937-0.955
Medio Bajo ^e	31.4	1384	0.918 ^{\$}	0.911-0.932
Bajo ^e	29.1	1220	0.901 ^{\$}	0.895-0.908

^a PRE100: proporción de vacas preñadas a los 100 DEL (%);

^b EV80: Media de energía secretada en la leche por vaca a los 80 DEL (ENERGIA_VACA_80) para cada cuartil de la energía secretada por el rodeo (RE80);

^c EV80 al cuartil de RE80 alto: Efecto de 1 DE de incremento en ES80 sobre la media del rodeo-año en las chances de preñez en el cuartil de RE80 Alto (Referencia);

^d EV80 a los cuartiles de RE80 medio alto, medio bajo y bajo: Efecto de 1 DE de incremento en EV80 sobre la media del rodeo-año en las chances de preñez en los cuartiles de ER80 medio alto, medio bajo y bajo

^eER80: Efectos de los cuartiles de la energía secretada por los rodeos a los 80 DE (de una vaca promedio) en las chances de preñez (cuartil de referencia = cuartil alto);

[§]Error estándar de Monte Carlo del parámetro de OR fue < 0.01.

El modelo fue ajustado por año de parición, estación de parto y categoría de parición.

En la tabla 2.4 se muestran los parámetros estimados para la asociación entre LECHE y el riesgo instantáneo de preñez para los diferentes estratos de RODEO_LECHE_80. La asociación de LECHE con el riesgo diario de preñez mostró una pendiente negativa a medida que aumentaban los DEL (tabla 2.4), lo que significa que el incremento de 1 DE en LECHE (8 kg/d) en vacas pertenecientes al nivel Alto de RODEO_LECHE_80 tuvo un efecto pequeño y no significativo a los 63 DEL [RI= 0,987 (IC95%= 0,968 - 1,007)] y, que aumentó y se hizo estadísticamente significativo entre los 84 y 189 DEL [RI = 0,964 (IC95%= 0,944 - 0,984) a los 84 DEL y RI = 0,854 (IC95%= 0,821 – 0,890) a los 189 DEL]. Por el contrario, en vacas pertenecientes al nivel Bajo de RODEO_LECHE_80, el incremento de 1 DE en LECHE fue positivo y estadísticamente significativo entre los 63 y 147 DEL [RI = 1,148 (IC95%= 1,105 – 1,193) a los 63 DEL y RI = 1,043 (IC95%= 1,002 – 1,086) a los 147 DEL], y decreció y dejó de ser estadísticamente significativo a los 168 DEL [RI = 1,018 (IC95%= 0,974 - 1,064)] (Tabla 2.4).

Tabla 2.4 Modelo de riesgos proporcionales de Cox que evalúa el efecto de la producción de leche diaria de las vacas (LECHE), estratificado por los cuartiles de producción de leche del rodeo (LECHE_RODEO_80) en el riesgo instantáneo de preñez en momentos puntuales de la lactancia de 94.593 lactancias pertenecientes a 402 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires, Argentina.

	Efecto de LECHE¹ en el riesgo instantáneo de preñez (RI [IC 95%])^b						
	63DEL ^a	84DEL	105DEL	126DEL	147DEL	168DEL	189DEL
LECHE_RODEO_80²:							
Alto	0.987 (0.967-1.008)	0.964 (0.944-0.985)	0.941 (0.918-0.964)	0.918 (0.891-0.946)	0.896 (0.865-0.929)	0.875 (0.840-0.913)	0.854 (0.820-0.891)
Medio Alto	1.021 (0.991-1.052)	0.997 (0.969-1.027)	0.973 (0.945-1.002)	0.950 (0.918-0.983)	0.928 (0.893-0.964)	0.906 (0.868-0.946)	0.883 (0.848-0.919)
Medio Bajo	1.085 (1.051-1.122)	1.060 (1.025-1.094)	1.034 (1.000-1.071)	1.010 (0.974-1.048)	0.986 (0.946-1.027)	0.962 (0.919-1.008)	0.938 (0.900-0.979)
Bajo	1.148 (1.104-1.193)	1.121 (1.080-1.163)	1.094 (1.055-1.136)	1.068 (1.029-1.108)	1.043 (1.002-1.087)	1.018 (0.973-1.065)	1.000 (0.952-1.044)

¹LECHE: Riesgo instantáneo están expresados por incrementos de 1 DE (8 kg) sobre la media del conjunto de leche diaria.

²LECHE_RODEO_80: Producción de leche del rodeo a los 80 DIM estratificada por cuartiles.

^aDEL: Días en leche al momento en que se estimaron los riesgos instantáneos de preñez;

^bRI (95%IC): Riesgo instantáneo e intervalo de confianza del 95%;

El modelo fue ajustado por año de parto, estación de parto y categorías de parición (datos no mostrados).

El año de inicio de la lactancia se asoció significativamente con el riesgo instantáneo de preñez (Tabla 2.8), puesto que, si se toma el año 2012 como referencia, en 5 años hubo un efecto positivo (de 7 a 11% de incremento en el riesgo diario de preñez), en 5 años no hubo diferencias estadísticamente significativas y solo en un año se observó un efecto significativamente negativo en el riesgo diario de preñez (-7.1%). También, es importante remarcar que la asociación entre la LECHE y el riesgo diario de preñez fue similar entre los años 2001 y 2012 (Tabla 2.5).

Finalmente, en las tablas 2.6 y 2.7 se muestran los resultados de los análisis de sensibilidad. Se observó que el incremento de 1 DE en LECHE tuvo un mayor efecto negativo en el riesgo instantáneo de preñez bajo una completa correlación positiva, mientras que tuvo un menor efecto negativo bajo una correlación completamente negativa.

Tabla 2.5 Modelo de riesgos proporcionales de Cox que evalúa el efecto de la producción de leche diaria de las vacas (LECHE), estratificado por los cuartiles de producción de leche del rodeo (LECHE_RODEO_80) por año en el riesgo instantáneo de preñez en momentos puntuales de la lactancia de 94.593 lactancias pertenecientes a 402 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires, Argentina.

AÑO	LECHE_RODEO_80 ²	Efecto de LECHE ¹ en el riesgo instantáneo de preñez (RI [IC 95%]) ^b						
		63DEL ^a	84DEL	105DEL	126DEL	147DEL	168DEL	189DEL
2001	Alto	0.976 (0.922 - 1.034)	0.946 (0.894 - 1.001)	0.917 (0.867 - 0.97)	0.889 (0.84 - 0.941)	0.862 (0.813 - 0.913)	0.835 (0.786 - 0.887)	0.81 (0.76 - 0.862)
	Medio Alto	1.011 (0.951 - 1.074)	0.980 (0.924 - 1.039)	0.949 (0.896 - 1.006)	0.92 (0.868 - 0.975)	0.892 (0.841 - 0.946)	0.865 (0.814 - 0.919)	0.838 (0.787 - 0.893)
	Medio Bajo	1.079 (1.014 - 1.149)	1.046 (0.984 - 1.112)	1.014 (0.955 - 1.077)	0.983 (0.925 - 1.044)	0.952 (0.896 - 1.013)	0.923 (0.867 - 0.983)	0.895 (0.838 - 0.956)
	Bajo	1.151 (1.081 - 1.225)	1.116 (1.050 - 1.185)	1.081 (1.019 - 1.147)	1.048 (0.989 - 1.111)	1.016 (0.958 - 1.077)	0.985 (0.927 - 1.046)	0.954 (0.897 - 1.016)
2002	Alto	1.037 (0.99 - 1.087)	1.005 (0.96 - 1.053)	0.975 (0.93 - 1.021)	0.945 (0.9 - 0.991)	0.916 (0.871 - 0.963)	0.887 (0.841 - 0.936)	0.86 (0.812 - 0.911)
	Medio Alto	1.074 (1.021 - 1.129)	1.041 (0.991 - 1.093)	1.009 (0.961 - 1.059)	0.978 (0.931 - 1.027)	0.948 (0.9 - 0.997)	0.919 (0.87 - 0.969)	0.89 (0.841 - 0.943)
	Medio Bajo	1.147 (1.09 - 1.206)	1.111 (1.058 - 1.168)	1.077 (1.025 - 1.132)	1.044 (0.993 - 1.098)	1.012 (0.961 - 1.066)	0.981 (0.929 - 1.036)	0.951 (0.897 - 1.008)
	Bajo	1.223 (1.161 - 1.288)	1.185 (1.128 - 1.246)	1.149 (1.094 - 1.206)	1.114 (1.061 - 1.169)	1.079 (1.027 - 1.135)	1.046 (0.993 - 1.102)	1.014 (0.96 - 1.071)
2003	Alto	1.019 (0.973 - 1.066)	0.987 (0.944 - 1.033)	0.957 (0.915 - 1.001)	0.928 (0.885 - 0.972)	0.899 (0.856 - 0.945)	0.871 (0.827 - 0.919)	0.845 (0.798 - 0.894)
	Medio Alto	1.054 (1.004 - 1.108)	1.022 (0.974 - 1.072)	0.991 (0.944 - 1.039)	0.96 (0.915 - 1.008)	0.931 (0.885 - 0.979)	0.902 (0.855 - 0.952)	0.874 (0.826 - 0.926)
	Medio Bajo	1.126 (1.07 - 1.184)	1.091 (1.039 - 1.147)	1.058 (1.007 - 1.111)	1.025 (0.975 - 1.078)	0.994 (0.943 - 1.047)	0.963 (0.911 - 1.018)	0.934 (0.88 - 0.99)
	Bajo	1.201 (1.139 - 1.267)	1.164 (1.106 - 1.225)	1.128 (1.073 - 1.187)	1.094 (1.039 - 1.151)	1.06 (1.006 - 1.117)	1.027 (0.973 - 1.085)	0.996 (0.94 - 1.054)
2004	Alto	0.976	0.946	0.917	0.888	0.861	0.835	0.809

		(0.937 - 1.016)	(0.91 - 0.983)	(0.882 - 0.952)	(0.855 - 0.924)	(0.827 - 0.897)	(0.799 - 0.872)	(0.771 - 0.849)
	Medio Alto	1.01	0.979	0.949	0.92	0.891	0.864	0.837
		(0.964 - 1.058)	(0.936 - 1.023)	(0.909 - 0.991)	(0.881 - 0.96)	(0.853 - 0.932)	(0.825 - 0.905)	(0.797 - 0.88)
	Medio Bajo	1.078	1.045	1.013	0.982	0.952	0.923	0.894
		(1.027 - 1.133)	(0.997 - 1.096)	(0.968 - 1.061)	(0.938 - 1.029)	(0.908 - 0.998)	(0.878 - 0.97)	(0.848 - 0.943)
	Bajo	1.15	1.115	1.081	1.047	1.015	0.984	0.954
		(1.089 - 1.215)	(1.059 - 1.174)	(1.028 - 1.136)	(0.997 - 1.1)	(0.966 - 1.067)	(0.935 - 1.036)	(0.904 - 1.006)
	Alto	1.064	1.031	0.999	0.969	0.939	0.91	0.882
		(1.017 - 1.112)	(0.987 - 1.077)	(0.956 - 1.045)	(0.925 - 1.014)	(0.894 - 0.986)	(0.863 - 0.959)	(0.833 - 0.934)
2005	Medio Alto	1.101	1.067	1.034	1.003	0.972	0.942	0.913
		(1.049 - 1.156)	(1.018 - 1.119)	(0.986 - 1.085)	(0.955 - 1.052)	(0.924 - 1.022)	(0.893 - 0.994)	(0.862 - 0.967)
	Medio Bajo	1.176	1.14	1.105	1.071	1.038	1.006	0.975
		(1.118 - 1.237)	(1.084 - 1.197)	(1.051 - 1.161)	(1.017 - 1.126)	(0.984 - 1.094)	(0.951 - 1.064)	(0.918 - 1.035)
Bajo	1.254	1.215	1.178	1.142	1.107	1.073	1.04	
		(1.188 - 1.323)	(1.154 - 1.28)	(1.119 - 1.24)	(1.084 - 1.202)	(1.049 - 1.167)	(1.015 - 1.134)	(0.981 - 1.102)
	Alto	1.012	0.981	0.95	0.921	0.893	0.865	0.839
		(0.976 - 1.049)	(0.946 - 1.016)	(0.917 - 0.986)	(0.886 - 0.957)	(0.856 - 0.931)	(0.826 - 0.906)	(0.797 - 0.883)
2006	Medio Alto	1.047	1.015	0.984	0.954	0.924	0.896	0.868
		(1.005 - 1.091)	(0.975 - 1.056)	(0.945 - 1.024)	(0.915 - 0.994)	(0.885 - 0.965)	(0.855 - 0.939)	(0.825 - 0.914)
	Medio Bajo	1.118	1.084	1.051	1.018	0.987	0.957	0.927
		(1.07 - 1.169)	(1.038 - 1.132)	(1.006 - 1.097)	(0.974 - 1.065)	(0.941 - 1.035)	(0.909 - 1.006)	(0.878 - 0.979)
Bajo	1.193	1.156	1.12	1.086	1.053	1.02	0.989	
		(1.137 - 1.251)	(1.104 - 1.21)	(1.071 - 1.172)	(1.038 - 1.137)	(1.004 - 1.103)	(0.971 - 1.072)	(0.938 - 1.043)
	Alto	0.976	0.946	0.917	0.889	0.861	0.835	0.809
		(0.94 - 1.012)	(0.912 - 0.981)	(0.883 - 0.951)	(0.854 - 0.924)	(0.825 - 0.899)	(0.797 - 0.875)	(0.768 - 0.852)
2007	Medio Alto	1.01	0.979	0.949	0.92	0.891	0.864	0.838
		(0.969 - 1.053)	(0.94 - 1.02)	(0.911 - 0.988)	(0.882 - 0.959)	(0.853 - 0.932)	(0.824 - 0.906)	(0.795 - 0.882)
	Medio Bajo	1.079	1.045	1.013	0.982	0.952	0.923	0.894
		(1.032 - 1.128)	(1.001 - 1.092)	(0.97 - 1.059)	(0.939 - 1.027)	(0.908 - 0.998)	(0.877 - 0.971)	(0.846 - 0.945)
Bajo	1.15	1.115	1.081	1.048	1.015	0.984	0.954	
		(1.097 - 1.207)	(1.065 - 1.168)	(1.033 - 1.131)	(1.001 - 1.097)	(0.968 - 1.065)	(0.936 - 1.035)	(0.904 - 1.006)
2008	Alto	0.994	0.963	0.933	0.905	0.877	0.85	0.824
		(0.954 - 1.034)	(0.926 - 1.002)	(0.897 - 0.972)	(0.867 - 0.944)	(0.838 - 0.917)	(0.809 - 0.893)	(0.781 - 0.869)
	Medio Alto	1.028	0.997	0.966	0.936	0.908	0.88	0.853

		(0.983 - 1.076)	(0.954 - 1.041)	(0.925 - 1.009)	(0.895 - 0.979)	(0.866 - 0.951)	(0.837 - 0.925)	(0.808 - 0.9)
	Medio Bajo	1.098	1.064	1.032	1	0.969	0.939	0.911
		(1.048 - 1.151)	(1.016 - 1.115)	(0.985 - 1.081)	(0.954 - 1.049)	(0.922 - 1.019)	(0.891 - 0.991)	(0.86 - 0.964)
	Bajo	1.171	1.135	1.1	1.067	1.034	1.002	0.971
		(1.112 - 1.234)	(1.079 - 1.194)	(1.047 - 1.156)	(1.014 - 1.121)	(0.982 - 1.088)	(0.95 - 1.057)	(0.917 - 1.028)
2009	Alto	1.109	1.075	1.042	1.01	0.979	0.949	0.92
		(1.067 - 1.154)	(1.036 - 1.117)	(1.004 - 1.082)	(0.972 - 1.05)	(0.94 - 1.021)	(0.907 - 0.993)	(0.876 - 0.967)
	Medio Alto	1.148	1.113	1.079	1.046	1.014	0.982	0.952
		(1.096 - 1.204)	(1.064 - 1.165)	(1.032 - 1.128)	(1 - 1.094)	(0.967 - 1.062)	(0.935 - 1.032)	(0.903 - 1.004)
	Medio Bajo	1.226	1.189	1.152	1.117	1.082	1.049	1.017
	(1.166 - 1.29)	(1.132 - 1.248)	(1.098 - 1.209)	(1.063 - 1.173)	(1.029 - 1.138)	(0.995 - 1.106)	(0.961 - 1.076)	
	Bajo	1.308	1.268	1.229	1.191	1.154	1.119	1.085
		(1.233 - 1.388)	(1.197 - 1.343)	(1.162 - 1.3)	(1.126 - 1.26)	(1.091 - 1.222)	(1.055 - 1.186)	(1.02 - 1.153)
2010	Alto	1.012	0.981	0.951	0.922	0.894	0.866	0.839
		(0.981 - 1.045)	(0.951 - 1.013)	(0.921 - 0.982)	(0.89 - 0.955)	(0.86 - 0.929)	(0.829 - 0.904)	(0.8 - 0.881)
	Medio Alto	1.048	1.016	0.985	0.954	0.925	0.896	0.869
		(1.007 - 1.09)	(0.978 - 1.055)	(0.947 - 1.023)	(0.917 - 0.993)	(0.886 - 0.965)	(0.856 - 0.939)	(0.826 - 0.914)
	Medio Bajo	1.119	1.085	1.051	1.019	0.988	0.957	0.928
	(1.071 - 1.169)	(1.039 - 1.132)	(1.007 - 1.097)	(0.975 - 1.065)	(0.942 - 1.035)	(0.91 - 1.007)	(0.879 - 0.98)	
	Bajo	1.194	1.157	1.121	1.087	1.053	1.021	0.99
		(1.138 - 1.251)	(1.105 - 1.211)	(1.072 - 1.173)	(1.038 - 1.137)	(1.005 - 1.104)	(0.971 - 1.073)	(0.938 - 1.044)
2011	Alto	1.009	0.978	0.948	0.919	0.891	0.863	0.837
		(0.975 - 1.045)	(0.945 - 1.012)	(0.915 - 0.982)	(0.885 - 0.955)	(0.855 - 0.929)	(0.825 - 0.904)	(0.795 - 0.881)
	Medio Alto	1.045	1.013	0.982	0.951	0.922	0.894	0.866
		(1.004 - 1.088)	(0.974 - 1.053)	(0.944 - 1.021)	(0.913 - 0.991)	(0.883 - 0.963)	(0.852 - 0.937)	(0.823 - 0.912)
	Medio Bajo	1.116	1.081	1.048	1.016	0.985	0.954	0.925
	(1.067 - 1.166)	(1.035 - 1.129)	(1.003 - 1.095)	(0.971 - 1.063)	(0.939 - 1.033)	(0.907 - 1.005)	(0.875 - 0.978)	
	Bajo	1.19	1.153	1.11	1.084	1.05	1.018	0.987
		(1.133 - 1.249)	(1.1 - 1.209)	(1.067 - 1.171)	(1.033 - 1.136)	(1 - 1.103)	(0.967 - 1.072)	(0.934 - 1.043)
2012	Alto	0.955	0.926	0.897	0.87	0.843	0.817	0.792
		(0.916 - 0.995)	(0.889 - 0.964)	(0.861 - 0.935)	(0.833 - 0.908)	(0.805 - 0.883)	(0.777 - 0.859)	(0.749 - 0.837)
	Medio Alto	0.989	0.958	0.929	0.9	0.873	0.846	0.82
	(0.942 - 1.037)	(0.914 - 1.004)	(0.886 - 0.974)	(0.858 - 0.945)	(0.829 - 0.918)	(0.801 - 0.892)	(0.774 - 0.868)	
	Medio Bajo	1.056	1.023	0.992	0.961	0.932	0.903	0.875

	(1.003 - 1.111)	(0.973 - 1.076)	(0.943 - 1.044)	(0.912 - 1.013)	(0.882 - 0.984)	(0.853 - 0.956)	(0.823 - 0.93)
Bajo	1.126	1.091	1.058	1.025	0.994	0.963	0.934
	(1.067 - 1.188)	(1.036 - 1.15)	(1.004 - 1.114)	(0.973 - 1.08)	(0.942 - 1.049)	(0.911 - 1.019)	(0.88 - 0.991)

¹LECHE: Riesgos instantáneos están expresados por incrementos de 1 DE (8 kg) sobre la media del conjunto de leche diaria.

