

# **ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA EN VACAS LECHERAS: DIAGNÓSTICO, TRATAMIENTO E INCIDENCIA PRODUCTIVA Y REPRODUCTIVA**



**Méd. Vet. AGUSTÍN RINAUDO**



**Trabajo de tesis presentado para optar al título de  
DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**DIRECTOR: Méd. Vet. Dr. PABLO ROBERTO MARINI**

**CODIRECTOR: Lic. Dra. SANDRA FABIANA BERNARDI**

**ASESOR TÉCNICO: Méd. Vet. ARMANDO CHARMANDARIAN**

**Casilda, Mayo de 2012**

*A Sol, el amor de mi vida y esposa,  
A mi mamá Carmen y mi papá Ernesto,  
A mis hermanos, Mariángel, Andrés y Esteban,  
A mis abuelos Maruca y Ángel, Agustina y Tito,  
A mi suegra Patricia y mi cuñada Paloma,  
Que de manera incondicional me alentaron en este hermoso camino...*

## **AGRADECIMIENTOS**

- Al Méd. Vet. Dr. Pablo Roberto Marini, mi amigo y director, por la confianza incondicional que depositó en mí al aceptar guiarme en este largo camino, y por sus constantes presencia, paciencia y consejos durante el diseño y desarrollo del trabajo.
- A la Lic. Dra. Sandra Fabiana Bernardi (Pipi), mi codirectora, a quien le debo mi interés por la investigación en el área de la reproducción, por sus consejos amables, y por su predisposición y optimismo durante el transcurso de este tiempo.
- Al Méd. Vet. Armando Charmandarian, por sus desinteresados aportes y discusión crítica constante.
- A los miembros del jurado, Méd. Vet., M.V.SC., Ph. D. Gabriel A. Bó, Bioquímica Dra. Flavia M. Rondelli y Méd. Vet. Dr. Albero Dick por las correcciones, comentarios y sugerencias realizadas que han mejorado la presentación de esta tesis.
- Al Méd. Vet. Esp. Andrés Zenón Bassi, por compartir conmigo sus técnicas de muestreo, así como su predisposición y colaboración constantes.
- A Martín Alejandro Panciroli, Daniel Ignacio Maglione, Mariela Di Prinzio, Antonella Nappi, y Victoria Ruscica, por su tiempo y colaboración en las visitas a los establecimientos.

- A la Méd. Vet. Alejandra Noemí Prado, por sus conocimientos y colaboración en el laboratorio de Histología.
- A los dueños, personal y asesores veterinarios de los establecimientos lecheros, con particular énfasis a los Méd. Vet. Ricardo Castro, Méd. Vet. Pablo De Gaetani, Méd. Vet. Sebastián Cardinali y al Méd. Vet. Juan José Carletti, por permitirnos ingresar y muestrear las vacas de sus rodeos, así como de proveernos de la información que requerimos.
- A mis compañeros y amigos de la cátedra, Ariel, Fabri, Patón, Pablo, Pipi, Andrés, Fito, Alejandra, Mariano, Lautaro, Daniel, Esteban, Manuel, Sacha, Emelí, Claudia, Luciana, Mauro y Marcelo, quienes con su permanente apoyo y comprensión me permitieron desarrollar el presente estudio.
- A la empresa Agropharma, en particular a Marcelo Busso, por financiar parte de los insumos y costos de traslados para cumplimentar este trabajo.
- A Sol, mi amor, por compartir el camino de la vida conmigo y por su apoyo incondicional en todos mis proyectos y en particular en este estudio, además del tiempo que resignó, sin cuestionamientos, en pos del desarrollo de esta tesis.
- A Carmen y Ernesto, mis padres y ejemplos, por la educación que me dieron y estimularme en el continuo aprendizaje.
- A mis hermanos y amigos, Mariángel, Andrés y Esteban, por su incondicional ayuda en mi vida y en mis estudios.

- A Patricia, mi suegra, y Paloma, mi cuñada, por su constante apoyo.
- A las autoridades y personal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Rosario, por brindarme la posibilidad de desarrollar mis estudios.

**“Matriz: En su inflamación (metritis) la superficie interna está de un rojo oscuro y por lo común negro; sus paredes y la membrana mucosa gruesas, reblandecidas y desgarran con facilidad; a veces se notan los efectos de la gangrena. Su cavidad contiene una materia purulenta rojiza o negruzca, sanguinolenta, exhalando un olor infecto cuando es negra.”**

**(Nicolás Casas, Marzo de 1833)**

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

---

<b>Índice de figuras</b> .....	IX
<b>Índice de tablas</b> .....	X
<b>Índice de gráficos</b> .....	XII
<b>Abreviaturas</b> .....	XIII
<b>Presentaciones parciales de la tesis</b> .....	XV
Artículos y Abstracts publicados en revistas.....	XV
Comunicaciones en Congresos y Jornadas.....	XVI
<b>1. Resumen</b> .....	1
<b>2. Introducción</b> .....	5
<b>3. Objetivo e Hipótesis</b> .....	13
<b>4. Revisión Bibliográfica</b> .....	14
4.1. Infección uterina postparto y patogenia de endometritis.....	14
4.2. Técnicas de diagnóstico de endometritis clínica y subclínica.....	18
4.3. Prevalencia en distintos países.....	22
4.4. Tratamiento.....	23

<b>5. Materiales y Métodos</b> .....	27
5.1. Caracterización de los establecimientos lecheros utilizados.....	27
5.2. Animales.....	29
5.2.1. Requisitos para la selección de las vacas a muestrear.....	30
5.2.2. Técnica para la obtención de flujo cervicovaginal.....	31
5.2.3. Registros utilizados.....	36
5.3. Variables estudiadas.....	39
5.3.1. Variables reproductivas.....	39
5.3.2. Variables productivas.....	39
5.4. Técnica utilizada para el muestreo del endometrio.....	40
5.4.1. Técnica de cepillado o Cytobrush.....	40
5.5. Análisis estadístico.....	44
5.5.1. Análisis estadísticos aplicados en el Experimento 1.....	44
5.5.2. Análisis estadísticos aplicados en el Experimento 2.....	45
5.5.3. Descripción del Experimento 3.....	46
<b>6. Resultados</b> .....	47
6.1. Experimento 1.....	47
6.1.1. Variables Reproductivas.....	50
6.1.2. Variables Productivas.....	55
6.1.3. Producción Láctea.....	58
6.2. Experimento 2.....	66
6.2.1. Sistemas de producción.....	66
6.3. Experimento 3.....	68
6.3.1. Terapéutica.....	68

<b>7. Discusión.....</b>	<b>71</b>
<b>8. Conclusiones.....</b>	<b>86</b>
<b>9. Bibliografía.....</b>	<b>87</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

1	A. Esquema de la disposición anatómica de los órganos del sistema reproductor de la hembra bovina.....	8
	B. Subdivisión anatómica del útero.....	8
2	Microfotografía óptica., útero bovino. 40X. Hematoxilina-Eosina. Túnicas de la pared uterina.....	9
3	Microfotografía óptica., útero bovino. 400X. Hematoxilina-Eosina. Endometrio.....	9
4	Microfotografía óptica., útero bovino. 40X. Hematoxilina-Eosina. Mucosa: carúncula y glándulas .....	10
5	Diagrama de flujo de pautas para la selección de las vacas a muestrear .....	33
6	Realización de tacto vaginal para la obtención de FCV .....	34
7	Flujo cervicovaginal 0 (FCV 0) .....	34
8	Flujo cervicovaginal 1 (FCV 1).....	35
9	Flujo cervicovaginal 2 (FCV 2).....	35
10	Flujo cervicovaginal 3 (FCV 3).....	36
11	Microfotografía óptica. 400X. Tinción 15. Frotis obtenido mediante la técnica de <i>cytobrush</i> .....	43