²LECHE_RODEO_80: Producción de leche del rodeo a los 80 DIM estratificada por cuartiles.

^aDEL: Días en leche al momento en que se estimaron los riesgos instantáneos de preñez;

^bRI (95%IC): Riesgo instantáneo e intervalo de confianza del 95%;

El modelo fue ajustado por estación de parto y categorías de parición (datos no mostrados).

Tabla 2.6 Análisis de sensibilidad del modelo de riesgos proporcionales de Cox que evalúa el efecto de la producción de leche diaria de las vacas (LECHE), estratificado por los cuartiles de producción de leche del rodeo (LECHE_RODEO_80) en el riesgo instantáneo de preñez en momentos puntuales de la lactancia bajo la hipótesis de una correlación completamente positiva entre censura y preñez.

LECHE_ RODEO_80 ²	Efecto de LECHE ¹ en el riesgo instantáneo de preñez (RI [IC 95%]) ^b						
	63DEL ^a	63DEL ^a	63DEL ^a	63DEL ^a	63DEL ^a	63DEL ^a	63DEL ^a
Alto	0.955 (0.934 - 0.976)	0.938 (0.918 - 0.958)	0.921 (0.901 - 0.942)	0.905 (0.883 - 0.928)	0.889 (0.863 - 0.916)	0.873 (0.844 - 0.904)	0.857 (0.831 - 0.884)
Medio Alto	0.977 (0.948 - 1.006)	0.959 (0.933 - 0.987)	0.942 (0.916 - 0.970)	0.926 (0.898 - 0.954)	0.909 (0.879 - 0.940)	0.893 (0.860 - 0.927)	0.876 (0.846 - 0.907)
Medio Bajo	1.063 (1.029 - 1.097)	1.044 (1.012 - 1.077)	1.026 (0.994 - 1.058)	1.007 (0.975 - 1.041)	0.990 (0.955 - 1.025)	0.972 (0.935 - 1.011)	0.954 (0.919 - 0.994)
Bajo	1.087 (1.053 - 1.122)	1.068 (1.035 - 1.101)	1.049 (1.016 - 1.082)	1.030 (0.997 - 1.065)	1.012 (0.976 - 1.049)	0.994 (0.955 - 1.035)	0.975 (0.916 - 1.016)

¹LECHE: Riesgos instantáneos están expresados por incrementos de 1 DE (8 kg) sobre la media del conjunto de leche diaria.

²LECHE_RODEO_80: Producción de leche del rodeo a los 80 DIM estratificada por cuartiles.

^aDEL: Días en leche al momento en que se estimaron los riesgos instantáneos de preñez;

^bRI (IC 95%): Riesgo instantáneo e intervalo de confianza del 95%;

El modelo fue ajustado por estación de parto y categorías de parición (datos no mostrados).

Tabla 2.7 Análisis de sensibilidad del modelo de riesgos proporcionales de Cox que evalúa el efecto de la producción de leche diaria de las vacas (LECHE), estratificado por los cuartiles de producción de leche del rodeo (LECHE_RODEO_80) en el riesgo instantáneo de preñez en momentos puntuales de la lactancia bajo la hipótesis de una correlación completamente negativa entre censura y preñez.

LECHE_ RODEO_80 ²	Efecto de LECHE ¹ en el riesgo instantáneo de preñez (RI [IC 95%]) ^b						
	63DIM ^a	84DIM	105DIM	126DIM	147DIM	168DIM	189DIM
Alto	0.978 (0.954 - 1.004)	0.968 (0.947 - 0.991)	0.959 (0.938 - 0.980)	0.949 (0.927 - 0.971)	0.940 (0.915 - 0.965)	0.93 (0.902 - 0.959)	0.921 (0.888 - 0.955)
Medio Alto	1.012 (0.979 - 1.046)	1.002 (0.972 - 1.032)	0.991 (0.963 - 1.021)	0.981 (0.953 - 1.011)	0.972 (0.941 - 1.003)	0.962 (0.929 - 0.996)	0.952 (0.916 - 0.990)
Medio Bajo	1.103 (1.064 - 1.143)	1.092 (1.056 - 1.128)	1.081 (1.047 - 1.116)	1.070 (1.036 - 1.105)	1.059 (1.024 - 1.095)	1.048 (1.011 - 1.088)	1.038 (0.997 - 1.081)
Bajo	1.170 (1.129 - 1.212)	1.158 (1.120 - 1.197)	1.146 (1.110 - 1.183)	1.135 (1.099 - 1.172)	1.123 (1.086 - 1.163)	1.112 (1.071 - 1.154)	1.101 (1.056 - 1.147)

¹LECHE: Riesgos instantáneos están expresados por incrementos de 1 DE (8 kg) sobre la media del conjunto de leche diaria.

²LECHE_RODEO_80: Producción de leche del rodeo a los 80 DIM estratificada por cuartiles.

^aDEL: Días en leche al momento en que se estimaron los riesgos instantáneos de preñez;

^bRI (IC 95%): Riesgo instantáneo e intervalo de confianza del 95%;

El modelo fue ajustado por estación de parto y categorías de parición (datos no mostrados).

Tabla 2.8 Efecto del año de parición (AÑO) en el riesgo instantáneo de preñez, ajustado por LECHE, estación de parto, categoría de parición, de 94.593 lactancias pertenecientes a 402 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires, Argentina.

AÑO	Riesgo instantáneo de preñez	
	RI	CI 95%
2001	1.076	1.010-1.146
2002	1.082	1.025-1.142
2003	1.055	0.999-1.113
2004	1.116	1.061-1.175
2005	1.085	1.029-1.144
2006	1.112	1.060-1.167
2007	1.010	0.961-1.062
2008	1.033	0.981-1.087
2009	1.014	0.964-1.066
2010	0.982	0.934-1.032
2011	0.929	0.882-0.978
2012	1	(referencia)

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos con los modelos logísticos multinivel muestran que la asociación entre la producción de leche y el desempeño reproductivo posee un tamaño de efecto pequeño y que varía en función del nivel productivo del rodeo, puesto que un aumento de producción de leche diaria equivalente a un DE se asocia con una reducción de 1,3% en la chance de preñez (de 31.4% a 30.1%) en las vacas de los rodeos de alta producción (RODEO_LECHE_80= Alto), mientras que, por el contrario, ese mismo incremento de producción se asocia a un aumento de 0,5 puntos en la chance de preñez (de 27.9% a 28.4%) en las vacas de los rodeos de baja producción (RODEO_LECHE_80 = Bajo). Por otra parte, los resultados obtenidos con el modelo de riesgos proporcionales de Cox muestran que el incremento de producción (LECHE) de 1 DE sobre la media a los 84 DEL se asocia a un descenso de 0.5 puntos porcentuales en la chance de PRE21 [de 13% (que es el riesgo individual de preñez para el período de 21 días entre los 84 y los 105 DEL, Figura 1.2) a un 12,5% (HR = 0.964, Tabla 1.4)] en rodeos de alta producción, mientras que, por el contrario, un aumento similar se asoció a un incremento de 0.5 % en la chance de PRE21 [de 13% a 14.5% (HR=1.121, Tabla 2.4)] en rodeos de baja producción. El modelo 2.2 de regresión logística multinivel mostró que el incremento de 1 DE en la energía secretada en leche se asocia con una reducción de 5.8% en la chance de preñez a los 100 DEL en las vacas de rodeos de alta producción, pero, contrariamente, ese mismo incremento de 1 DE se relaciona con un aumento de 2.9% en la chance de preñez en las vacas de rodeos de baja producción. Por lo tanto, estos resultados concuerdan con los obtenidos con el modelo 2.1, por lo que, el posible impacto negativo del BE sobre la fertilidad no estaría explicado por la demanda de energía extra para soportar una mayor producción de leche, sino que estaría más relacionado al consumo de energía de las vacas.

Por lo tanto, los resultados obtenidos soportan la hipótesis planteada que propone que la relación entre producción de leche y desempeño reproductivo no necesariamente es antagónica y que, además, esa asociación está influenciada por el rodeo. Por último, cabe destacar que, si bien esta relación es estadísticamente significativa, su impacto productivo es marginal.

Bello y col. (2013) no encontraron un antagonismo entre la producción de leche diaria a la primera IA posparto y la chance de preñez a nivel de la vaca, pero contrariamente observaron una relación negativa a nivel del rodeo, especialmente en los rodeos de buena fertilidad (ej: donde la probabilidad de concepción a la primera IA era del 50%). Bello y col., 2012 reportaron una asociación negativa a nivel de la vaca, puesto que un aumento de 100 kg de leche a los 305 DEL se asociaba con un aumento de 0.51 días en el intervalo parto - concepción, pero, contrariamente, hallaron una asociación positiva a nivel del rodeo donde un aumento de 100 kg de leche en la media del rodeo a los 305 DEL se asoció con una reducción de 1.37 días en el intervalo parto - concepción. Las discrepancias entre estos dos trabajos de Bello y col. se podrían deber a que utilizaron diferentes indicadores de producción. Por ejemplo, en un estudio usaron producción de leche al primer servicio y en el otro la producción de leche acumulada a los 305 DEL. Por otro lado, Piccardi y col. (2013) informaron que las vacas del tercio intra-rodeo más productivo tenían una tasa de preñez menor que las del tercio menos productivo. Las diferencias entre lo reportado por Piccardi y col. (2013) y nuestros resultados puede deberse a que se analizaron rodeos de diferentes cuencas lecheras de la Argentina, a la duración del estudio (uno vs. doce años), y especialmente, a la forma en que se analizaron los efectos del rodeo. Piccardi y col. (2013) categorizaron la producción individual de leche en tercios dentro del rodeo, pero no evaluaron si esos efectos variaron en función del nivel de productividad del rodeo. Por último, Piccardi y col. (2013) utilizaron la producción de leche acumulada a los 305 DEL pudiendo haber sobreestimado

el impacto negativo de la producción de leche sobre el desempeño reproductivo, dado que a los 305 DEL la mayoría de las vacas ya están preñadas y se sabe que la preñez reduce la producción de leche (Olori y col., 1997).

Para evaluar si los datos incluidos en el estudio estaban sesgados, se estimó la correlación entre la producción de leche del rodeo y el porcentaje de vacas excluidas por razones reproductivas y se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.139 ($P < 0.001$). También se estimó la diferencia de producción de leche acumulada a los 305 DEL entre las vacas incluidas y excluidas del estudio y se obtuvo valores de 7.081 y 6.862kg, respectivamente ($P < 0.001$). No se puede descartar el sesgo de selección a consecuencia de la exclusión por criterios reproductivos, aunque los resultados muestran que la asociación entre producción de leche y la exclusión reproductiva de las vacas y de los rodeos es pequeña. Además, se hubiera sesgado más la información si se les hubiera asignado un valor arbitrario al período de riesgo de preñez de las vacas que carecían de registros de IA.

Los modelos multinivel, que se desarrollaron para explicar la variabilidad de una variable considerando los diferentes niveles de agregación de las observaciones (Snijders and Bosker, 2012), nos permite evaluar la asociación de la producción de leche con la fertilidad a nivel de la vaca y del rodeo, y también, a nivel de la interacción entre niveles. Por otro lado, como en el modelo de riesgo proporcionales de Cox utilizamos la producción de leche como un predictor tiempo dependiente pudimos estimar el riesgo instantáneo de preñez en función del nivel de producción de leche más cercano al período de riesgo que se evaluaba. Esto último nos ayudó a evitar el sesgo causado por el efecto negativo de la preñez en la producción de leche, puesto que para calcular el riesgo instantáneo de preñez sólo se consideraron las vacas que no tenían el evento de interés; es decir, la preñez. Además, como se estratificaron los rodeos por cuartiles de

producción y como se incluyó la interacción entre las producciones de la vaca y la del rodeo, pudimos evaluar si la asociación entre la producción individual de leche y el riesgo instantáneo de preñez variaba dependiendo del nivel productivo del rodeo.

En el análisis descriptivo de los datos se observó que la mediana de PRE100 disminuyó de 31%, entre los años 2001 y 2006, a 27% entre los años 2007 y 2012. Durante ese mismo período de tiempo se observó que la mediana de producción de leche acumulada a los 305 DEL aumentó de 6.656 kg entre los años 2001 y 2006 a 7.557 kg entre los años 2007 y 2012 (Tabla 2.1 y Figura 2.1). Como estas dos situaciones ocurrieron simultáneamente se podría sospechar de un posible antagonismo, pero como la asociación de la producción de leche y el riesgo instantáneo de preñez se mantuvo constante durante todo el estudio (Tabla 2.5), podríamos proponer que otras variables fuesen las que impactan negativamente sobre la fertilidad. Además, el hecho de que vacas promedio de tambos de alta producción tuvieran mejor fertilidad que vacas promedio de tambos de baja producción podría indicar que cuando se satisfacen los requerimientos de las vacas, éstas son capaces de alcanzar altos niveles productivos y de mantener buena fertilidad.

En el modelo de riesgos proporcionales de Cox, se incluyó la interacción LECHE por DEL debido a que se violó la asunción de que el riesgo diario de preñez se mantiene constante durante el período en estudio (Allison, 1995). Al inicio del período de estudio, se estima el efecto principal de la LECHE sobre el riesgo instantáneo de preñez en todas las vacas, pero a medida que transcurre el tiempo, esa estimación se realiza sobre una subpoblación restante que es menos propensa a experimentar el evento de preñez. Esta forma de modelar la asociación explicaría el hallazgo de que la producción diaria de leche tiene un efecto negativo en el riesgo de preñez sólo en las vacas de tambos de alta producción y bien hacia el final del período de estudio. Este hallazgo no tiene sentido biológico, puesto que el pico de producción de leche y el BEN se registran al inicio y no

al final de la lactancia. Por lo tanto, se podría especular que en la población de vacas sub-fértiles (en las vacas vacías que permanecen en riesgo hacia el final del período de estudio) la asociación entre la producción de leche diaria y el riesgo diario de preñez es constantemente negativa durante todo el estudio, pero que este efecto negativo teórico sería neutralizado o enmascarado por una asociación positiva entre la producción de leche y la chance de preñez de la subpoblación de vacas más fértiles que están presentes sólo al inicio del estudio.

El análisis de sensibilidad que evalúa el supuesto de independencia entre el evento de interés (preñez) y la censura, muestra que en ambos escenarios hipotéticos, el de correlaciones completamente positivas o completamente negativas entre preñez y censura (tablas 2.6 y 2.7), la producción de leche y el riesgo instantáneo de preñez se asociaron más fuertemente que en los datos originales, pero en la misma dirección lo que sugiere que la violación de la independencia de la censura no sería un gran problema. Esta pequeña disminución en el tamaño de efecto de la LECHE puede explicarse porque en la subpoblación de vacas censuradas la frecuencia de vacas de baja producción es mayor que la de vacas de alta producción. En este sentido, se ha reportado que en los rodeos lecheros comerciales la alta producción de leche actúa como un factor protector contra el rechazo de las vacas (Morton, 2007).

Por otra parte, no se puede descartar la participación de otras enfermedades, o indicadores del BE, que no estaban presentes en la base de datos usada, y que podrían actuar como variables intermediarias modulando los efectos y asociaciones estudiadas.

CONCLUSIÓN

La conclusión principal del presente capítulo es que la magnitud de la relación entre producción de leche y desempeño reproductivo es pequeña y depende del nivel productivo del rodeo. Además, si bien se observó un aumento de producción de leche individual juntamente con una disminución

de la fertilidad en los rodeos, la asociación entre estas dos variables se mantuvo constante durante el período de estudio evaluado.

CAPÍTULO III

3. ASOCIACIÓN ENTRE EL CONTEO DE CÉLULAS SOMÁTICAS, LA PRODUCCIÓN DE LECHE Y EL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO

INTRODUCCIÓN

Se sabe que cuando la ubre se expone a patógenos, se genera una respuesta defensiva desarrollando un proceso inflamatorio, que aumenta el flujo de células inmunes hacia la infección, por lo que el CCS puede usarse como indicador del estatus sanitario de la ubre (Ruegg y Erskine, 2014). Las consecuencias prácticas de estos procesos que afectan la sanidad de las ubres son los efectos deletéreos en la producción de leche y en el desempeño reproductivo, dos de los aspectos que más afectan el resultado económico de los establecimientos lecheros. En este sentido, estudios previos que evalúan la relación entre el CCS y la fertilidad de las vacas lecheras, reportan que el CCS se asocia con retrasos en el tiempo al primer servicio (Barker y col., 1998; Pinedo y col., 2009; Schrick y col., 2001), con menor chance de concepción (Fuenzalida y col., 2015; Hearlt y col., 2014; Hudson y col., 2012; Lavon y col., 2011a) y con mayor riesgo de pérdidas de preñez (Chebel y col., 2004; Pinedo y col., 2009). En algunos estudios se indujo experimentalmente la mastitis y se observó que se altera el perfil de las hormonas reproductivas y que, esto último produce fallas en la preñez (Herath y col., 2007; Lavon y col., 2011). Por otro lado, también reportan que las vacas que tienen un evento de mastitis durante los 60 días previos a la IA poseen menores chances de preñez (Hudson y col., 2012), lo que soportaría la hipótesis de que el proceso inflamatorio daña los folículos preovulatorios (Furman y col., 2014; Ruth y col., 2013). A pesar de que resulta difícil comparar estos estudios previos debido a que existen diferencias de diseño, de indicadores del estatus sanitario de la ubre (p.ej.: casos clínicos, casos subclínicos o ambos), de población de vacas evaluadas y de sistemas de producción entre los establecimientos, los resultados obtenidos

concuerdan en que el mayor efecto negativo de la mastitis se produce cuando el evento ocurre inmediatamente después de la IA y, además, en que el tamaño del efecto depende de la severidad del proceso inflamatorio (Fuenzalida y col., 2015; Hearlt y col., 2014; Hudson y col., 2012; Lavon y col., 2012).

Otros estudios estimaron el impacto del evento de mastitis en la producción de leche (Boland y col., 2013), y si bien, la comparación entre estos estudios resulta compleja por los motivos previamente descritos, las pérdidas reportadas varían de 0.28 a 0.8 kg leche/día en vacas de primera parición; de 0.61 a 1.43 kg leche/día en vacas de segunda parición; y de 0.63 a 2.41 kg leche/ día en vacas de 3 o más partos cuando se comparan vacas con 200.000 CCS/ml con compañeras de rodeo con 50.000 CCS/ml (Boland y col., 2013; Durr y col., 2008; Halasa y col., 2009; Hand y col., 2012; Hortet y col., 1999). Cabe mencionar que la mayoría de estos estudios incluyeron registros provenientes de varios establecimientos (de 100 a más de 6.000), y que, si bien controlan analíticamente el efecto del rodeo, al momento de realizar la inferencia no consideran, e incluso ni siquiera reportan, la variabilidad intra- e inter- rodeo, de los parámetros estimados.

A nivel nacional se estima que los costos de los eventos de mastitis alcanzan en promedio un 16% del ingreso bruto diario de los establecimientos y que la incidencia de eventos clínicos y subclínicos presenta una alta variabilidad entre establecimientos (Vissio y col 2015). Estos resultados resaltan la importancia de contar con estimadores de la merma productiva asociadas a la salud de la ubre. Por lo tanto, es clave que se realicen estudios especialmente diseñados para contemplar la heterogeneidad de la realidad productiva nacional y que, además, definan claramente el alcance de la inferencia de sus resultados y de su interpretación práctica. Esto último es

fundamental para que esos estimadores puedan ser utilizados como valores de referencia en la práctica diaria por los tomadores de decisiones de los establecimientos de producción de leche.