## INDICE DE TABLAS

---

1	Comparación entre las diferentes técnicas de diagnóstico de patologías uterinas. Adaptado de Palmer (2008).....	21
2	Prevalencia de endometritis subclínica (ES) por tambos.....	48
3	Comparación de la prevalencia de endometritis subclínica por tambos, expresados con el valor P .....	49
4	Mediana y rango intercuartílico del IPPS en días por categoría según el estado sanitario de la mucosa uterina.....	50
5	Mediana y rango intercuartílico del NSP por categoría según el estado sanitario de la mucosa uterina.....	52
6	Mediana y rango intercuartílico del IPC en días por categoría según el estado sanitario de la mucosa uterina.....	53
7	Valores absolutos y porcentajes de Vacas Sanas y Vacas con ES por Número de Parto o Lactancia (Lac.).....	58
8	Medias y errores estándar de LT de Vacas Sanas y de Vacas con ES por lactancia y por categoría de producción.....	62
9	Distribución de vacas por categoría de producción. Lac. 1.....	63
10	Distribución de vacas por categoría de producción. Lac. 2.....	64
11	Distribución de vacas por categoría de producción. Lac. 3.....	64
12	Distribución de vacas por categoría de producción. Lac. 4 o +...	64
13	<i>Performance</i> Productiva y Reproductiva de vacas sanas y vacas con ES por Lactancia.....	65

14	Comparación de prevalencias de vacas sanas y vacas con endometritis subclínica entre los sistemas a pastoreo con suplementación y los sistemas estabulados por grupos de días en leche (DEL).....	67
15	Evaluación de la respuesta de las vacas sanas y vacas con ES a la aplicación de PGF2 $\alpha$ .....	69

## INDICE DE GRÁFICOS

---

1	Prevalencia de endometritis en el Reino Unido período 2001-2006. Modificado de Williams y col. (2008).....	25
2	Curva ROC para determinación del punto de corte del % PMN N para considerar positivo a una muestra de citología Endometrial.....	48
3	Porcentaje de vacas preñadas y vacías a la primera IA para cada una de las categorías según el estado sanitario de la mucosa uterina.....	51
4	Porcentaje de vacas preñadas según cantidad de servicios para cada una de las categorías según el estado sanitario de la mucosa uterina.....	53
5	Curva de supervivencia de Kaplan-Meier para el tiempo (en días) que requirió cada vaca desde el parto para lograr la preñez según el estado sanitario de la mucosa uterina.....	55
6	Porcentaje de vacas sanas y vacas con ES, según la CC	57
7	Media y error estándar de producción láctea por lactancia y por estado de la mucosa uterina.....	59
8	Media y error estándar de producción láctea por lactancia y por categoría de producción.....	61
9	Comparación de prevalencias de endometritis subclínica para cada uno de los grupos (con PGF2 $\alpha$ y sin PGF2 $\alpha$ )...	69

## ABREVIATURAS

**DEL:** Días en leche

**CC:** Condición corporal

**EC:** Endometritis Clínica

**ES:** Endometritis Subclínica

**FCV:** Flujo cervicovaginal

**FS:** Sistema estabulado o *Free Stall*

**IA:** Inseminación Artificial

**IPC:** Intervalo Parto Concepción

**IPPS:** Intervalo Parto Primer Servicio

**l/d:** Litros por día

**Lac:** Lactancia

**LT:** Litros totales

**NP:** Número de partos

**NSP:** Número de Servicios por preñez

**PGF2 $\alpha$ :** Prostaglandina F2 $\alpha$

**PMN N:** Polimorfonucleares neutrófilos

**ROC:** *Receiver Operating Characteristics* (Característica operativa del receptor)

**SP:** Sistema a pastoreo

**T°:** Temperatura rectal

**T:** Tambo

**TMR:** Ración totalmente mezclada

**TP:** Tipo de parto

**X<sup>2</sup>:** Chi cuadrado

**% ES:** Porcentaje de endometritis subclínica

**% PMN N:** Porcentaje de polimorfonucleares neutrófilos

**% PPS:** Porcentaje de Preñez al Primer Servicio

## **PRESENTACIONES PARCIALES DE LA TESIS**

### ARTÍCULOS Y ABSTRACTS PUBLICADOS EN REVISTAS

- **Rinaudo, A.**; Bernardi, S.F. y Marini, P.R. (2011). “**Prevalencia de endometritis clínica y subclínica en vacas lecheras en posparto en un sistema intensivo estabulado**”. Revista FAVE, 10 (2):33-39.
  
- **Rinaudo, A.**; Bernardi, S.F. y Marini, P.R. (2011). “**Use of prostaglandin F2 $\alpha$  in postpartum dairy cows and its effect on subclinical endometritis**”. BIOCELL, 36 (1): A28.
  
- **Rinaudo, A.**; Panciroli, M.A.; Krall, E.; Busso, M. y Marini, P.R. (2009). “**Detection of subclinical endometritis in dairy cows trough endometrial cytology**”. BIOCELL, 33 (2):400.

### COMUNICACIONES EN JORNADAS Y CONGRESOS

- **Rinaudo, A.**; Bernardi, S.F. y Marini, P.R. (2012). “**Comparación de dos técnicas para el diagnóstico de endometritis subclínica en vacas lecheras**”. En Libro de Resúmenes: p. 277-278. XIII Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas de la Facultad de Ciencias Veterinarias–UNR. ISSN 1667-9326. Casilda (Argentina).
  
- **Rinaudo, A.**; Bernardi, S.F. y Marini, P.R. (2012). “**Punto de corte del porcentaje de neutrófilos para el diagnóstico de endometritis subclínica en vacas lecheras**”. En Libro de Resúmenes: p. 279-280. XIII Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas de la Facultad de Ciencias Veterinarias–UNR. ISSN 1667-9326. Casilda (Argentina).
  
- **Rinaudo, A.**, Bernardi, S.F. y Marini, P.R. (2011). “**Uso de prostaglandina F2 $\alpha$  en vacas lecheras en el posparto y su efecto en la endometritis subclínica**”. En Libro de Resúmenes: p. 98. XIII Congreso y XXXI Reunión anual de la Sociedad de Biología de Rosario. ISSN 1668-0154. Rosario (Argentina).

- **Rinaudo, A.**; Bernardi, S.F. y Marini, P.R. (2011). “**Efecto sobre el intervalo parto concepción de endometritis clínica y subclínica en vacas lecheras**”. En CD de Resúmenes. XXII Reunión Latinoamericana de Producción Animal: El desafío de la sostenibilidad. Montevideo (Uruguay).
  
- **Rinaudo, A.**; Bernardi, S.F. y Marini, P.R. (2011). “**Cantidad de servicios en vacas lecheras en relación a la presencia de endometritis clínica y subclínica**”. En CD de Resúmenes. XXII Reunión Latinoamericana de Producción Animal: El desafío de la sostenibilidad. Montevideo (Uruguay).
  
- Panciroli, M.A.; **Rinaudo, A.**; Bernardi, S.F. y Marini, P.R. (2010). “**Incidencia de endometritis clínica y subclínica en vacas lecheras en postparto**”. En Libro de Resúmenes: p. 20. XII Congreso y XXX Reunión anual de la Sociedad de Biología de Rosario. ISSN 1668-0154. Rosario (Argentina).
  
- **Rinaudo, A.**; Panciroli, M.A.; Bassi, A.Z.; Bernardi, S.F. y Marini, P.R. (2010). “**Efecto de la endometritis subclínica en el intervalo parto concepción en vacas lecheras en sistemas a pastoreo**”. En Libro de Resúmenes: p. 193-194. 33° Congreso Argentino de Producción Animal: LaGanadería, pilar del desarrollo nacional. ISSN 0326-0550. Comarca Viedma Carmen de Patagones (Argentina).

- **Rinaudo, A.**; Panciroli, M.A.; Maglione, D.I.; Bernardi, S.F. y Marini, P.R. (2010). “**Presencia de endometritis clínica en el posparto de vacas lecheras en sistema estabulado (free stall)**”. En Libro de Resúmenes: p. 239-240. XI Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas de la Facultad de Ciencias Veterinarias–UNR. ISSN 1667-9326. Casilda (Argentina).
  
- **Rinaudo, A.**; Panciroli, M.A.; Bernardi, S.F.; y Marini, P.R. (2009). “**Caracterización de endometritis en tambos del sur de la provincia de Santa Fe**”. En Libro de Resúmenes: p. 156. XI Congreso y XXIX Reunión anual de la Sociedad de Biología de Rosario. ISSN 1668-0154. Rosario (Argentina).
  
- **Rinaudo, A.**; Panciroli, M.A.; Bernardi, S.F; Charmandarian, A. y Marini, P.R. (2009). “**Relación de la endometritis subclínica y el número de servicio por preñez en vacas lecheras**”. En Libro de Resúmenes: p. 199. X Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas. Facultad de Ciencias Veterinarias–UNR. ISSN 1667-9326. Casilda (Argentina).
  