Objetivos

- Estimar la asociación entre el CCS y la tasa de inseminación en los primeros 200 DEL
- Estimar la asociación entre el CCS y el riesgo de concepción en vacas lecheras, teniendo en cuenta su asociación temporal con la IA.
- Estimar la asociación de la severidad del CCS y la tasa de concepción.
- Estimar la asociación entre el CCS y la producción de leche diaria, teniendo en cuenta el nivel de producción de leche individual y la variabilidad entre rodeos.

Hipótesis

- Los altos CCS se asocian negativamente con la tasa de inseminación y con la chance de concepción en vacas lecheras.
- La asociación entre el CCS y la tasa de concepción depende del momento en que se produce el aumento de CCS con relación a la IA y de la severidad del proceso inflamatorio.
- La magnitud de la asociación negativa entre el CCS y la producción de leche es mayor en vacas de alta producción.
- La asociación entre CCS y producción de leche varía en función del nivel productivo del rodeo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Set de datos

Se realizó un estudio longitudinal retrospectivo sobre una base de datos con registros productivos, reproductivos y sanitarios de vacas, recolectados por la asociación de controles lecheros ARPECOL, que pertenecen a rodeos lecheros (n: 1.094) localizados en la provincia de Buenos Aires, Argentina. La información de todas las lactancias (n:1.091.228) iniciadas entre el 1 de enero de 2000 y el 31 de diciembre del 2014, que contaban con registros de controles lecheros mensuales (producción de leche, porcentaje de grasa y de proteínas, y CCS) y registros reproductivos (Fecha de IA, diagnósticos de preñez y de parto) fueron extractados de un software comercial (DIRSA S.A., Gonnet, Argentina) y centralizados en una base de datos única (Mysql®).

Definición de las variables en estudio

Se determinó el éxito de cada una de las primeras cuatro IA de cada lactancia (**CONCEPCION**; Si/No) utilizando los registros de diagnóstico positivo de preñez. Para las IA que no contaban con un registro de diagnóstico de preñez posterior, pero que eran la última IA en los 260 a 290 días previos a un nuevo parto, se determinó como que el servicio fue exitoso. Se utilizaron los valores de CCS de dos controles lecheros mensuales alrededor de las primeras cuatro IA de cada lactancia (desde los 43 días previos a la IA, hasta los 30 días posteriores a la IA) para construir el indicador categórico del estatus sanitario de la ubre (**CCS_ESTATUS**), donde se las consideró como **sanas**: cuando los CCS pre- y post-IA tuvieron <150.000 CCS/ml; como **nuevos casos**: cuando el CCS pre-IA tuvo <150.000 CCS/ml y el CCS post-IA tuvo >150.000 CCS/ml; como **curadas**: cuando el CCS pre-IA tuvo >150.000 CCS/ml y el CCS post-IA tuvo <150.000 CCS/ml; y como **crónicas**:

cuando ambos CCS tuvieron > 150.000 CCS/ml. Además, este grupo de vacas crónicas se categorizó en función de la severidad del CCS post-IA (**CCS_SEVERIDAD**) como **leve**: cuando el CCS tenía entre 150.000 y 400.000 CCS/ml; como **moderado**: cuando el CCS tenía entre 400.000 y 1.000.000 CCS/ml; y como **grave**: cuando el CCS tenía > 1.000.000 CCS/ml.

Análisis estadístico

CCS y desempeño reproductivo

La asociación entre CCS_ESTATUS y la chance de concepción se evaluó con un modelo logístico multinivel ([Modelo 3.1], Proc Glimmix, SAS 9.4).

Modelo 3.1

$$\text{logit}(\widehat{\text{CONCEPCIÓN}}_{IAL}) = \gamma_0 + \gamma_1 \text{CCS_ESTATUS}_{IA} + \gamma_2 \text{N_IA}_{IA} + \gamma_3 \text{CCS_ESTATUS}_{IA} * \text{N_IA}_{IA} + \gamma_4 \text{DEL}_{IA} + \gamma_5 \text{AÑO}_{IAL} + \gamma_6 \text{ESTACIÓN}_{IAL} + U_{0L} + E_{IAL}$$

Este modelo evaluó la chance de CONCEPCION, e incluyó como predictores fijos al CCS_ESTATUS, el número de IA (1° a 4°) y su interacción (CCS_ESTATUS por número de IA), los días en leche al momento de la IA (DEL), el año de parición (2000 a 2014), la estación de parto [verano (del 21 diciembre al 20 marzo), otoño (del 21 marzo al 20 de junio), invierno (del 21 de junio al 20 de septiembre) y primavera (del 21 de septiembre al 20 de diciembre)] y el número de pariciones(1,2, ≥3). Por otra parte, la asociación entre la CCS_SEVERIDAD y la tasa de

concepción se evaluó con otro modelo logístico multinivel (modelo 3.2) que incluyó los mismos predictores fijos que el modelo 3.1.

Modelo 3.2

$$\text{logit}(\widehat{\text{CONCEPCIÓN}}_{IAL}) = \gamma_0 + \gamma_1 \text{CCS_SEVERIDAD}_{IA} + \gamma_2 \text{N_IA}_{IA} + \gamma_3 \text{CCS_ESTATUS}_{IA} * \text{N_IA}_{IA} + \gamma_4 \text{DEL}_{IA} + \gamma_5 \text{AÑO}_{IAL} + \gamma_6 \text{ESTACIÓN}_{IAL} + U_{0L} + E_{IAL}$$

En los dos modelos se incluyó a la lactancia como efecto aleatorio a nivel del intercepto para considerar la correlación existente entre los servicios dentro de la misma lactancia (Snijders y Bosker, 2012). La modelización se realizó mediante el criterio de selección “hacia atrás”; es decir, se excluyeron las variables cuya P>0.05, con la excepción de los efectos principales de CCS_ESTATUS (modelo 3.1), de CCS_SEVERIDAD (modelo 3.2), y de sus interacciones con el número de IA (en ambos modelos), cuyos términos fueron forzadas a permanecer en el respectivo modelo final.

La asociación entre el CCS diario y el riesgo instantáneo de inseminación a los 200 DEL se evaluó con un modelo de riesgos proporcionales de Cox [(modelo 3.3), Proc Phreg, SAS 9.4].

Modelo 3.3

$$\log IA_L (40 - 200 \text{ DEL}) = \gamma_1 \text{CCS_DIARIO}_V (40 - 200 \text{ DEL}) + \gamma_2 \text{N_IA}_V + \gamma_3 \text{DEL}_V + \gamma_4 \text{AÑO}_V + \gamma_5 \text{ESTACIÓN}_V + \gamma_6 \text{N_PARICION}_V$$

Los predictores ofrecidos al modelo 3.3 fueron la categoría del CCS diario (CCS_DIARIO; <150.000 CCS/ml o >150.000 CCS/ml) como variable tiempo-dependiente por medio del proceso

de conteo (Allison, 1995), el número de IA, los DEL, el año de parto, la estación del parto y el número de parición. Se usó la aproximación de Efron para manejar los datos enlazados y el test de Wald con estimaciones robustas sándwich de los predictores para corregir la dependencia de los eventos repetidos (p.ej.: IA) dentro de cada lactancia (Lin y Wei, 1998). Se censuraron a la izquierda las lactancias que recibieron una IA antes de los 40 DEL, mientras que se censuraron a la derecha las vacas rechazadas o muertas antes de los 200 DEL (cuando registraron el evento mencionado) y también se censuraron a la derecha, a los 200 DEL, las vacas que recibieron su último servicio después de los 200 DEL. Finalmente, se evaluó la asunción de proporcionalidad mediante la correlación entre los residuales de Schoenfeld y los DEL.

CCS y producción de leche

La asociación entre el CCS y la producción de leche se evaluó con dos modelos lineales multinivel (Proc Glimmix, SAS 9.4) estratificados por número de parto (1^{er}, 2^{do} \geq 3^{er} parto). Al primer modelo lineal (modelo 3.4) se le ofrecieron como predictores fijos el score lineal del CCS diario (CCS_SL), el cuartil de producción de leche intra-rodeo (CPL) y su interacción (CCS_SL y CPL), los DEL, los DEL², el año y la estación de parición. Se empleó una estructura de correlación autorregresiva de primer orden para el segundo nivel jerárquico de correlación (controles lecheros dentro de una misma lactancia) y se fijó el rodeo-año como efecto aleatorio de tercer nivel.

Modelo 3.4

$$\begin{aligned}
 \widehat{PL}_{MVR} = & \gamma_0 + \gamma_1 \text{CCS_SL}_{MVR} + \gamma_2 \text{CPL}_{VR} + \gamma_3 \text{CCS_SL}_{MVR} * \text{CPL}_{VR} + \gamma_4 \text{DEL}_{MVR} \\
 & + \gamma_5 \text{DEL}^2_{MVR} + \gamma_6 \text{AÑO}_{MVR} + \gamma_7 \text{ESTACIÓN}_{MVR} + Z_{0R} + U_{0VR} + E_{MVR}
 \end{aligned}$$

El segundo modelo lineal (modelo 3.5) incluyó como predictor fijo al CCS categorizado (11 niveles crecientes cada 100.000 SCC/ ml [CCS_C]) y también, se controló por el efecto de DEL y DEL², de año y de estación de parición. Se empleó la misma estructura de correlación definida en el modelo 3.4. Finalmente, se estimaron las relaciones lineales, cuadráticas y cúbicas entre CCS_C y la producción de leche por medio de contrastes a priori (con el Proc IML de SAS se estimaron los coeficientes de los contrastes).

Modelo 3.5

$$\widehat{PL}_{MVR} = \gamma_0 + \gamma_1 \text{CCS_C}_{MVR} + \gamma_4 \text{DEL}_{MVR} + \gamma_5 \text{DEL}^2_{MVR} + \gamma_6 \text{AÑO}_{MVR} \\ + \gamma_7 \text{ESTACIÓN}_{MVR} + Z_{0R} + U_{0VR} + E_{MVR}$$

Criterios de inclusión

CCS y desempeño reproductivo

Las lactancias para ser incluidas en los modelos 3.1, 3.2 y 3.3 debieron cumplir los siguientes requisitos: 1- tener al menos un registro de IA; 2- contar con un nuevo parto registrado posterior al diagnóstico positivo de preñez; y 3- poseer un intervalo de 260 a 290 días entre la última IA y el nuevo parto. Además, para los análisis del riesgo de concepción (modelos 3.1 y 3.2) debieron contar con dos controles lecheros, uno dentro de los 43 días previos a la IA y otro durante los 30 días posteriores a la IA y para el análisis de riesgo instantáneo de inseminación (modelo 3.3)

debieron tener al menos un control lechero cada 40 días hasta los 200 DEL. Por último, en el caso del rodeo/año se requirió que al menos el 50% de las lactancias iniciadas en cada año cumplieran con los requisitos previamente detallados. En total el riesgo de concepción (modelos 3.1 y 3.2) se analizó en 900.168 IA de 427.148 lactancias provenientes de 580 rodeos, mientras que el riesgo instantáneo de inseminación (modelo 3.3) se evaluó en un total de 536.190 lactancias pertenecientes a 777 rodeos.

CCS y producción de leche

Las lactancias incluidas en el análisis de la asociación entre CCS y producción de leche (modelos 3.4 y 3.5) debieron contar con al menos 7 controles lecheros hasta los 305 DEL. Además, en el caso del rodeo/año se requirió que al menos el 50% de las lactancias iniciadas en cada año cumplan con los requisitos previos. Para superar las restricciones computacionales, del total de datos disponibles para ser incluidos en los ajustes de los modelos 3.4 y 3.5 (4.061.230 controles lecheros de 448.041 lactancias pertenecientes a 699 rodeos) se seleccionó aleatoriamente una submuestra de 29.830 lactancias con 208.810 controles lecheros de 159 rodeos, para cada grupo de parición. Se utilizó un muestreo aleatorio multi-etapa para seleccionar los rodeos ($n=159$) y las lactancias de cada grupo de parición dentro de cada rodeo ($n=190$). Se empleó el software PinT (Snijders and Bosker, 1993) para estimar el tamaño de la muestra con una confianza del 95% y un poder del 80%, para detectar un efecto en la producción de leche de $z=0.05$, asumiendo que los predictores fijos incluidos en los modelos explican el 45% de la producción de leche y que el resto de la variabilidad se explicaba a nivel de la vaca y del rodeo en una razón de 2:1 y, además, que a nivel de la vaca la estructura de la correlación entre variables era alta (70%).

RESULTADOS

CCS y desempeño reproductivo

Se observó que el CCS_ESTATUS (modelo 3.1) se asocia negativamente con la chance de concepción, puesto que las vacas de los grupos nuevos casos, curadas o crónicas mostraron menores chances de concepción que las vacas sanas (Tabla 3.1). El número de IA y la interacción CCS_ESTATUS por número de IA también se asoció con la chance de concepción, puesto que disminuyó con las sucesivas IA y que el tamaño de efecto del CCS_ESTATUS se redujo en los sucesivos servicios (Tabla 3.1). La chance de concepción se asoció con el año y estación de parición y con el número de partos, debido a que la chance de preñez disminuyó con los años, en los partos de verano y en las multíparas. A su vez, la severidad del CCS post IA (modelo 3.2) se asoció negativamente con la chance de concepción, puesto que disminuyó en las vacas con eventos leves, moderados y graves en comparación con las vacas sanas (Tabla 3.2). El número de la IA y la interacción CCS_SEVERIDAD por número de IA también se asoció con la chance de concepción, debido a que la tasa de concepción disminuyó con las sucesivas IA y a que el tamaño de efecto del CCS_SEVERIDAD se redujo con el número de servicios (Tabla 3.2). Por otra parte, el CCS_DIARIO (modelo 3.3) se asoció con el riesgo instantáneo de servicio durante los primeros 200 DEL, puesto que vacas con CCS <150.000 CCS/ml tuvieron un riesgo diario mayor de ser inseminadas que las vacas con CCS >150.000 CCS/ml (Tabla 3.3).

Tabla 3.1 Modelo de regresión lineal multinivel que evalúa la asociación entre el conteo de células somáticas y la chance de concepción en 802.066 servicios, de 427.148 lactancias pertenecientes a 580 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires, Argentina, entre los años 2000 y 2014.

		Servicio	RC (%) ¹	OR ²	IC 95% ³
CCS Estatus ⁴	Sana	Primer	33.6	Ref	
	Curada		32.2	0.921	0.902 - 0.941
	Nuevo Caso		31.5	0.866	0.848 - 0.884
	Crónica		29.2	0.842	0.826 - 0.859
CCS Estatus ⁴	Sana	Segundo	32.6	Ref	
	Curada		30.5	0.920	0.870 - 0.973
	Nuevo Caso		30.0	0.891	0.844 - 0.941
	Crónica		29.8	0.880	0.838 - 0.925
CCS Estatus ⁴	Sana	Tercer	30.8	Ref	
	Curada		29.4	0.939	0.881 - 1.000
	Nuevo Caso		28.6	0.904	0.850 - 0.962
	Crónica		28.8	0.912	0.863 - 0.963
CCS Estatus ⁴	Sana	Cuarto	28.1	Ref	
	Curada		27.1	0.951	0.880 - 1.027
	Nuevo Caso		26.1	0.907	0.841 - 0.979
	Crónica		26.3	0.914	0.856 - 0.977
Lactancia ⁵				0.233	0.233 - 0.234

¹RC (%): Riesgo de concepción por servicio (Lsmeans option; Proc Glimmix of SAS);

²OR: Odds ratio estimados;

³95%CI: Intervalo de confianza 95%;

⁴CCS Estatus: Conteo de células somáticas ≤ 45 días pre-servicio y ≤ 30 días post-servicio categorizados de la siguiente manera: ambos CCS < 150.000 CCS/ml (Sana); primer CCS < 150.000 CCS/ml y segundo CCS > 150.000 CCS/ml (Nuevo Caso); primer CCS > 150.000 CCS/ml y segundo CCS < 150.000 CCS/ml (Curada); y ambos CCS > 150.000 CCS/ml (Crónica);

⁵Lactancia: efecto aleatorio de lactancia;

El modelo también se controló por año (2000 a 2014), estación de parto [verano (21 diciembre - 20 marzo), otoño (21 marzo - 20 de junio), invierno (21 de junio - 20 de septiembre) y primavera (21 de septiembre - 20 de diciembre), número de partos (1, 2 y ≥ 3) y Días en leche al servicio (DEL).

Los parámetros estimados para las variables año ($P < 0.001$), estación de parto ($P < 0.001$) y número parto ($P < 0.001$) no se muestran en la tabla 1.

Tabla 3.2 Modelo de regresión lineal multinivel que evalúa la asociación entre la severidad del conteo de células somáticas en vacas con conteos crónicamente altos y la chance de concepción en 177.148 servicios, de 115.466 lactancias pertenecientes a 557 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires, Argentina, entre los años 2000 y 2014.

		Servicio	CR(%) ¹	OR ²	95%CI ³
Severidad CCS ⁴	Sanas	Primer	33.6	Ref	
	Leve		31.0	0.902	0.881 - 0.925
	Moderado		29.4	0.837	0.808 - 0.866
	Severo		26.1	0.709	0.683 - 0.736
Severidad CCS ⁴	Sanas	Segundo	32.6	Ref	
	Leve		30.9	0.931	0.875 - 0.990
	Moderado		28.3	0.818	0.759 - 0.934
	Severo		27.5	0.787	0.717 - 0.865
Severidad CCS ⁴	Sanas	Tercer	30.8	Ref	
	Leve		29.9	0.961	0.897 - 1.029
	Moderado		28.8	0.912	0.827 - 1.006
	Severo		26.0	0.794	0.715 - 0.882
Severidad CCS ⁴	Sanas	Cuarto	28.2	Ref	
	Leve		26.8	0.937	0.862 - 1.018
	Moderado		26.4	0.920	0.820 - 1.034
	Severo		24.9	0.847	0.748 - 0.960
Lactancia ⁵				0.999	0.997 - 1.001

¹RC (%): Riesgo de concepción por servicio (Lsmmeans option; Proc Glimmix of SAS);

²OR: Odds ratio estimados;

³95%CI: Intervalo de confianza 95%;

⁴CCS Estatus: Conteo de células somáticas ≤ 45 días pre-servicio y ≤ 30 días post-servicio categorizados de la siguiente manera: ambos CCS < 150.000 CCS/ml (Sana); primer CCS < 150.000 CCS/ml y segundo CCS > 150.000 CCS/ml (Nuevo Caso); primer CCS > 150.000 CCS/ml y segundo CCS < 150.000 CCS/ml (Curada); y ambos CCS > 150.000 CCS/ml (Crónica);

⁵Lactancia: efecto aleatorio de lactancia;

El modelo fue también controlado por año (2000 a 2014), estación de parto [verano (21 diciembre - 20 marzo), otoño (21 marzo - 20 de junio), invierno (21 de junio - 20 de septiembre) y primavera (21 de septiembre - 20 de diciembre)], número de partos (1, 2 y ≥ 3), Días en leche al servicio (DEL).

Los parámetros estimados para las variables año ($P < 0.001$), Estación de parto ($P < 0.001$), y número parto ($P < 0.001$) no se muestran en la tabla 3.2.

Tabla 3.3 Modelo de riesgos proporcionales de Cox que evalúa la asociación entre el conteo de células somáticas y el riesgo instantáneo de recibir un servicio en 536.190 lactancias, pertenecientes a 777 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires Argentina, entre los años 2000 y 2014.

		RI ¹	IC 95% ²
CCS_DIARIO	< 150,000	Ref.	
	> 150,000	0.973	0.959 - 0.986
Número de servicio	Primer	Ref.	
	Segundo	0.907	0.878 - 0.937
	Tercer	0.915	0.876 - 0.956
	Cuarto	0.930	0.888 - 0.975
Número de parto	1	Ref.	
	2	1.075	1.060 - 1.092
	3	1.109	1.089 - 1.130
	≥4	1.100	1.076 - 1.125
Estación de parto ⁴	Otoño	Ref.	
	Invierno	0.940	0.926 - 0.954
	Primavera	0.826	0.804 - 0.849
	Verano	0.888	0.867 - 0.910

¹RI: Riesgo instantáneo de recibir un servicio en los primeros 200 días de la lactancia;

²95%CI: Intervalo de confianza 95%;

³CCS_DIARIO: Conteo de células somáticas categorizado de la siguiente manera: <150.000 vs. >150.000 CCS/ml, incluida como variable tiempo dependiente usando el proceso de conteo (Proc PHREG; SAS 9.4);

⁴ Estación de parto: verano (21 diciembre - 20 marzo), otoño (21 marzo - 20 de junio), invierno (21 de junio - 20 de septiembre) y primavera (21 de septiembre - 20 de diciembre);

El modelo fue también controlado por año (2000 a 2014). Parámetros estimados no son mostrados en la tabla 3.3 (P<0.001).

CCS y producción de leche

El CCS_SL se asoció con la producción de leche en todos los grupos de parición, dado que, el incremento de una unidad en el CCS_SL se relacionó con una disminución en la producción de leche de 0.349, 0.539 y 0.676 kg/día en vacas de 1^{er}, 2^{do} y 3^{er} parto, respectivamente (Tablas 3.4 a 3.6). Además, la interacción entre el CCS_SL y CPL se asoció significativamente con la producción, pero su importancia biológica es despreciable en vacas primíparas (el efecto principal del CCS_SL varió de 0.02 a 0.06 kg/día dependiendo el CPL, Tabla 3.4), no así en las vacas multíparas donde el efecto de la interacción tuvo mayor impacto (varió de 0.095 a 0.154 Kg/día según el CPL, Tabla 3.6).

Tabla 3.4 Modelo de regresión lineal multinivel que evalúa la asociación entre el score lineal del conteo de células somáticas y la producción de leche diaria en los diferentes cuartiles de producción de leche en 29.830 lactancias de vacas primíparas pertenecientes a 159 rodeos de la provincia de Buenos Aires, Argentina

Predictor	Nivel	Leche ¹	IC 95% ²
Intercepto		32.37 (0.24)	31.904 - 32.826
CCS_SL ³		-0.35 (0.01)	-0.367 - -0.331
CPL ⁴	A	Ref.	
	MA	-4.83 (0.05)	-4.915 - -4.735
	MB	-9.23 (0.05)	-9.316 - -9.136
	B	-14.37 (0.07)	-14.511 - -14.229
CCS_SL*CPL	CCS_SL al CPL-MA	-0.06 (0.01)	-0.082 - -0.034
	CCS_SL al CPL-MB	-0.03 (0.01)	-0.048 - -0.004
	CCS_SL al CPL-B	-0.02 (0.02)	-0.050 - 0.016
Residual rodeo ⁵		14.70 (1.69)	11.379 - 18.011
Residual vaca ⁵		14.00 (0.17)	13.669 - 14.335
Residual		14.00 (0.04)	13.915 - 14.083

¹Leche: Parámetro de producción de leche estimado (Error Estándar);

²IC95%: Intervalo de confianza 95%;

³CCS_SL: Score lineal del conteo de células somáticas;

⁴CPL: Cuartil de producción de leche (A: alto, MA: medio alto, MB: medio bajo, y B: bajo);

⁵Efecto aleatorio del intercepto estimado a nivel de la lactancia y del rodeo (estructura de correlación autorregresiva de primer orden).

El modelo fue también controlado por año (2000 a 2014), estación de parto [verano (21 diciembre - 20 marzo), otoño (21 marzo - 20 de junio), invierno (21 de junio - 20 de septiembre) y primavera (21 de septiembre - 20 de diciembre)], días en leche al servicio y días en leche al servicio al cuadrado (DEL y DEL²).

Parámetros estimados para las variables año (P<0.001), Estación de parto (P <0.001), DEL y DEL² (P <0.001) no son mostrados en la tabla 3.4.

Tabla 3.5 Modelo de regresión lineal multinivel que evalúa la asociación entre el score lineal del conteo de células somáticas y la producción de leche diaria en los diferentes cuartiles de producción de leche en 29.830 lactancias de vacas de segundo parto provenientes de 159 rodeos de la provincia de Buenos Aires, Argentina.

Predictor	Nivel	Leche ¹	IC 95% ²
Intercepto		40.461 (0.21)	40.057 - 40.865
CCS_SL ³		-0.539 (0.01)	-0.559 - -0.519
CPL ⁴	A	Ref.	
	MA	-5.714 (0.06)	-5.826 - -5.602
	MB	-9.668 (0.06)	-9.786 - -9.550
	B	-14.624 (0.06)	-14.742 - -14.506
CCS_SL*CPL	CCS_SL al CPL-MA	0.009 (0.01)	-0.018 - 0.036
	CCS_SL al CPL-MB	0.061 (0.01)	0.034 - 0.088
	CCS_SL al CPL-B	0.084 (0.02)	0.055 - 0.113
Residual rodeo ⁵		20.997 (2.44)	16.222 - 25.771
Residual vaca ⁵		23.015(0.26)	22.497 - 23.532
Residual		19.355 (0.06)	19.239 - 19.470

¹Leche: Parámetro de producción de leche estimado (Error Estándar);

²IC95%: Intervalo de confianza 95%;

³CCS_SL: Score lineal del conteo de células somáticas;

⁴CPL: Cuartil de producción de leche (A: alto, MA: medio alto, MB: medio bajo, y B: bajo);

⁵Efecto aleatorio del intercepto estimado a nivel de la lactancia y del rodeo (estructura de correlación autorregresiva de primer orden).

El modelo fue también controlado por año (2000 a 2014), estación de parto [verano (21 diciembre - 20 marzo), otoño (21 marzo - 20 de junio), invierno (21 de junio - 20 de septiembre) y primavera (21 de septiembre - 20 de diciembre)], días en leche al servicio y días en leche al servicio al cuadrado (DEL y DEL²).

Parámetros estimados para las variables año (P<0.001), Estación de parto (P <0.001), DEL y DEL² (P <0.001) no se muestran en la tabla 3.5.

Tabla 3.6 Modelo de regresión lineal multinivel que evalúa la asociación entre el score lineal del conteo de células somáticas y la producción de leche diaria en los diferentes cuartiles de producción de leche en 29.830 lactancias de vacas de tres o más partos provenientes de 159 rodeos de la provincia de Buenos Aires, Argentina.

Predictor	Nivel	Leche ¹	IC 95% ²
Intercepto		42.566 (0.42)	41.735 - 43.397
CCS_SL ³		-0.676 (0.02)	-0.709 - -0.643
CPL ⁴	A	Ref.	
	MA	-6.076 (0.11)	-6.292 - -5.860
	MB	-9.824 (0.12)	-10.053 - -9.595
	B	-14.502 (0.13)	-14.751 - -14.253
CCS_SL*CPL	CCS_SL al CPL-MA	0.095 (0.02)	0.048 - 0.142
	CCS_SL al CPL-MB	0.134 (0.03)	0.085 - 0.183
	CCS_SL al CPL-B	0.154 (0.03)	0.105 - 0.203
Residual rodeo ⁵		23.902 (2.76)	18.486 - 29.317
Residual vaca ⁵		18.433 (0.26)	17.923 - 18.942
Residual		23.988 (0.07)	23.848 - 24.127

¹Leche: Parámetro de producción de leche estimado (Error Estándar);

²IC95%: Intervalo de confianza 95%;

³CCS_SL: Score lineal del conteo de células somáticas;

⁴CPL: Cuartil de producción de leche (A: alto, MA: medio alto, MB: medio bajo, y B: bajo);

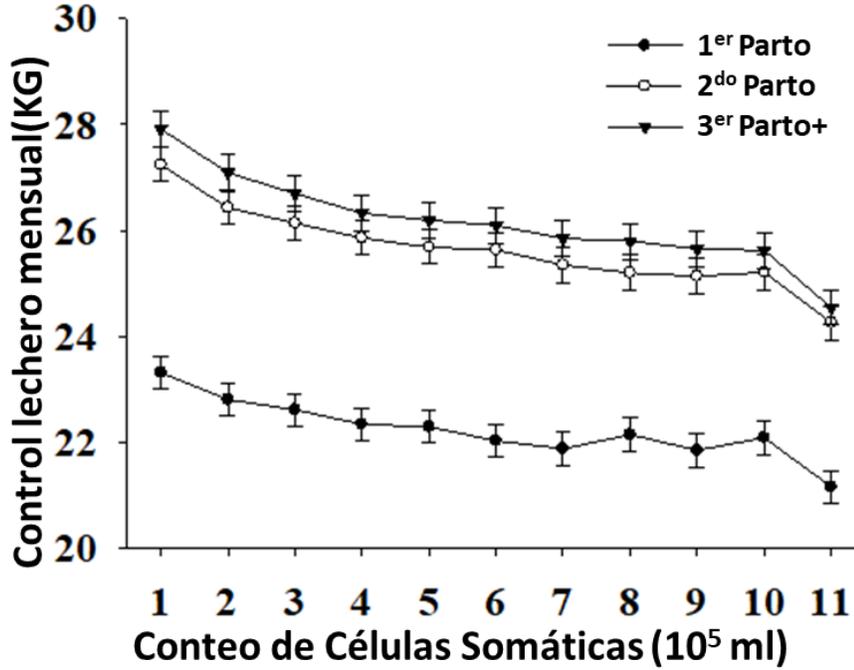
⁵Efecto aleatorio del intercepto estimado a nivel de la lactancia y del rodeo (estructura de correlación autorregresiva de primer orden).

El modelo también se controló por año (2000 a 2014), estación de parto [verano (21 diciembre - 20 marzo), otoño (21 marzo - 20 de junio), invierno (21 de junio - 20 de septiembre) y primavera (21 de septiembre - 20 de diciembre)], días en leche al servicio y días en leche al servicio al cuadrado (DEL y DEL²).

Parámetros estimados para las variables año (P<0.001), estación de parto (P <0.001), DEL y DEL² (P <0.001) no se muestran en la tabla 3.6.

Por otra parte, el CCS (modelo 5) se asoció con la producción de leche en todos los grupos de parición y esa asociación negativa mostró una forma cúbica (P<0.001, Figura 3.1). Esto último significa que cuando el CCS aumenta de 100.000 a 200.000 células/ml la pendiente negativa de la producción de leche se hace más pronunciada y que, nuevamente, la pendiente se torna más negativa cuando el CCS supera el 1.000.000 de células/ml (Figura 3.1).

Figura 3.1 Producción diaria de leche estimada (CME± ES) en vacas lecheras (n: 89.490 lactancias) en función de las categorías del conteo de células somáticas (CCS), estratificada por el número de partos.



La asociación entre las categorías del conteo de células somáticas (CCS 1: ≤ 100.000 células/ml; CCS 2: 100.000 a 200.000 células/ml; hasta la CCS 11: $> 1.000.000$ células/ml) y la producción de leche fue evaluada con un modelo multinivel, estratificado por el número de parición (1^{ro}, 2^{do} y $\geq 3^{\text{ro}}$). El modelo también se controló por el año y la estación de parición, por los DEL y DEL². Además, incluyó los efectos aleatorios de la lactancia y del rodeo. El CCS se relacionó cúbicamente con la producción de leche en todos los estratos de parición ($P < 0.001$).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que el CCS se asocia negativamente tanto con el desempeño reproductivo como con la producción de leche en las vacas lecheras. Además, que el tamaño de efecto de la asociación negativa del CCS con la chance de concepción es menor en vacas con altos CCS post-IA (p.ej.: casos crónicos y nuevos casos) que en las que tenían bajos CCS antes o después de la IA (p.ej.: vacas sanas y curadas) y que la magnitud del efecto negativo

aumenta con la severidad del proceso inflamatorio. Se observó una reducción en la chance de concepción del 4 %, 6% y 13% para vacas curadas, nuevos casos y crónicas, respectivamente. Esto último se encuentra en línea con lo reportado por Lavon y col. (2011) quienes reportaron una reducción del 7%, 16% y 20% para los mismos grupos, pero en vacas confinadas. Por otra parte, observamos que las chances de concepción disminuyeron del 33.6% en vacas sanas al 26.1% en vacas crónicas severamente afectadas. Esto también está en línea con el estudio de Lavon y col. (2011) quienes reportaron chances de concepción del 39.4% y 29.7% para grupos similares de vacas en confinamiento. Por otra parte, este estudio muestra que el CCS_DIARIO se asocia negativamente con la tasa de inseminación, pero que tiene poca importancia práctica debido a que el riesgo instantáneo estimado es de 0.97. Por lo tanto, se podría postular que la asociación negativa entre el CCS y la fertilidad se debería principalmente a una disminución en la tasa de concepción y no a una reducción en la tasa de inseminación. Estos resultados soportan la recomendación de McDougall y col. (2015) de tratar con anti-inflamatorios no esteroideos a las vacas recientemente inseminadas que padecen un proceso inflamatorio en la ubre que aumente el CCS por encima del 1.000.000 de células/ml. Esta recomendación apuntaría a moderar el potencial efecto negativo del proceso inflamatorio sobre la tasa de concepción. Finalmente, los resultados muestran que la asociación negativa entre el CCS_ESTATUS y la tasa de concepción decrece con los sucesivos servicios. Este hallazgo podría deberse a que la tasa de concepción depende de varios factores (no solamente del CCS), y a que esas variables que afectan la fertilidad -y que no fueron controladas en este estudio-, también podrían tener un mayor efecto en la subpoblación de vacas repetidoras, lo que explicaría parte del efecto del CCS observado en las primeras IA.

Con relación a la producción de leche, en este estudio se encontró que el efecto negativo del CCS_SL aumenta con el número de partos y que varía en función del cuartil de producción de

leche dentro del rodeo (p.ej.: el mayor tamaño de efecto se observa en el cuartil de alta producción). Además, las vacas de 1^{er}, 2^{do} y 3^{er} parto pertenecientes al CPL superior mostraron una merma de 0.35, 0.539 y 0.676 kg/d en su producción lechera por cada incremento de una unidad en el CCS_SL, lo que representa una disminución del 1,0%, 1,3% y 1,5% respecto de la media estimada para cada categoría, respectivamente. La interacción entre el CCS_SL y CPL también es significativa, pero la magnitud de la asociación varía en los diferentes grupos de parición; por ejemplo, en las primíparas no hay diferencias entre los cuartiles 1 y 4 de CPL, mientras que en las vacas de segunda parición las del cuartil alto pierden un 15% más de leche que las vacas del cuartil bajo (0.539 kg y 0.455 kg/d por cada unidad de incremento en el CCS_SL, respectivamente) y en las vacas de tres o más partos, las pérdidas detectadas representaron un 22.7% más en el cuartil alto que en el cuartil bajo (0.676 kg y 0.522 kg/d por cada unidad de incremento en el CCS_SL, respectivamente). Por lo tanto, podríamos decir que las pérdidas en producción de leche por cada aumento de una unidad en el CCS_SL varía entre 0,69 y 0,81 kg/d en las primíparas, entre 1,7 y 1,24 kg/d en las de segunda parición y entre 1,35 y 1,6 kg/d en las vacas con tres o más partos, dependiendo del CPL. Nuestros hallazgos concuerdan con lo reportado por Boland y col. (2013) quienes informaron pérdidas de producción de leche de 0.28 a 0.8 kg/d por cada incremento de 200.000 CCS/ml (desde una línea basal de 50.000 CCS/ml) en vacas primíparas, de 0,61 a 1,4 kg/d en vacas de segundo parto y de 0,63 a 2,41 kg/d en vacas de tres o más partos. En el mismo trabajo, con un modelo multinivel de tres niveles (control lechero, lactancia y rodeo) se estimó una correlación intra-clase donde el rodeo explica el 20% del total de la variación y la lactancia explica el 51% de la variación periódica de leche (la estimación de la CIC al segundo nivel fue de un 57% del rodeo y un 43% a nivel de la lactancia). Por el contrario, en el presente estudio la correlación intraclase estimada en vacas de tres o más partos muestra que un 36% de la variabilidad se explica

a nivel del rodeo, mientras que la lactancia y el rodeo explican el 63% (la estimación de la CIC al segundo nivel fue de un 56% del rodeo y un 44% a nivel de la lactancia). Por tanto, podría afirmarse que la variabilidad entre rodeos y entre lactancias del mismo rodeo es mayor en nuestro estudio que en el de Boland y col. (2013), lo que sugiere que la estimación de las pérdidas de producción de leche asociadas a altos CCS debe estimarse para cada rodeo en particular. Finalmente, como la asociación observada entre las categorías del CCS y la producción de leche diaria es cúbica en todos los grupos de parición (Figura 3.1), con mayor pendiente negativa a valores muy bajos (p.ej.: 100.000 - 200.000 células / ml) o muy altos (p.ej.: >1.000.000 células / ml, Figura 1) puede proponerse que los modelos que usan como predictores valores linealizados del CCS estarían subestimando las pérdidas de leche a valores muy bajos o muy altos de CCS y, por el contrario, sobreestimarían las pérdidas a valores medios de CCS.

Es interesante mencionar que cuando se interpretan estudios epidemiológicos de gran escala, es clave que se consideren dos aspectos importantes como la validación externa (Hagnestam-Nielsen y col., 2009) y la complejidad del sistema biológico en estudio (Hudson y col., 2015). La validación externa involucra una evaluación subjetiva de los autores de cuán válida es la extrapolación de los resultados a una población de referencia (Dohoo y col., 2004). Este punto es clave si los resultados del estudio se utilizan para ajustar modelos bio-económicos o de simulación que pretenden establecer predicciones realistas. Hasta donde sabemos, este es el primer estudio sobre la merma de producción lechera asociada al CCS que se realiza sobre una base de datos grande en Argentina. De modo que los parámetros estimados en este estudio y la variabilidad observada entre rodeos aporta una información muy valiosa que debería tenerse en cuenta al ajustar modelos bio-económicos que evalúen el impacto económico del alto CCS en rodeos lecheros de nuestro país (Vissio y col., 2015).

CONCLUSIÓN

Se concluye que el CCS es un factor de riesgo que afecta la concepción en vacas lecheras y que el tamaño del efecto depende de la severidad del proceso inflamatorio y de la asociación temporal con el servicio. Además, que el alto CCS se asocia negativamente con la tasa de concepción, pero no con la tasa de inseminación. Por último, que la relación negativa entre el CCS y la producción de leche diaria sigue una forma cúbica, es más fuerte en las vacas más productivas y en las multíparas y, finalmente, que la alta variabilidad en el CCS entre rodeos restringe la generalización de los resultados.

CAPÍTULO IV

4. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD PREDICTIVA DE UN SISTEMA DE MONITOREO DE LA SALUD BASADO EN MEDICIONES DE CONDICIÓN CORPORAL A NIVEL DEL RODEO

INTRODUCCIÓN

Las vacas lecheras alrededor del momento del parto enfrentan varios desafíos entre los que se destaca el control del metabolismo energético por su impacto sobre el desempeño productivo futuro (Meléndez y Bartolomé, 2017). En este sentido, durante los últimos años se ha estudiado la relación entre el estatus energético de las vacas, la producción de leche, la fertilidad y el riesgo de enfermedades (Grigera y col 2007; Roche y col., 2009; Carvalho y col., 2014). Es así que, a partir de la evidencia acumulada que asocia el balance energético postparto con la performance productiva de las vacas lecheras, se han desarrollado modelos empíricos que utilizan los indicadores del estatus energético de las vacas como soporte fundamental para la toma de decisiones en la práctica diaria de los establecimientos lecheros (Le Blanc, 2010a, Giuliadori y col., 2012; Dairy New Zealand, 2019; Dairy Australia, 2017).

En este sentido, es importante tener en cuenta los fundamentos metodológicos sobre los cuales se basaron los estudios epidemiológicos que se realizaron para dilucidar las interrelaciones presentes entre los diferentes aspectos biológicos de las vacas lecheras de una determinada población productiva. Esto es clave para poder diseñar y evaluar las intervenciones de manejo apropiadas para la realidad productiva específica de cada establecimiento. Por lo tanto, hay dos aspectos metodológicos que deberían considerarse para una interpretación adecuada de los resultados reportados por la bibliografía de referencia; primero, cómo se construyen y para qué se utilizan los modelos estadísticos ajustados a partir de bases de datos, y el segundo, sobre qué nivel se realizan

las observaciones y el análisis (¿es a nivel de las vacas o a nivel del rodeo?), lo que determina en buena medida su utilidad práctica.

Tradicionalmente la construcción y la evaluación de teorías científicas se ha realizado por medio de ajustes de modelos estadísticos explicativos o predictivos; los primeros se utilizan en diferentes campos científicos con el fin de poner a prueba una determinada teoría causal, al contrastar datos empíricos con la hipótesis causal por medio de metodologías estadísticas adecuadas (como experimentos diseñados o métodos de inferencia estadístico específicos en contextos de estudios observacionales); mientras que los modelos estadísticos predictivos se utilizan para realizar predicciones empíricas de observaciones futuras, lo cual implica que estos modelos son ideales para descubrir nuevas formas de realizar mediciones, como así también para comparar diferentes operacionalizaciones de constructos teóricos y diferentes instrumentos de medición. Si bien las funciones de estas dos formas de modelo estadístico son diferentes, existe el riesgo de que se malinterpreten los resultados si se considera como equivalente o sinónimo a la capacidad explicativa (de los modelos explicativos) y a la capacidad predictiva (de los modelos predictivos). Una forma alternativa, pero menos generalizada, de utilizar el modelado estadístico para generar conocimiento es el desarrollo de modelos descriptivos que buscan resumir y representar la estructura de los datos de una manera compacta (Smuegli y col., 2010; Wisnieski y col., 2019b).

Por tanto, es fundamental considerar estos conceptos metodológicos para entender críticamente la forma en que se definen los indicadores de balance energético, como la evaluación visual de la condición corporal, que estima la acumulación de grasa corporal (Ferguson y col., 1994). Este indicador es el más utilizado en la práctica de producción de leche diaria y se recomienda la evaluación sistemática de la condición corporal en diferentes puntos en el tiempo durante el período de transición para poder identificar a las vacas que no alcancen el rango deseable de

condición y para poder detectar problemas de manejo poblacional mediante la agregación de esos datos (Dairy Australia, 2017; Dairy New Zealand, 2019). Para determinar los valores de referencia de este indicador a nivel del rodeo, se realizaron estudios observacionales transversales que incluyeron datos de varios rodeos (Chapinal y col., 2012; Ospina y col., 2010), a partir de los cuales se determinó la frecuencia de vacas con valores subóptimos de BHB o de AGNE que se asociara a una alta frecuencia de un evento de interés reproductivo o sanitario. Para evaluar esa asociación emplearon el menor valor de P (probabilidad de concluir que existe una asociación, cuando en realidad no la hay). Por tanto, el enfoque utilizado en estos estudios no brinda información acerca de la capacidad predictiva del punto de corte definido, cuyos parámetros debieron estimarse en estudios posteriores por medio de modelos de simulación (Jordan y McEwen, 1998), que computan la prevalencia de la enfermedad monitoreada, la sensibilidad y la especificidad del test utilizado a nivel de la vaca y el número de vacas incluidas en el estudio (Ospina y col., 2013).

Por otra parte, es importante tener en cuenta el hecho de que el nivel sobre el que se realiza el análisis define el alcance de la inferencia y la interpretación de los resultados. Es decir, si el análisis es a nivel de la vaca, los parámetros de asociación estimados establecen cuán probable es que las vacas expuestas a un balance energético inadecuado presenten mermas en los indicadores productivos de interés, mientras que las medidas de impacto poblacional estiman (bajo ciertos supuestos de causalidad) cuán importante sería controlar los indicadores de balance energético para mitigar la presentación de eventos indeseables (como por ejemplo anestro) en la población. Por otro lado, en los análisis realizados a nivel del rodeo, las frecuencias de los atributos del rodeo son explicados por factores de riesgo ambientales o a partir de datos individuales agregados, (Dohoo y col., 2009). Entonces, la mayor evidencia del impacto deletéreo del balance energético

negativo sobre los aspectos productivos se determinó a nivel de las vacas (Bedere y col., 2018), pero en los sistemas de producción lechero la mayoría de los factores condicionantes del balance energético que pueden ser potencialmente manejados, involucran a toda la población de vacas del rodeo, por lo que los análisis a nivel del rodeo proveen información más valiosa en lo que respecta a la conformación de sistemas de monitoreo poblacional (Dubuc y Denis-Roubichaud, 2017; Mulligan y col., 2006;).

Objetivos

- Estimar la asociación entre los indicadores de condición corporal y los indicadores de salud, reproductivos y de producción de leche a nivel de la vaca
- Definir los puntos de corte de las frecuencias de vacas con valores de condición corporal subóptimos basándose en la capacidad predictiva de eventos de salud a nivel del rodeo
- Utilizar las estimaciones de las medidas de impacto de los indicadores de condición corporal en las tasas de enfermedad, como herramientas para el monitoreo gráfico del rodeo

Hipótesis

- Los indicadores de condición corporal determinan los indicadores de salud, reproductivos y de producción de leche a nivel de la vaca
- La frecuencia de vacas con valores de condición corporal subóptimos tiene poca capacidad predictiva de eventos de salud a nivel del rodeo
- Las medidas de impacto de los indicadores de condición corporal sobre las tasas de enfermedad permiten el monitoreo de los rodeos

MATERIALES Y MÉTODOS

Manejo de los rodeos

Se realizó un estudio longitudinal retrospectivo de 4 años de duración con los registros productivos de dos rodeos lecheros comerciales. El rodeo A localizado en el partido de Brandsen, Provincia de Buenos Aires, contaba con una superficie de tierra 1900 ha, para 2100 vacas Holstein en ordeño, que producían en promedio 29.5 lts/vaca/día ; y el rodeo B del partido de Carlos Casares, Provincia de Buenos Aires, contaba con una superficie de tierra aproximada de 2.000 ha, 2.600 vacas Holstein en ordeño, con una producción de leche diaria promedio de 32 lts/vaca/día.

Los registros de los eventos de salud, reproductivos, de producción de leche y de las mediciones de condición corporal recolectados durante 4 años (de enero de 2014 a diciembre de 2017) se extractaron de un software comercial (Dirsa®) y se centralizaron en una base datos relacional única (Mysql). Los registros de salud incluyeron eventos de metritis (definida como vacas que presentan descargas vaginales fétidas hasta los 21 DEL; Giuliadori y col., 2013), de endometritis clínica (definida como descargas vaginales purulentas >21 DEL; Sheldon y col., 2006), de mastitis clínica (definida como vacas con secreción de leche anormal en uno o más cuartos [p.ej.: grumos, flóculos o secreciones acuosas]; Kelton y col., 1998), diagnosticados por personal entrenado. Los programas reproductivos consistieron en la detección de celo asistida por el uso de pinturas en la base de la cola (dos veces diarias, durante el ordeño) y la consiguiente inseminación artificial por parte del personal del establecimiento. El diagnóstico de preñez se realizó por medio de ultrasonografía transrectal 28 a 42 días post-IA realizada por profesionales veterinarios. Se utilizó un período de espera voluntario de 40 y 50 DEL en los rodeos A y B, respectivamente. Las vacas que no recibieron servicio a los 70 DEL se evaluaron mediante ultrasonografía transrectal (el anestro se definió ante la ausencia de cuerpo lúteo y la presencia de flacidez uterina) y se enrolaron

en un programa de inseminación artificial a tiempo fijo. La evaluación de la condición corporal, en una escala de 5 puntos (Ferguson y col., 1994), se realizó alrededor del momento del parto (por personal del establecimiento) y al momento del alta reproductiva (40 a 60 DEL, por los profesionales veterinarios). Los controles lecheros periódicos se realizaron mensualmente sobre todas las vacas en ordeño a partir de los 5 DEL.

Diseño del estudio y análisis estadístico

Se usó la diferencia de condición corporal entre el parto (**CC_P**) y al alta reproductiva (40 a 60 DEL) para construir el indicador de pérdida de condición corporal al inicio de la lactancia (Δ CC). La distribución de frecuencia de estos indicadores es presentada en histogramas (Figura 4.1 y Figura 4.2) estratificados por rodeo (RODEO A o B) y por grupo de parición (primíparas y multíparas).

FIGURA 4.1 Histograma de las condiciones corporales al parto, por categoría de parición, en dos rodeos lecheros localizados en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Rodeo A: Vaquillonas (n=2.147) Vacas(n=2.887); Rodeo B: Vaquillonas (n=3.899) Vacas (n=4.066)

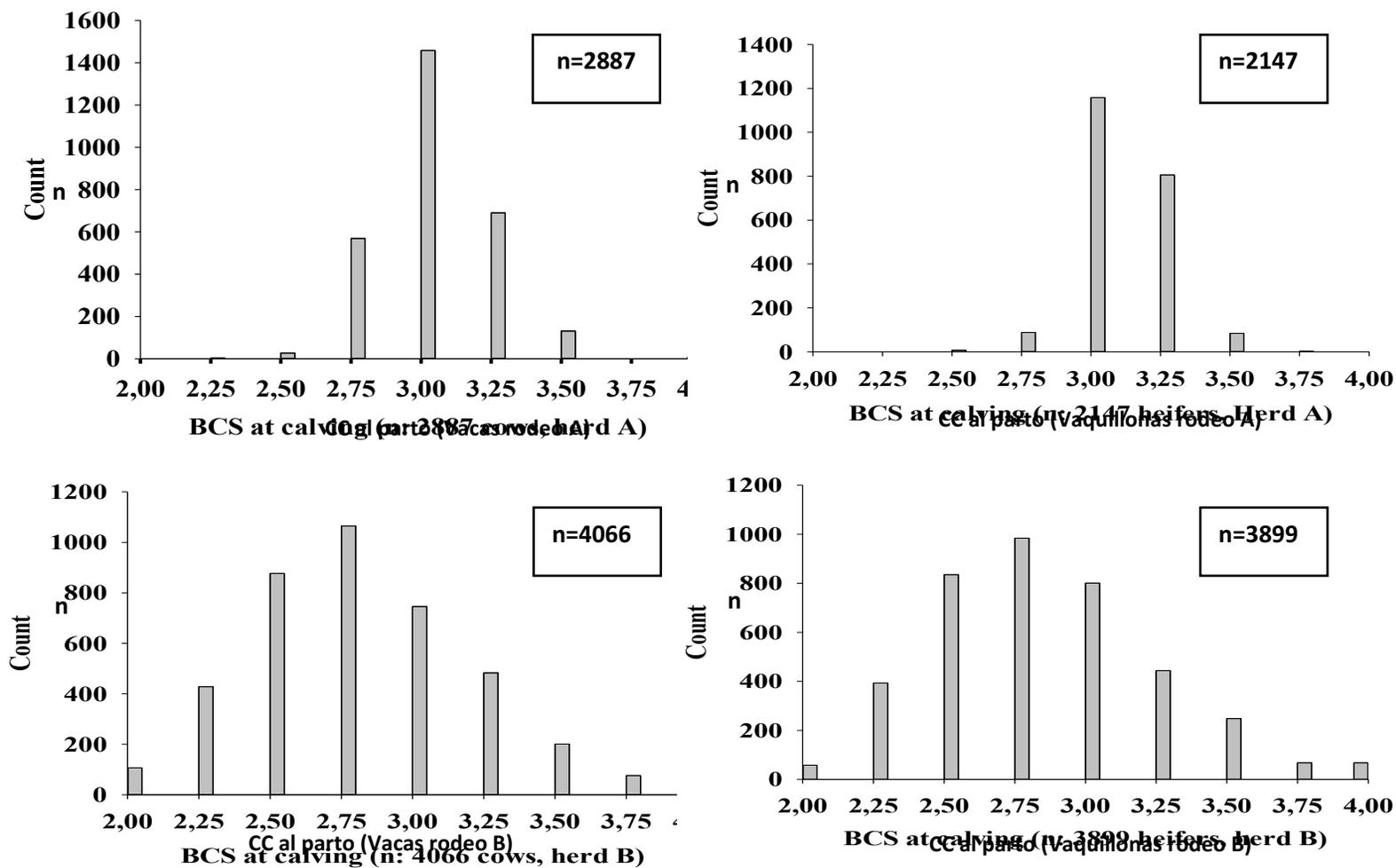
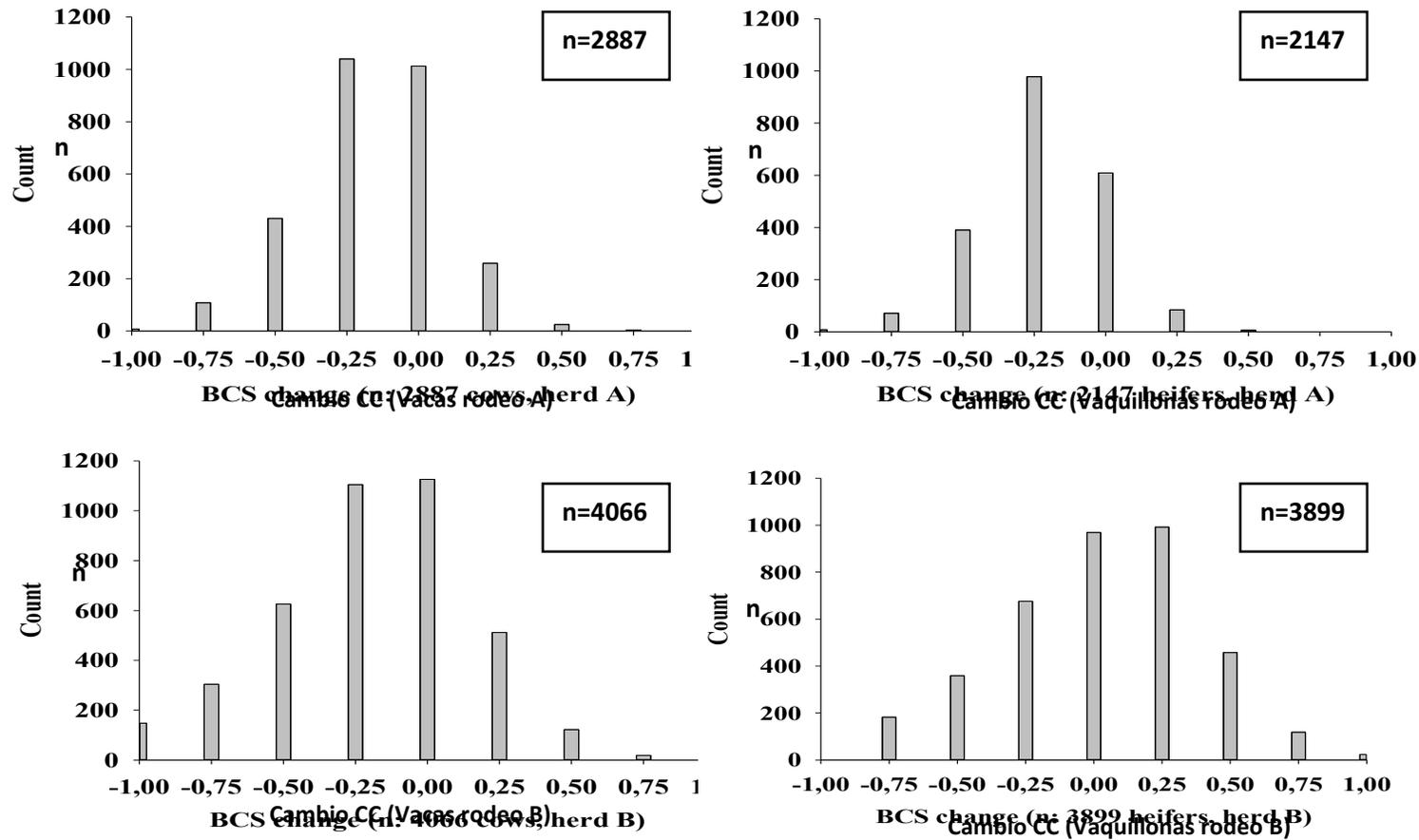


FIGURA 4.2 Histograma de la variación de las condiciones corporales entre el parto y 40 - 60 días post parto, por categoría de parición, en dos rodeos lecheros localizados en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Rodeo A: Vaquillonas (n=2.147) Vacas(n=2.887); Rodeo B: Vaquillonas (n=3.899) Vacas (n=4.066)



También se construyeron indicadores dicotómicos con los registros de los eventos de salud (anestros antes de los 50 DEL; metritis; mastitis clínica antes de los 50 DEL) y reproductivos (IA a los 80 DEL [IA80] y preñez a los 100 DEL [PRE100]). Se ajustaron modelos de regresión logística (modelo 4.1), estratificados por rodeos y grupos de parición, para estimar la asociación entre los indicadores de condición corporal a nivel de las vacas y el riesgo de padecer los eventos de interés previamente mencionados.

Modelo 4.1

$$RPV \logit(\widehat{EVENTO}_{RPV}) = \gamma_0 RP + \gamma_1 CC_P_{RPV} + \gamma_2 \Delta CC_{RPV} + \gamma_4 AÑO_{RPV} + \gamma_5 ESTACIÓN_{RPV} + \gamma_6 CATEGORÍA_{RPV} + E_{RPV}$$

con CC_P y ΔCC como predictores fijos y controlados por el año de parición (2014 a 2017), la estación de parto [verano (21 de diciembre - 20 de marzo), otoño (21 de marzo - 20 de junio), invierno (21 de junio - 20 de septiembre) y primavera (21 de septiembre - 20 de diciembre)], y el número de parición (2, 3, ≥4) solo en el estrato de las VACAS. También se ajustaron modelos de regresión lineal (modelo 4.2), estratificados por rodeos y grupos de parición, para explicar la variabilidad en la producción individual de leche al primer control lechero (30 – 40 DEL). En estos modelos lineales se utilizaron los mismos predictores fijos descriptos para los modelos logísticos y, además, se ajustaron por los DEL y DEL².

Modelo 4.2

$$\widehat{LECHE}_{RPV} = \gamma_0 RP + \gamma_1 CC_P_{RPV} + \gamma_2 \Delta CC_{RPV} + \gamma_3 AÑO_{RPV} + \gamma_4 DEL_{RPV} + \gamma_5 DEL^2_{RPV} + \gamma_7 ESTACIÓN_{RPV} + \gamma_8 CATEGORÍA_{RPV} + E_{RPV}$$

Luego, se definieron cohortes de vacas en función de los períodos de partos cada 21 días durante todo el estudio para los dos rodeos y para los distintos grupos de parición. Se estimó la frecuencia de vacas con $CC_P < 3$ (modelo 4.3) y de vacas con $CC_P < 3$ o $\Delta CC < -0.5$ (modelo 4.4) en cada cohorte de 21 días, las cuales fueron utilizadas para calcular las medidas de posición durante todo el estudio (cuartiles 1, 2 y 3). Se utilizaron los valores de los cuartiles, de a uno a la vez, como punto de corte que dicotomice las cohortes en función de los indicadores de condición corporal (por arriba o por debajo del punto de corte) y estos últimos se emplearon para predecir una

Modelo 4.3

$$\text{logit}(\widehat{MEDIANA}(ANESTRO)_{RP}) = \gamma_{0RP} + \gamma_1 \text{QUARTIL}(CC_P)_{RP} + E_{RP}$$

frecuencia alta de anestos (se dicotomizó cada cohorte de 21 días en función de la mediana de frecuencia de anestro de todo el período de estudio).

Luego se estimaron la sensibilidad (Se), la especificidad (Sp), el área bajo la curva (ABC) y el odds ratios (OR) para cada punto de corte en ambos modelos (Proc Logistic, SAS 9.4). Como criterio de selección del punto de corte, a nivel del rodeo y en cada uno de los estratos, se eligió el que tenía el valor de ABC más alto (Greiner y col.,2000).

Modelo 4.4

$$\text{logit}(\widehat{MEDIANA}(ANESTRO)_{RP}) = \gamma_{0RP} + \gamma_1 \text{QUARTIL}(CC_P/\Delta CC)_{RP} + E_{RP}$$

Por otro lado, se estimó la fracción atribuible poblacional (FAp) de la tasa de anestro a los dos indicadores de condición corporal previamente descritos, en cada cohorte de 21 días, para cada estrato de parición de cada rodeo. Este parámetro estima la reducción esperable en la tasa de

anestros si ninguna vaca tuviera $CC_P < 3$ o $\Delta CC < -0.5$ (se asume una relación causal entre variables, Dohoo y col., 2009). Se usó la siguiente fórmula para estimar la FAp:

$$FA_p = pe \left(\frac{RRa - 1}{RRa} \right)$$

Donde “pe” es la proporción de anestros en la población expuesta a una $CC_P < 3$ o $\Delta CC < -0.5$, y “RRa” es el riesgo relativo ajustado.

En cada una de las cohortes de 21 días se estimó el RRa por medio de un modelo de regresión logística a nivel de las vacas (Modelo 4.5), estratificado por estrato de parición y rodeo, que explica la tasa de anestro basándose en los predictores categóricos de condición corporal ($CC_P < 3$ o $\Delta CC < -0.5$; si/no), ajustados por año de parto y por categoría de parto (solamente en el grupo de las VACAS).

Modelo 4.5

$$\text{logit}(\widehat{ANESTRO}_{RPV}) = \gamma_0_{RP} + \gamma_1 CC_P \text{ o } \Delta CC_{RPV} + \gamma_2 AÑO_{RPV} + \gamma_3 CATEGORÍA_{RPV} + E_{RPV}$$

RESULTADOS

En la Tabla 4.1 se presenta la asociación entre los indicadores de CC (p.ej.: CC_P y ΔCC) y los indicadores reproductivos y de salud evaluados a nivel de la vaca. En todas las categorías de parición de ambos rodeos se observó que, mejores valores en los indicadores de condición corporal

se asociaron con menores riesgos de anestro o de metritis y con mayor chance de inseminación antes de los 80 DEL o de alcanzar la preñez antes de los 100 DEL. Además, se encontró un tamaño de efecto mayor para la CC al parto que para la variación en la CC, y que ambos parámetros fueron muy similares entre rodeos y categorías de parición. Se observaron diferencias entre rodeos con respecto a la relación entre los indicadores de condición corporal y la producción de leche al primer control lechero, puesto que en el rodeo A se detectó una relación positiva entre la CC al parto y la producción en ambas categorías de parición (la asociación no es estadísticamente significativa en vaquillonas), mientras que en el rodeo B no se detectó ninguna asociación. Por otro lado, el cambio de condición corporal se asoció negativamente con la producción al primer control en las vacas de ambos rodeos, pero solamente en las vaquillonas del rodeo B. En el caso de la mastitis no se encontró asociación con ninguno de los indicadores de condición corporal.

Tabla 4.1 Modelos logísticos multivariados que explican las chances de metritis antes de los 21 DEL, de anestro y de mastitis hasta los 50 DEL, de haber recibido una IA antes de los 80 DEL (IA80) y de preñez a los 100 DEL (PRE100).de También se muestra el modelo lineal que explica la producción de leche al primer control lechero (30 – 40 DEL). Los modelos fueron estratificados por categoría de parición y por rodeo.

Rodeo	Categoría	Predictor	Anestro ¹ OR ² (95% IC) ³	PRE100 ¹ OR ² (95% IC) ³	IA80 ¹ OR ² (95% IC) ³	Mastitis ¹ OR ² (95% IC) ³	Metritis ¹ OR ² (95% IC) ³	Leche ¹ (EE) ⁴
A	Vaquillonas (n=2.147)	CBC	0.072(0.044 – 0.119)	2.353(1.625 – 3.407)	4.477(3.110 – 6.444)	1.115(0.599 – 2.073)	0.313(0.205 – 0.477)	1.334(0.820)
		ΔBC	0.356(0.300 – 0.422)	1.489(1.306 – 1.698)	1.892(1.659 – 2.157)	0.746(0.598 – 0.929)	0.603(0.520 – 0.700)	0.177(0.576)
	Vacas (n=2.887)	CBC	0.054(0.035 – 0.083)	1.666(1.298 – 2.138)	3.088(2.371 – 4.022)	0.956(0.700 – 1.304)	0.404(0.311 – 0.526)	2.586(0.799) *
		ΔBC	0.326(0.275 – 0.385)	1.425(1.277 – 1.591)	1.723(1.541 – 1.927)	0.943(0.827 – 1.075)	0.686(0.615 – 0.764)	-2.529(0.675) *
B	Vaquillonas (n=3.899)	CBC	0.133(0.109 – 0.163)	2.018(1.761 – 2.312)	3.080(2.654 – 3.575)	0.904(0.794 – 1.030)	0.828(0.695 – 0.986)	-0.679(0.414)
		ΔBC	0.412(0.375 – 0.454)	1.318(1.234 – 1.408)	1.617(1.505 – 1.736)	1.015(0.952 – 1.082)	0.831(0.763 – 0.906)	-2.241(0.406) *
	Vacas (n=4.066)	CBC	0.121(0.098 – 0.149)	1.422(1.250 – 1.618)	2.197(1.944 – 2.483)	0.968(0.867 – 1.082)	0.666(0.561 – 0.792)	-0.006(0.462)
		ΔBC	0.373(0.335 – 0.415)	1.133(1.060 – 1.212)	1.424(1.335 – 1.519)	0.998(0.941 – 1.057)	0.704(0.451 – 1.100)	-1.455(0.486) *

¹Los modelos fueron controlados por el año de parición (2014 a 2017), estación de parición [Verano (21 Dic a 20 Mar), Otoño (21 Mar a 20 Jun), Invierno (21 Jun a 20 Sep) y primavera (21 Sep a 20 Dic)], y también por número de parición en el estrato de las vacas (2,3 y ≥4). Los resultados de los años de parición (P<0.001), estación de parición (P <0.001), y numero de parición (P <0.001) no son reportados en la tabla 4.1.

²OR: Odds ratio estimado con Proc Glimmix de SAS;

³95%IC: intervalo de confianza del 95%;

⁴Estimación de los mínimos cuadrados (error estándar);

*P<0.001

El modelo predictivo de la tasa de anestros (modelo 4.3), en cohortes de partos de 21 días de duración, mostró que el cuartil 3 representa el mejor punto de corte para las vacas de los dos rodeos. Por lo tanto, para la categoría vacas, en el rodeo A, las cohortes que tienen más del 14% de las vacas flacas al parto ($CC_P < 3$) o, en el rodeo B, las cohortes que tienen más del 53% de las vacas flacas al parto, poseen un mayor riesgo de tener una alta tasa de anestro (superior a la mediana poblacional). Para la categoría vaquillona se definió como punto de corte al cuartil 1 en el rodeo A ($Q75; [\%CC_P < 3] = 6.25\%$) y al cuartil 3 para el rodeo B ($Q25; [\%CC_P < 3] = 45\%$). En la tabla 4.2 se muestran los valores de Se, Sp y ABC para estos puntos de corte. Se observa que la frecuencia de vacas con baja CC al parto tiene una pobre capacidad predictiva de la tasa de anestro en los dos rodeos y categorías de parición, puesto que el ABC va de 0.540 a 0.613. A su vez, cuando se utilizó la frecuencia de individuos con alta pérdida de CC postparto junto con la baja CC al parto para definir el punto de corte del rodeo (modelo 4.4) la capacidad predictiva aumentó marginalmente, debido a que el ABC varió entre 0.574 y 0.679 (Tabla 4.3).

Tabla 4.2 Estimación de la sensibilidad (Se) y de la especificidad (Sp), del área bajo la curva (ABC), de los odds ratios (OR) y del punto de corte de la frecuencia de vacas con baja condición corporal al parto (CC_P<3), como predictor de las tasas anestro por encima de la mediana poblacional, en los diferentes rodeos y categorías de parición.

RODEO	CATEGORIA	PUNTO DE CORTE DEL RODEO [QUARTIL, (PORCENTAJE)]*	Se	Sp	ABC	OR (IC 95%)
A	Vaquillonas ¹	Q75(6.25%)	30.7%	81%	0.558	0.520 (0.130 – 2.086)
	Vacas ²	Q25(14%)	78%	29%	0.540	0.640 (0.200 – 2.000)
B	Vaquillonas ³	Q25(45%)	86.6%	36%	0.613	0.272 (0.071 – 1.036)
	Vacas ⁴	Q25(53%)	81%	30%	0.555	0.544 (0.151 – 1.932)

* Punto de corte de la frecuencia de animales con CC_P< 3, definidos en cuartiles (porcentajes) de las cohortes de 21 días.

¹ Mediana de vaquillonas por cohorte en el rodeo A=35 (rango inter-cuartil = 21 – 52; cohorte N = 47)

² Mediana de vacas por cohorte en el rodeo A =47 (rango inter-cuartil = 36 – 61; cohorte N = 62)

³ Mediana de vaquillonas por cohorte en el rodeo B = 67 (rango inter-cuartil = 57 – 83; cohorte N = 55)

⁴ Mediana de vacas por cohorte en el rodeo B = 76 (rango inter-cuartil = 62 – 94; cohorte N = 54)

Tabla 4.3 Estimación de la sensibilidad (Se) y de la especificidad (Sp), del área bajo la curva (ABC) y de los odds ratios (OR), del punto de corte de la frecuencia de vacas con baja condición corporal al parto ($CC_P < 3$) o alta pérdida de condición corporal hasta los 30 – 40 DEL ($\Delta CC > -0.5$) como predictor de las tasas anestro por encima de la mediana poblacional, en los diferentes rodeos y categorías de parición.

RODEO	CATEGORIA	PUNTO DE CORTE DEL RODEO [QUARTIL, (PORCENTAJE)]*	SE	ES	ABC	OR (IC 95%)
A	Vaquillonas ¹	Q50 (6%)	69.2%	66.6%	0.679	0.220 (0.065 – 0.761)
	Vacas ²	Q25(20%)	81.5%	33.3%	0.574	0.452 (0.139 – 1.470)
B	Vaquillonas ³	Q50(74%)	66%	68%	0.673	0.250 (0.076 – 0.730)
	Vacas ⁴	Q75(78%)	37%	85%	0.611	0.290 (0.079 – 1.105)

* Punto de corte de la frecuencia de animales con $CC_P < 3$ o $\Delta CC < -0.5$, definidos en cuartiles (porcentajes) de las cohortes de 21 días.

¹ Mediana de vaquillonas por cohorte en el rodeo A=35 (rango inter-quartil = 21 – 52; cohorte N = 47)

² Mediana de vacas por cohorte en el rodeo A =47 (rango inter-quartil = 36 – 61; cohorte N = 62)

³ Mediana de vaquillonas por cohorte en el rodeo B = 67 (rango inter-quartil = 57 – 83; cohorte N = 55)

⁴ Mediana de vacas por cohorte en el rodeo B = 76 (rango inter-quartil = 62 – 94; cohorte N = 54)

La Figura 4.2 muestra la tasa de anestro cada 21 días para cada rodeo y estrato de parición junto con la FAp de la tasa de anestro debida a la CC al parto y a la pérdida de CC postparto. A partir de esta descripción gráfica se podría decir que la tasa de anestro del rodeo B es mayor que la del rodeo A para ambos estratos de parición, puesto que la mediana de la tasa de anestro en vaquillonas es de 9.4% en el rodeo A y de 15.7% en el rodeo B; y la mediana de la tasa de anestro en las vacas es de 11.6% en el rodeo A y de 20.7% en el rodeo B. Además, se observa mayor variabilidad en las vaquillonas que en las vacas puesto que los rangos inter-cuartiles (RIQ) fueron de 12.9% y 18.9% y de 7% y 10.9% en los rodeos A y B, respectivamente. Por lo tanto, resulta más fácil definir un pico de anestro en las vacas que en las vaquillonas. Además, se observa que la mayoría de los picos de anestros (más del 25% en vacas del rodeo A o más del 30% en vacas del rodeo B) se relacionaron con una disminución de la FAp.

Figura 4.3 Tasa de anestro y fracción atribuible poblacional a la baja condición corporal al parto, por cohortes de 21 días, por categoría de parición, en un rodeo (Rodeo A) lechero localizados en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Vaquillonas (n=2.147) y vacas (n=2.887);

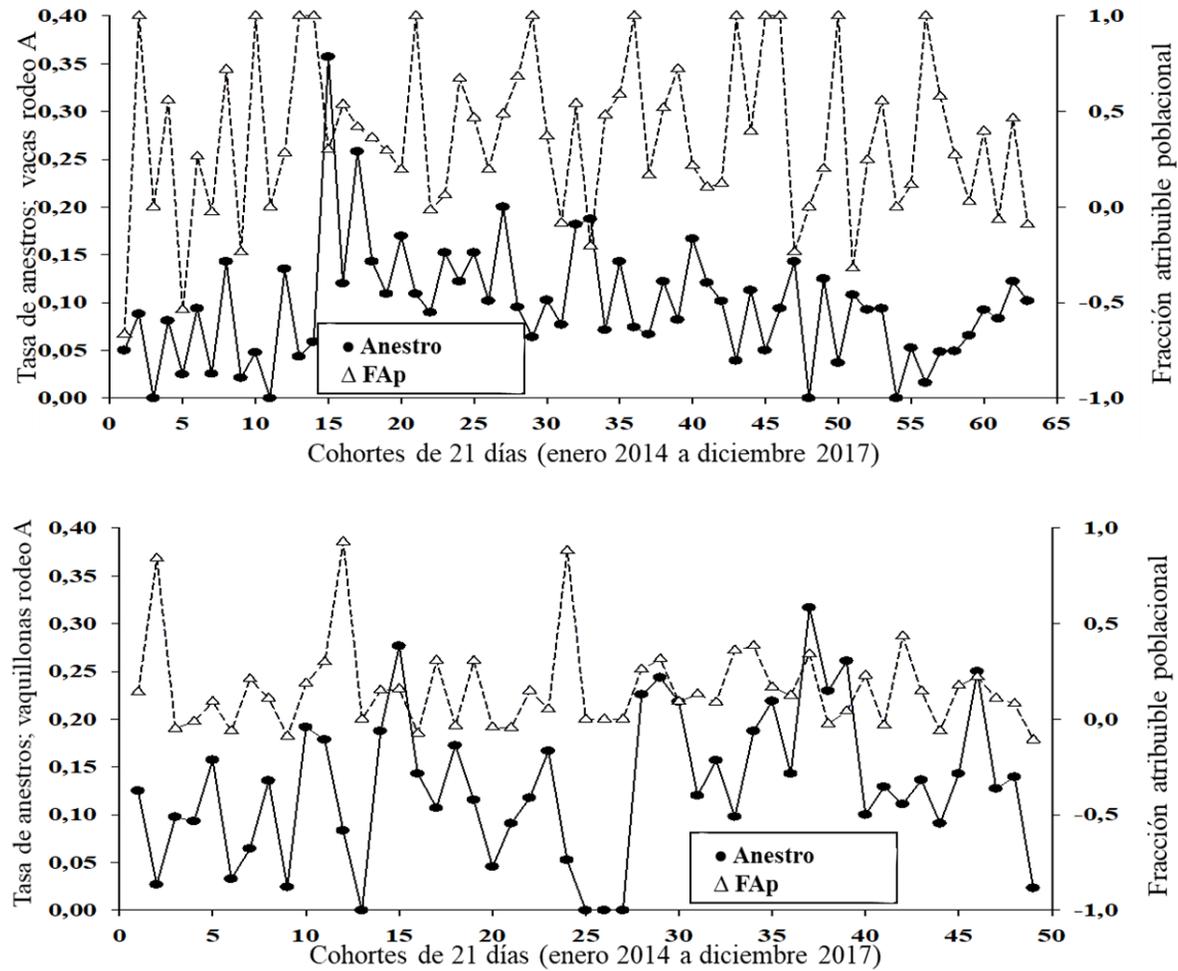
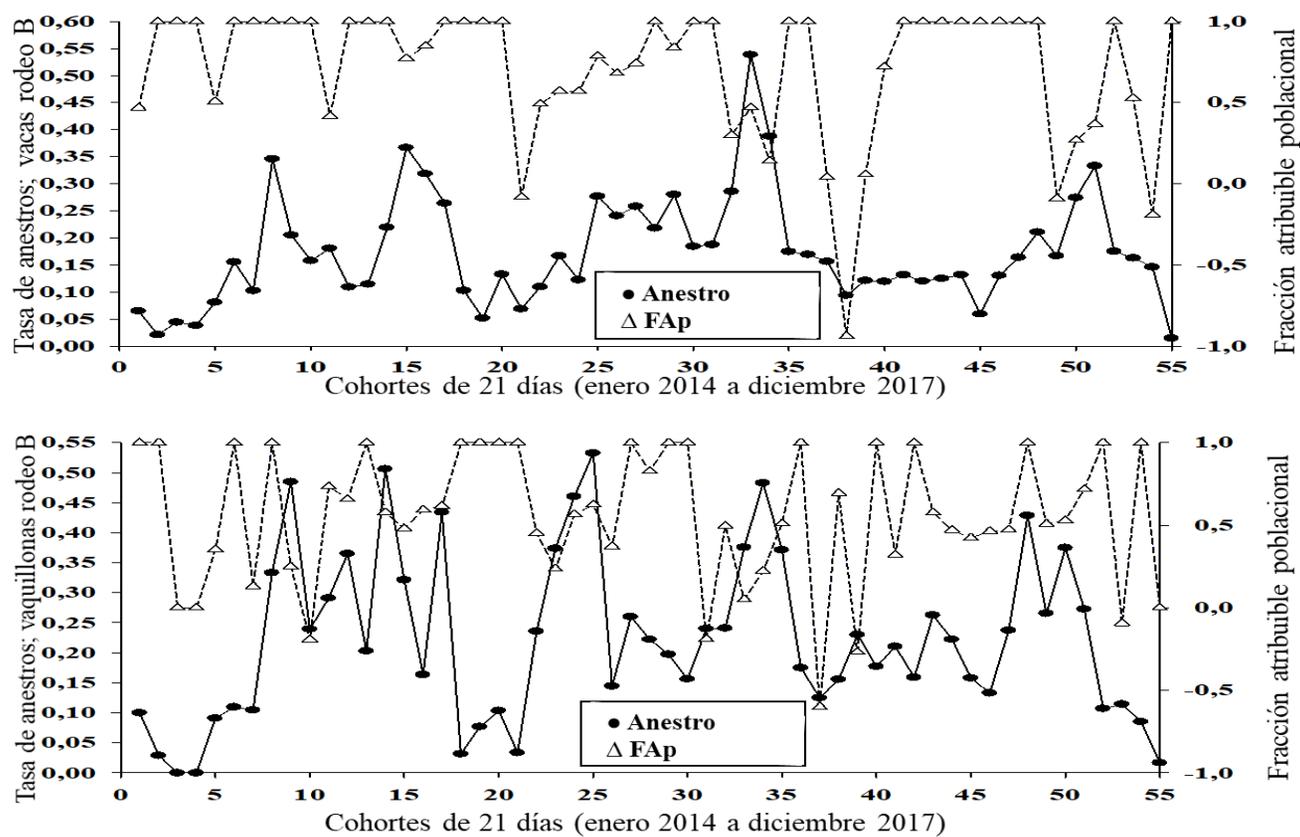


Figura 4.4 Tasa de anestro y fracción atribuible poblacional a la baja condición corporal al parto, por cohortes de 21 días, por categoría de parición, en un rodeo (Rodeo B) lechero localizado en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Vaquillonas (n=3.899) Vacas (n=4.066)



DISCUSIÓN

Los resultados de la asociación entre los indicadores de CC (CC_P y Δ CC) y la producción de leche, la salud y el desempeño reproductivo, estimadas a nivel de la vaca concuerdan con la bibliografía previa (Roche y col., 2009; Carvalho y col., 2014; Bedere y col., 2018; Grigera y col., 2007), que indican cuando las vacas no cubren sus requerimientos energéticos al inicio de la lactancia, se retrasa el restablecimiento de la ciclicidad postparto y, a su vez, se incrementa el riesgo de enfermedades como la metritis. Esto, explicaría el deterioro observado en los indicadores reproductivos como la IA80 y la PRE100. Además, estas medidas de asociación son muy similares en las diferentes categorías de parición (a excepción de la producción al primer control lechero), a pesar de existir diferencias marcadas, entre rodeos y entre categorías de parición, en la distribución de frecuencia de los indicadores tanto de condición corporal como de eficiencia reproductiva. Estos resultados concuerdan con la teoría propuesta de que independientemente del nivel de reservas corporales que tengan las vacas al parto, retornan a un nivel predeterminado de engrasamiento corporal durante el postparto (Friggens y col., 2003); es decir, que las que paren con excesiva condición movilizan más cantidad de grasa y las que paren con menos reservas movilizan menor cantidad de grasa. Por lo tanto, ambos grupos tienden a converger durante el postparto. Entonces, en el rodeo A, donde la CC al parto media es de 3,00 (Figura 4.1), las vacas con mayor CC_P movilizarían una mayor cantidad de grasa corporal después del parto para soportar una alta producción de leche, mientras que, por el contrario, en el rodeo B, donde la CC al parto media es de 2,75, las vacas movilizarían menos reservas corporales para soportar la producción de leche. Es importante mencionar que en el presente estudio, a diferencia de la bibliografía citada, se evaluó, a nivel de la vaca, tanto la dirección como el tamaño de efecto de las asociaciones para identificar los resultados productivos que podrían monitorearse más

eficientemente a nivel del rodeo y no para determinar el modelo causal con precisión, puesto que los indicadores de condición corporal se expresan en escalas diferentes, lo que no permite comparar entre las distintas estimaciones de los riesgos relativos. De igual manera, no se evaluó la existencia de factores intermediarios (o de confusión), ni de relaciones no lineales entre los predictores.

Con relación al análisis de cohortes de partos cada 21 días, las medidas de posición que se definieron como punto de corte a nivel del rodeo mostraron poca capacidad predictiva de la tasa de anestro en todos los estratos, con un ABC de 0.540 a 0.613 cuando usábamos la agregación de la CC al parto como predictor y de 0.574 a 0.673 cuando empleábamos la agregación de la CC al parto y del cambio de CC postparto como predictores (Tabla 4.2 y 4.3). Otro resultado a resaltar es que, incluso con una capacidad predictiva modesta, la asociación entre estos predictores y la tasa de anestro es fuerte, puesto que los OR variaron de 0.272 a 0.640 cuando el predictor era la frecuencia de CC al parto y de 0.220 a 0.452 cuando los predictores eran la frecuencia de CC al parto y el cambio de CC postparto. Por lo tanto, la falta de capacidad predictiva de los indicadores de CC agregados en cohortes de vacas pone de manifiesto la estructura multicausal de la frecuencia de anestros, lo que nos permite proponer a la descripción gráfica de las medidas de impacto como una herramienta válida para monitorear el desempeño sanitario a nivel del rodeo. De modo que, podría decirse que en el rodeo A (Figura 4.2), alrededor de 50 a 60% de los eventos de anestro podrían haberse evitados si ninguna vaca hubiera tenido malos indicadores de condición corporal (Dohoo y col., 2009). Además, podría decirse que la FAp disminuye cuando la incidencia de anestro es alta (tiene un pico). Esto último, sugiere que otros factores podrían explicar esa alta incidencia de anestro. En el caso del rodeo B, valores pobres en los indicadores de condición corporal explicarían la mayor parte de los eventos de anestro, pero igualmente la FAp también

disminuye a medida que la tasa de anestros aumenta. Cabe mencionar que este último enfoque tiene como principal desventaja el hecho de que no nos permite anticipar o predecir un aumento del riesgo de anestro, pero como contrapartida nos aporta información valiosa para entender las incidencias de anestros observadas.

Este análisis, realizado a nivel de cohortes de vacas, evalúa una de las formas en que se pueden agregar los indicadores de CC medidos en las vacas, con el objetivo de que los responsables de los establecimientos puedan tomar decisiones a nivel del rodeo que impacten positivamente en la salud de las vacas (Mulligan et al., 2006). Este estudio ha sido llevado a cabo longitudinalmente en dos establecimientos lecheros, seleccionados por conveniencia, con similitudes en el sistema de producción y de manejo sanitario y reproductivo, pero con marcadas diferencias de manejo nutricional y de producción de leche, lo cual nos permite explicar las diferencias observadas en la distribución de frecuencia de los indicadores de balance energético. Por lo tanto, el alcance de la inferencia de los parámetros estimados está limitado a estos dos establecimientos, pero, por el contrario, su principal virtud radica en que evalúa cuán útiles son los modelos predictivos y, por lo tanto, permite construir teoría en base a datos recolectados en condiciones de campo particulares. Este último enfoque resulta más consistente en lo referido al monitoreo de los rodeos, que los abordajes previamente planteados por la bibliografía de referencia (Ospina y col., 2010; Chapinal y col., 2011; Dubuc y Denis-Roubichaud, 2017). En los estudios citados, la evaluación de las diferentes formas de agregación de las observaciones realizadas en las vacas, eran elaboradas ignorando las frecuencias históricas de los eventos analizados en las poblaciones objetivos. Es decir, en estos estudios se agregaron las observaciones de los indicadores de balance energético (AGNE y BHB) realizadas transversalmente en vacas provenientes de diferentes rodeos; luego, estos indicadores se usaron para definir el punto de corte de la frecuencia de vacas con CC

subóptimos, en función de su capacidad explicativa de las incidencias de enfermedades en las cohortes de vacas de los diferentes rodeos. La ventaja del presente estudio radica en que el diseño longitudinal permite que, en cada punto de corte a evaluar, las cohortes utilizadas como referencia sean definidas en el mismo rodeo, lo que mejora la asunción de que no hay otras variables a nivel de rodeo que sesguen las predicciones realizadas (Rothman y col., 2018).

Otro aspecto a tener en cuenta es que en los estudios de referencia citados, los puntos de cortes poblacionales se estimaron a partir del valor de la frecuencia que más fuertemente se asociaba a la frecuencia de un resultado productivo (principalmente la tasa de eventos sanitarios o reproductivos); es decir, que presentaba el menor valor de P (de concluir que las frecuencias están asociadas cuando en realidad no lo están), pero no reportaron ningún dato del poder predictivo de esos puntos de corte usados (Ospina y col., 2010; Chapinal y col., 2011). Por lo tanto, otra de las ventajas del presente trabajo radica en que los puntos de corte poblacional se definieron y evaluaron en función de su capacidad predictiva y no de su capacidad explicativa. Según Smuegli (2010) *“los modelos predictivos tienen ventajas en términos de empirismo negativo: un modelo predice correctamente o no lo hace, y eso puede ser observado. En contraste los modelos explicativos nunca pueden ser confirmados y son difíciles de contradecir”*. Tener en cuenta esta observación es de importancia para la interpretación práctica de los resultados de este tipo de estudio epidemiológico. Por ejemplo, si nosotros utilizáramos los valores propuestos por Dairy New Zealand, 2019 o Dairy Australia, 2017, como referencias de las frecuencias de indicadores de CC ($CC_{P<3} = 15\%$) para estos dos establecimientos en particular, su capacidad predictiva de las tasas de anestro prácticamente resultaría no informativo, ya que la mayoría de las cohortes en estos dos establecimientos sobrepasan estos valores de referencia.

Se sabe que los factores que determinan la capacidad predictiva de los modelos a nivel poblacional son el punto de corte poblacional, la prevalencia verdadera del evento de interés, la Se y la Sp del test diagnóstico a nivel individual y el número de individuos a incluir en el análisis (Jordan y McEwen, 1998). Incluso, se han desarrollado programas de simulación con algoritmos basados en los factores descritos que permiten realizar de una manera relativamente sencilla análisis predictivos complejos (Austev). En el estudio de Ospina (2013), la sensibilidad a nivel del rodeo fue estimada a partir de simulaciones, usando el punto de corte del rodeo definido en estudios previos (15%; Ospina y col., 2010), asumiendo cinco valores diferentes de la prevalencia real (de 0.2 a 0.6, con incrementos de 0.1), tres valores diferentes de Se del test diagnóstico a nivel de las vacas (44%, 78% y 96%), una Sp del 95% en todos los casos y dos valores diferentes del tamaño de la muestra ($n= 20$ y 35). Como es de esperar, cuando la prevalencia real y la sensibilidad del test diagnóstico a nivel de la vaca varían de 27% hasta 100%, con 20 vacas, se predice un amplio rango de sensibilidad a nivel del rodeo. Esa simulación ayuda a interpretar la falta de capacidad predictiva de los modelos planteados en este trabajo, puesto que se observó mucha variabilidad en la capacidad diagnóstica de los indicadores de CC a nivel de la vaca, que se manifiesta con una amplia variación de los RRA calculados por cohorte (determinantes del FAp) y, además, se observó una gran variación en la tasa de anestros. Además, es importante remarcar que en el estudio de Ospina (2013) no se reporta la especificidad a nivel del rodeo, a pesar de que el equilibrio entre Se y Sp a nivel del rodeo debe ser considerado, puesto que como observamos en las tablas 4.2 y 4.3, cuando el punto de corte se define en el cuartil alto, la Se aumenta en detrimento de la Sp. Esto implica que la chance de detectar cohortes con alta frecuencia de anestros aumentaría, pero, estas “alarmas” se activarían constantemente, lo que hace que esta herramienta pierda utilidad práctica. Estos resultados ponen en evidencia la falta de consistencia de las estrategias de monitoreo

poblacional basados en la definición de puntos de cortes; estas estrategias tienen la ventaja de ser fáciles de aplicar por parte de los asesores técnicos, ya que solo deben construir indicadores desde una perspectiva descriptiva, pero que poco informan del posible impacto que tendrían las intervenciones a realizar sobre los indicadores de interés; es por esto que las estrategias de monitoreo poblacional, utilizando un enfoque descriptivo, basadas en indicadores epidemiológicos de fuerza de asociación (RR) y de potencial de impacto (FAP) aportarían a un mejor entendimiento de los resultados sanitarios observados en una población de vacas en particular y de lo que se puede esperar de las posibles intervenciones a realizarse en un determinado rodeo.

Por último, cabe remarcar que se ha visto que las intervenciones tendientes a reducir el estrés metabólico que implica la nueva lactancia deberían realizarse entre el secado y el nuevo parto para que sean más efectivas (Wisniesky y col., 2019a). En este sentido, el uso de indicadores de CC como predictores de enfermedades de la “transición” implica un enfoque retrospectivo, debido a que el lapso de tiempo entre que se identifica una vaca o una cohorte de vacas en riesgo de enfermarse y el momento en que ocurre la enfermedad es muy breve, e incluso el balance energético postparto, se encuentran determinados por las condiciones nutricionales durante el periodo preparto. Vale la pena comentar los estudios prospectivos de Wisniesky (2019a, b, c), que incluyen dieciocho cohortes de vacas (n vacas=277; n rodeos=5; 2 a 4 cohortes por rodeo) y que usaron modelos predictivos con biomarcadores de la inflamación, del estrés oxidativo y del metabolismo nutricional durante el periodo de secado de las vacas, como predictores de enfermedades de la transición, tanto a nivel de las vacas como a nivel del rodeo. En estos estudios se reportó que los modelos tienen una alta capacidad predictiva a nivel de las vacas, pero que cuando se agregan los datos individuales a nivel de rodeo la capacidad predictiva es moderadamente aceptable y depende mucho de la tasa de incidencia de las enfermedades

estudiadas. Por lo tanto, esto sugiere que la inclusión de indicadores de condición corporal al momento del secado podría mejorar la estrategia de monitoreo de las enfermedades de la transición a nivel del rodeo.

CONCLUSIONES

Se concluye que, en las vacas lecheras en transición, los indicadores condición corporal se relacionan con los indicadores sanitarios, reproductivos y de producción de leche a nivel de la vaca, pero, cuando estos indicadores de balance energéticos se agregan en cohortes de vacas su capacidad predictiva disminuye. Por tanto, los modelos exploratorios que describen medidas de impacto podrían ser de mayor utilidad cuando el monitoreo de los factores de riesgo de las enfermedades de la producción se centra a nivel poblacional del rodeo.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES

Los objetivos del presente trabajo de tesis fueron estimar en qué magnitud el aumento de producción individual de leche se contrapone con la posibilidad de alcanzar buenos indicadores de fertilidad en rodeos lecheros bajo las condiciones de producción en Argentina; calcular el impacto que tienen los procesos inflamatorios de las ubres, tanto en la producción de leche, como en la reproducción de las vacas lecheras; y, por último, evaluar la importancia del balance energético alrededor del parto en los indicadores productivos, reproductivos y sanitarios, explorando diferentes estrategias de monitoreo poblacional de la condición corporal y su variación durante el posparto.

En el primer estudio de la tesis, el análisis descriptivo mostró que la producción láctea individual aumenta en los años de estudio concomitantemente con una disminución de la tasa de preñez. En la instancia analítica se estimó, por medio de modelos logísticos multinivel, que la asociación entre la producción de leche y la chance de preñez a los 100 DEL a nivel de las vacas, varía en función del nivel de producción del rodeo. Así, la dirección de la asociación fue levemente positiva en rodeos de baja producción y levemente negativa en rodeos de alta producción. Sin embargo, la magnitud de esa asociación entre producción de leche y chance de preñez se mantuvo constante durante todo el estudio. Por lo tanto, podría plantearse que otros factores, no considerados en el análisis, explicarían la reducción de fertilidad observada a través de los años. Además, se observó que los mejores indicadores reproductivos se presentan en los tambos más productivos. Esto último deja en evidencia que es posible alcanzar una alta producción de leche juntamente con una buena fertilidad.

Los resultados de los análisis realizados en el segundo estudio permiten proponer que la relación negativa entre el CCS diario y la producción diaria individual es mayor en las vacas más productivas que en las menos productivas, pero que existe una alta variabilidad entre rodeos en los parámetros estimados. Además, se observó que el CCS es un factor de riesgo asociado al éxito de la IA y que, a su vez, su importancia depende de la severidad del proceso inflamatorio y de la asociación temporal existente entre el evento y la IA.

Por último, los análisis del tercer estudio permiten concluir que, a nivel de la vaca, los indicadores de CC durante el período de transición son buenos predictores del desempeño sanitario, reproductivo y productivo de las vacas. Por el contrario, cuando estos indicadores se agregan en cohortes de vacas, su capacidad predictiva de la frecuencia poblacional de anestro es muy pobre. Además, las medidas de impacto estimadas son indicadores útiles para determinar cuándo y en qué magnitud el balance energético del rodeo explicaría el desempeño sanitario del rodeo.

Por lo tanto, basándose en los resultados obtenidos en los tres estudios que conforman esta tesis podemos concluir que bajo las condiciones de producción de leche en Argentina es posible alcanzar altos niveles productivos al mismo tiempo que se logran buenos indicadores reproductivos, y que la disminuciones en los indicadores de fertilidad observados en los últimos años estarían explicados en gran medida por aquellos otros aspectos variaron concomitantemente con las producciones individuales de leche. También podemos concluir que los procesos inflamatorios de las ubres generan mermas de magnitud importante en la producción de leche y que dependiendo de la severidad del proceso inflamatorio también puede afectarse de forma significativa el desempeño reproductivo. Por último, podemos afirmar que la CC al rededor del parto es un buen predictor de los indicadores productivos y sanitarios, pero que las estrategias de monitoreo poblacional de la CC basados en la definición de valores umbrales tienen una pobre

capacidad predictiva de las incidencias de enfermedades. Por tanto, las estrategias de monitoreo poblacional que se basen en calcular indicadores epidemiológicos de fuerza de asociación y del potencial de impacto resultarían más informativos para los tomadores de decisiones. Un aspecto general sobre el cual podemos extraer conclusiones es acerca de la importancia de considerar la variabilidad existente entre rodeos al evaluar la asociación entre los indicadores productivos y sus factores determinantes. Es así, que la información que arrojan los estudios de investigación epidemiológica como los aquí presentados, deben ser valoradas en función de lo apropiado que resulta la metodología aplicada a las evaluaciones realizadas, ya que, tanto las tendencias como los tamaños de efectos reportados, deben ser considerados como estimadores poblacionales generales. Para que estos parámetros puedan resultar de utilidad a quienes toman decisiones en la práctica de producción lechera diaria, estas herramientas de vigilancia epidemiológica deben ser aplicadas a la realidad de cada rodeo lechero en particular, para que en conjunto con otras fuentes de información puedan establecer de forma robusta y exhaustiva las asociaciones causales que determinan los aspectos más importantes de la producción. Esta conclusión resalta la gran importancia de gestionar correctamente la información productiva que luego permita explicar los resultados obtenidos y/o desarrollar mejores estrategias de intervención productivas.

6. BIBLIOGRAFIA

1. Allison, P. D. 1995. Survival analysis using SAS: A practical guide. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
2. AusVet Animal Health Services. HerdPlus: Calculate SeH and SpH for a single herd. available at: <https://epitools.ausvet.io/herdplusone>. accessed November 11, 2019.
3. Barker, A. R., F. N. Schrick, M. J. Lewis, H. H. Dowlen, and S. P. Oliver. 1998. Influence of clinical mastitis during early lactation on reproductive desempeño of Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 81:1285–1290.
4. Bedere N., Cutullic E., Delaby L., Garcia-Launay F., Disenhaus C. 2018. Meta-analysis of the relationships between reproduction, milk yield and body condition score in dairy cows. *Livestock science.* 210(2018) 73 – 84.
5. Bello N. M., J. P. Steibel, R. J. Erskine, and R. J. Tempelman. 2013. Cows and herds constitute distinct hierarchical levels of heterogeneity in the variability of and association between milk yield and pregnancy outcome in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96:2314–2326.
6. Bello, N., J. S. Stevenson, and R. J. Tempelman. 2012. Invited review: Milk production and reproductive desempeño: Modern interdisciplinary insights into an enduring axiom. *J. Dairy Sci.* 95:5461–5475.
7. Boland, F., L. O’Grady, S.J. More. 2013. Investigating a dilution effect between somatic cell count and milk yield and estimating milk production losses in Irish dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 96:1477–1484.
8. Borucka, J. 2013. [Extensions of Cox model for non-proportional hazards purpose](#). SP07. Phuse Conference 2013. Accessed on Nov 15, 2016 at www.lexjansen.com/phuse/2013/sp/SP07.pdf

9. Butler, W. R. 2003. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 83:211–218.
10. Campbell, M. S., K. Hand, D. F. Kelton, F. Miglior, and S. J. LeBlanc. 2009. The association of level of milk production with reproductive desempeño. *J. Dairy Sci.* 92.E-Suppl. 1:335.
11. Cardoso F. C., LeBlanc S. J., Murphy M. R., and Drackley J. K.. 2013. Prepartum nutritional strategy affects reproductive desempeño in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96 :5859–5871
12. Carvalho P. D. , Souza A. H., Amundson M. C., Hackbart K. S., Fuenzalida M. J., Herlihy M. M., Ayres H., Dresch A. R., Vieira L. M, Guenther J. N., Grummer R. R., Fricke P. M., Shaver R. D., and Wiltbank M. C. 2014. Relationships between fertility and postpartum changes in body condition and body weight in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97 :3666–3683
13. Chapinal N., LeBlanc S. J., Carson M. E., Leslie K. E., Godden S., Capel M., Santos J. E. P. 2012. Herd-level association of serum metabolites in the transition period with disease, milk production, and early lactation reproductive desempeño. *J. Dairy Sci.* *J. Dairy Sci.* 95:5676–5682
14. Chebel, R. C., J. E. P. Santos, J. P. Reynolds, R. L. A. Cerri, S. O. Juchem, and M. Overton. 2004. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 84:239–255.
15. Cook J. G., M. J. Green. 2016. Use of early lactation milk recording data to predict the calving to conception interval in dairy herds. *J. Dairy Sci.* 99:1–8.
16. Dairy Australia. 2017. InCalf book for dairy farmers 2nd edition.
17. Dairy New Zealand. 2019. The InCalf Book for New Zealand dairy farmers 2nd edition.
18. De Vries A. 2006. Economic Value of Pregnancy in Dairy Cattle *J. Dairy Sci.* 89:3876–3885

19. Dohoo I., Martin W., Stryhn H.(eds). 2009. Measures of association, chapter 6; Introduction to clustered data, Chapter 20. Veterinary Epidemiologic Research. AVC Inc., Charlottetown (pg. 139 – 152 and 563-576)
20. Dubuc J. and Denis-Robichaud J. 2017. A dairy herd-level study of postpartum diseases and their association with reproductive desempeño and culling. *J. Dairy Sci.* 100:1–11
21. Durr, J. W., R. I. Cue, H. G. Monardes, J. Moro-Mendez, and K. M. Wade. 2008. Milk losses associated with somatic cell counts per breed, parity and stage of lactation in Canadian dairy cattle. *Livest. Sci.* 117:225–232.
22. Eastwood CR, DF Chapman. Networks of practice for co-construction of agricultural decision support systems: Case studies of precision dairy farms in Australia *Paine Agricultural Systems* 108 (2012) 10–18.
23. Eicker, S. W., Y. T. Grohn, J. A. Hertl. 1996. The association between cumulative milk yield, days open, and days to first breeding in New York Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 79:235–241.
24. FAO. 2005. Global Dairy Sector: Status and Trends. Accessed on Sep 15, 2016 at: <http://www.fao.org/docrep/012/i1522e/i1522e02.pdf>
25. Ferguson J.D, Galligan D.T., Thomsen N.1994. Principal Descriptors of Body Condition Score in Holstein Cows. *J. Dairy Sci.* 77: 2695-2703
26. Ferguson, J. D., and D. T. Galligan. 1999. Veterinary reproductive programs. Pages 133–137 422 in Proc. 32nd Annual Convention of the American Association of Bovine Practitioners 423 (AABP), Nashville, TN. AABP, Opelika, AL.
27. Friggens N.C. 2003. Body lipid reserves and the reproductive cycle: towards a better understanding. *Livestock Production Science.* 83(2–3): 219-236

28. Fuenzalida, M. J., P. M. Fricke, and P. L. Ruegg. 2015. The association between occurrence and severity of subclinical and clinical mastitis on pregnancies per artificial insemination at first service of Holstein cows. *J.Dairy Sci.* 98:3791–3805.
29. Furman O., G. Leitner, Z. Roth, Y. Lavon , S. Jacoby, and D. Wolfenson. 2014. Experimental model of toxin-induced subclinical mastitis and its effect on disruption of follicular function in cows. *Theriogenology* 82 :1165–1172.
30. Giordano, J. O., A. S. Kalantari, P. M. Fricke, M. C. Wiltbank, and V. E. Cabrera. 2012. A 433 daily Markov chain model to study the economic and reproductive impact of reproductive 434 programs combining timed artificial insemination and estrus detection. *J. Dairy Sci.* 95: 435 5442-5460.
31. Giuliadori M.J., Magnasco R.P., Becu-Villalobos D., Lacau-Mengido I.M., Risco C.A, de la Sota R.L. 2012. Clinical endometritis in an Argentinean herd of dairy cows: Risk factors and reproductive efficiency. *J. Dairy Sci.* 96:210–218.
32. Giuliadori MJ, Delavaud C, Chilliard Y, Becu-Villalobos D, Lacau-Mengido IM, de La Sota RL.2011. High AGNE concentrations around parturition are associated with delayed ovulations in grazing dairy cows. *Livestock Science* 2011; 141:123-128.
33. Giuliadori, M. J., R. P. Magnasco, D. Becu-Villalobos, I. M. Lacau-Mengido, C. A. Risco, and R. L. de la Sota. 2013. Metritis in dairy cows: Risk factors and reproductive desempeño. *J. Dairy. Sci.* 96:3621–3631.
34. Green, M. J., P. R. Burton, L. E. Green, Y. H. Schukken, A. J. Bradley, E. J. Peeler, G. F. Medley. 2004.The use of Markov chain Monte Carlo for analysis of correlated binary data: patterns of somatic cells in milk and the risk of clinical mastitis in dairy cows. *Prev. Vet. Med.* 64:157-74.

35. Grigera, J; Busso Vanrell, F.; Bargo, F.; Corbellini, C.N. – 2007 – Effect of Body Condition Score at Calving on Production and Reproduction performance in Dairy Herds in Argentina, *J. Dairy Sci.*, 90 (Suppl 1): 229.
36. Greiner M., Pfeiffer D., Smith R.D. 2000. Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. *Prev Vet Med.* 45(1-2):23-41.
37. Grohn, Y. T., P. J. Rajala-Schultz. 2000. Epidemiology of reproductive desempeño in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 60–61:605–614.
38. Hagnestam-Nielsen, C. and Østergaard, S. 2009. Economic Impact of Clinical Mastitis in a Dairy Herd Assessed by Stochastic Simulation using Different Methods to Model Yield Losses. *Animal* 3(2), 315-328.
39. Halasa , K. Huijps , O. Østerås & H. Hogeveen .2007. Economic effectsof bovine mastitis and mastitis management: A review, *Veterinary Quarterly*, 29:1, 18-31, DOI:10.1080/01652176.2007.9695224
40. Halasa, T., M. Nielen, A. P. W. De Roos, R. Van Hoorne, G. de Jong, T. J. G. M. Lam, T. van Werven, and H. Hogeveen. 2009. Production loss due to new subclinical mastitis in Dutch dairy cows estimated with a test-day model. *J. Dairy Sci.* 92:599–606.
41. Hand, K. J., A. Godkin, and D. F. Kelton. 2012. Milk production and somatic cell counts: A cow-level analysis. *J. Dairy Sci.* 95:1358– 1362.
42. Herath S., E.J. Williams, S.T. Lilly, R.O Gilbert, H. Dobson, C.E. Bryant and I.M. Sheldon. 2007. Ovarian follicular cells have innate immune capabilities that modulate their endocrine function. *Reproduction*: 134 683–69.

43. Hertl, J. A., Y. H. Schukken , F. L. Welcome , L. W. Tauer , and Y. T. Gröhn. Effects of pathogen-specific clinical mastitis on probability of conception in Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97 :6942–6954
44. Hortet, P., F. Beaudeau, H. Seegers, and C. Fourichon. 1999. Reduction in milk yield associated with somatic cell counts up to 600,000 cells/mL in French Holstein cows without clinical mastitis. *Livest. Prod. Sci.* 61:22–42.
45. Hudson C.D., A.J. Bradley, A.J. Breen, M.J. Green. 2015. Dairy herd mastitis and reproduction: Using simulation to aid interpretation of results from discrete time survival analysis . *The Veterinary Journal.* 204:47-53.
46. Hudson, C. D., A. J. Bradley, J. E. Breen, and M. J. Green. 2012. Associations between udder health and reproductive desempeño in United Kingdom dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:3683-3697.
47. Huijps K., Lam T., Hogeveen H.. 2008. Costs of mastitis : facts and perception. *Journal of Dairy Research.* 75: 113–120.
48. Ingvarsten KL, Andersen JB. Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. *J Dairy Sci.* 2000 Jul;83(7):1573-97. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75029-6.
49. Jordan D, McEwen SA. 1998. Herd-level test desempeño based on uncertain estimates of individual test desempeño, individual true prevalence and herd true prevalence. *Prev Vet Med.* 36(3):187–209.
50. Kelton, D. F., K. D. Lissemore, and R. E. Martin. 1998. Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 81:2502–2509.

51. Lavon Y., G. Leitner, U. Moallem, E. Klipper, H. Voet, S. Jacoby, G. Glick, R. Meidan, D. Wolfenson. 2011. Immediate and carryover effects of Gram-negative and Gram-positive toxin-induced mastitis on follicular function in dairy cows. *Theriogenology* 76 :942–953.
52. Lavon, Y., E. Ezra, G. Leitner, and D. Wolfenson. 2011a. Association of conception rate with pattern and level of somatic cell count elevation relative to time of insemination in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94:4538–4545.
53. LeBlanc S. 2007. Economics of Improving Reproductive Desempeño in Dairy Herds. *WCDS Advances in Dairy Technology* .Vol 19: 201-214
54. LeBlanc S. 2010a. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *Journal of reproduction and development*. Vol:56.
55. LeBlanc, S. 2010b. Assessing the association of the level of milk production with reproductive desempeño in dairy cattle. *J. Reprod. Dev.* 56:S1–S7.
56. Lin, D. Y., L. J. Wei. 1989. The robust inference for the Cox proportional hazard model. *J. Am. Stat. Assn.* 84:1074-1078.
57. Lopez H., Satterb L.D, Wiltbank M.C.. 2004. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science* Volume 81, Issues 3–4 Pages 209-223.
58. Lucy, M. C. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J. Dairy Sci.* 84:1277–1293.
59. Lukas J. M., Reneau J. K., Wallace R. L., and De Vries A.. 2015. A study of methods for evaluating the success of the transition period in early-lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98 :1–13

60. Madouasse, A., J. N. Huxley, W. J. Browne, A. J. Bradley, I. L. Dryden, M. J. Green. 2010. Use of individual cow milk recording data at the start of lactation to predict the calving to conception interval. *J. Dairy Sci.* 93:4677–4690.
61. McDougall S., E. Abbeloos, S. Piepers, A.S. Rao, S. Astiz, T. van Werven, J. Statham and N. Pérez-Villalobos. 2015. Addition of meloxicam to the treatment of clinical mastitis improves subsequent reproductive desempeño. *J. Dairy Sci.* 99:2026–2042
62. Meléndez P., Bartolomé J. 2017. Advances on nutrition and fertility in dairy cattle: Review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias.* 8(4):407-417
63. Melendez, P., P. Pinedo. 2007. The association between reproductive desempeño and milk yield in Chilean Holstein cattle. *J. Dairy Sci.* 90:184–192.
64. Miller, R. H., H. D. Norman, M. T. Kuhn, J. S. Clay, J. L. Hutchison. 2007. Voluntary waiting period and adoption of synchronized breeding in dairy herd improvement herds. *J Dairy Sci.* 90:1594-1606.
65. Morton, J. M. 2006. Potential bias in observed associations between milk yield and reproductive desempeño in dairy cows. Proceedings of the 11th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics, Cairns, Queensland, August 2006. Accessed on Feb 1, 2017 at www.sciquest.org.nz
66. Mulligan, FJ, O’Grady L., Rice DA., Doherty ML. 2006. A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Anim.Reprod.Sci.* 96 331–353 doi:10.1016/j.anireprosci.2006.08.011.
67. Olori V.E., Brotherstone S., Hill W.G., McGuirk B.J. 1997. Effect of gestation stage on milk yield and composition in Holstein Friesian dairy cattle. *Livestock Production Science.* Vol:52, Is:2. Pag:167-176, doi:10.1016/S0301-6226

68. Opsomer, G., M. Coryn, H. Deluyker, and A. de Kruif. 1998. An analysis of ovarian dysfunction in high yielding dairy cows after calving based on progesterone profiles. *Reprod. Domest. Anim.* 33:193–204.
69. Ospina P.A, McArt J.A., Overton T. R., Stokol. T, Nydam D.V.. 2013. Using Nonesterified Fatty Acids and b-Hydroxybutyrate Concentrations During the Transition Period for Herd-Level Monitoring of Increased Risk of Disease and Decreased Reproductive and Milking Desempeño. *Vet Clin Food Anim.* 29(2):387-412
70. Ospina P.A., Nydam D.V., Stokol T., and Overton T.R. 2010. Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. *J. Dairy Sci.* 93 :3595–3601
71. Parellada, G., E. Schilder. 1999. Seasonal and cyclical changes in dairy industry in Argentina. Accessed on Feb 1, 2017 at: http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-dt_04.pdf
72. Piccardi M, A. C. Funes, M. Balzarini, G. A. Bo. 2013. Some factors affecting the number of days open in Argentinean dairy herds. *Theriogenol.* 79:760-765.
73. Pinedo, P. J., P. Melendez, J. A. Villagomez-Cortes, and C. A. Risco. 2009. Effect of high somatic cell counts on reproductive desempeño of Chilean dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 92:1575-1580.
74. Quintero Rodríguez L.E., Rearte R., Dominguz G., de la Sota R.L., Madoz V., Giuliadori M.J.. 2019. Late embryonic losses in supplemented grazing lactating dairy cows: Risk factors and reproductive desempeño. *J. Dairy Sci.* 102:9481–9487
75. Rajala-Schultz P. J., W. J. A. Saville, G. S. Frazer, T. E. Wittum. 2001. Association between milk urea nitrogen and fertility in Ohio dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:482–489.

76. RAP. 1999. Food and nutrition tables for ruminants, 4th ed. Swiss Federal Research Institute for Livestock, Posieux, Switzerland (RAP).
77. Rasbash, J., C., Charlton, W.J., Browne, M. Healy, and B., Cameron. 2009. MLwiN Version 2.10. Centre for Multilevel Modelling, University of Bristol.
78. Rhoads ML, Meyer JP, Kolath SJ, Lamberson WR, Lucy MC. Growth Hormone Receptor, Insulin-Like Growth Factor (IGF)-1, and IGF-Binding Protein-2 Expression in the Reproductive Tissues of Early Postpartum Dairy Journal of Dairy Science. volume 91, issue 5, p1802-1813, may 01, 2008 DOI:<https://doi.org/10.3168/jds.2007-06>.
79. Roche JF. The Effect of Nutritional Management of the Dairy Cow on Reproductive Efficiency. Anim Reprod Sci . 2006 Dec;96(3-4):282-96. doi: 10.1016/j.anireprosci.2006.08.007. Epub 2006 Aug 3.
80. Roche J. R., Friggens N. C., Kay J. K., Fisher M. W., Stafford K. J., and Berry D. P. 2009. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. J. Dairy Sci. 92 :5769–5801
81. Roth Z., A. Dvir, D. Kalo, Y. Lavon, O. Krifucks, D. Wolfenson, and G. Leitner. 2013. Naturally occurring mastitis disrupts developmental competence of bovine oocytes. J. Dairy Sci. 96 :6499–6505.
82. Rothman K.J., Greenland S., Lash T.L. 2008. Rothman K.J., Greenland S., Poole C., Lash T.L. Causation and causal inference, Chapter 1, Modern Epidemiology. 3rd Philadelphia Lippincott Williams-Wilkins (pg. 5 - 31)
83. Ruegg P. 2011. Dairy production medicine. Cap 18. Edited by Risco, C.A. Melendez P.. ISBN:978-0-8138-1539-8.

84. Ruegg, P. L., and R. J. Erskine. 2014. Mammary Gland Health. Pages 1015–1043 in *Large Animal Internal Medicine*. 5th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO.
85. Sargent, F. D., V. H. Lytton, O. G. Wall. 1968. Test interval method of calculating dairy herd improvement association records. *J. Dairy Sci.* 51:170–179.
86. SAS. 2016. *SAS and STAT User's Guide*, Release 9.4, S.I. Inc., Editor. 2016: Cary, NC, USA.
87. Schrick, F. N., M. E. Hockett, A. M. Saxton, M. J. Lewis, H. H. Dowlen, and S. P. Oliver. 2001. Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *J. Dairy Sci.* 84:1407–1412.
88. Sheldon, I. M., G. S. Lewis, S. LeBlanc, and R. O. Gilbert. 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65:1516–1530.
89. Shmueli G. 2010. To Explain or to Predict?. *Statistical Science*. Vol. 25, No. 3, 289–310
90. Snijders, T. A. B., R. J. Bosker. 2012. *Multilevel analysis: an introduction to basic and advanced multilevel modeling*, 2nd edition, Sage Publishers, London, UK.
91. Snijders, T. A. B., R. J. Bosker. 2012. *Multilevel analysis: an introduction to basic and advanced multilevel modeling*, 2nd edition, Sage Publishers, London, UK.
92. Snijders, T.A.B. and Bosker, R.J. 1993. Standard errors and sample sizes for two-level research, *Journal of Educational Statistics*, 18, 237-259.
93. Taverna, M. 2013. An analysis of the evolution of milk production systems in Argentina. Accessed on Nov 15, 2016 at: www.maa.gba.gov.ar/2010/SubPED/Ganaderia/archivos/9_DE_JULIO_Miguel_Taverna.pdf.
94. Van Asseldonk M. A. P. M. , Renes R. J., Lam T. J. G. M, Hogeveen H. 2010. *Veterinary Record*. 166: 263-267. doi: 10.1136/vr.b4713

95. Vissio C., D.A. Agüero, C.G. Raspanti, L.M. Odierno, A.J. Larriestra. 2015. Pérdidas productivas y económicas diarias ocasionadas por la mastitis y erogaciones derivadas de su control en establecimientos lecheros de Córdoba, Argentina. *Arch Med Vet* 47, 7-14
96. Wiltbank, M., H. Lopez, R. Sartori, S. Sangsritavong, and A. Gumen. 2005. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology* 65:17–29.
97. [WinEpi. 2006. Working in Epidemiology. Accessed on Jun 30, 2016 at: www.winepi.net.](http://www.winepi.net)
98. Wisnieski L, Norby B, Pierce SJ, Becker T, Gandy JC and Sordillo S. 2019a. Predictive models for early lactation diseases in transition dairy cattle at dry-off. *Preventive Veterinary Medicine* 163, 68–78.
99. Wisnieski L, Norby B, Pierce SJ, Becker T, Gandy JC and Sordillo S. 2019b. Cohort-level disease prediction by extrapolation of individual-level predictions in transition dairy cattle. *Preventive Veterinary Medicine* 169, 104692.
100. Wisnieski L, Norby B, Pierce SJ, Becker T, Gandy JC and Sordillo S. 2019c. Cohort-level disease prediction using aggregate biomarker data measured at dry-off in transition dairy cattle: a proof-of-concept study. *Preventive Veterinary Medicine* 169, 104692.
101. Wisnieski L, Norby B, Pierce SJ, Becker T, Sordillo LM. 2019d. Prospects for predictive modeling of transition cow diseases. *Animal Health Research Reviews* 1–12. <https://doi.org/10.1017/S1466252319000112>
102. Wolfert AB, Lan GA, Cor Verdouwa V, Marc-Jeroen B. Big Data in Smart Farming – A review. *Agricultural Systems* 153 (2017) 69–80.