- **Rinaudo, A.**; Panciroli, M.A.; Krall, E.; Busso, M. y Marini, P.R. (2008). “**Detección de endometritis subclínica en vacas lecheras mediante citología endometrial**”. En Libro de Resúmenes: p. 231. X Congreso y XXVIII Reunión anual de la Sociedad de Biología de Rosario. ISSN 1668-0154. Rosario (Argentina).

## 1. RESUMEN

**TÍTULO:** Endometritis Subclínica en vacas lecheras: Diagnóstico, Tratamiento e Incidencia Productiva y Reproductiva.

**PALABRAS CLAVES:** Vacas lecheras, postparto, endometritis subclínica, producción, reproducción.

Las empresas ganaderas de producción láctea requieren que sus vacas se preñen en el menor tiempo posible para lograr la mayor eficiencia reproductiva y productiva de sus rodeos. Las patologías reproductivas repercuten de manera negativa sobre esa *performance*, tan ansiada por los productores lácteos. Una de las entidades mórbidas con asiento en la mucosa uterina es la endometritis subclínica, que se caracteriza por la presencia de polimorfonucleares neutrófilos en la luz uterina sin descargas mucopurulentas apreciables. La identificación de dicha patología toma importancia en el período posparto para una pronta detección de la misma y evaluación de los pasos a seguir sobre la misma. El diagnóstico de endometritis subclínica se realiza mediante una técnica citológica, de rápida y fácil ejecución, conocida como *cytobrush*, a través de la cual se pueden obtener datos confiables del estado de la mucosa uterina. El objetivo de esta tesis fue analizar si la endometritis subclínica, durante el posparto, afectaba la eficiencia productiva y reproductiva de la vaca lechera en establecimientos del sur

de la provincia de Santa Fe. Los resultados obtenidos mostraron que la endometritis subclínica en las vacas estudiadas afectaron de manera significativa ( $p < 0,05$ ) la performance reproductiva de las mismas, las vacas con endometritis subclínica necesitaron 4 servicios para lograr la preñez en contraposición a los 2 que requirieron las vacas sanas ( $p < 0,0001$ ). Por ende las vacas enfermas tuvieron mayor cantidad de días de intervalo parto concepción (166) que las vacas sin endometritis subclínica (113) ( $p = 0,0004$ ). Por otro lado se observó que la presencia de endometritis subclínica no se ve influenciada por la mejor o peor condición corporal de la vaca, por el número de partos, y por la producción láctea total de la vaca de manera significativa ( $p > 0,05$ ). El sistema de producción mostró una predisposición a una mayor prevalencia de endometritis subclínica sobre el final del período de espera voluntario (38-56 días postparto) en el sistema estabulado o *Free Stall* (20 %), que en el sistema a pastoreo con suplementación (14,9 %). ( $p < 0,05$ ). El uso de análogos de la prostaglandina  $F2\alpha$  durante el posparto, mostró que su uso si bien disminuye la presencia de endometritis subclínica no lo hace de manera estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Se concluye que la endometritis subclínica es una entidad que repercute en la eficiencia reproductiva de los establecimientos lecheros analizados, es por esta razón que se considera de sumo interés continuar con su estudio, aumentando el número de vacas y establecimientos para la confirmación de las consecuencias reproductivas y por ende también productivas que podrían acarrear los rodeos de la cuenca lechera sur de la provincia de Santa Fe.

## **SUMMARY**

**TITLE:** Subclinical Endometritis in dairy cows: Diagnostic, Treatment and Productive and Reproductive incidence

**KEYS WORDS:** Dairy cows, postpartum, subclinical endometritis, production, reproduction.

Dairy cattle companies need their cows pregnant in the shortest time possible to obtain a higher reproductive and productive efficiency in their herds. Reproductive pathologies have a negative impact that desired performance. One of the morbid entities on uterine mucosal layer is subclinical endometritis which is characterized by the presence of polymorphonuclear neutrophils in the uterine lumen without apparent mucopurulent discharge. The identification of this pathology becomes important in the postpartum period for an early detection and evaluation of the actions to take. The diagnosis of subclinical endometritis is reached through a fast and easy to perform cytologic technique known as *cytobrush* which gives reliable data on the uterine mucosal status. The objective of this thesis was to analyze whether the subclinical endometritis during postpartum affected the productive and reproductive efficiency of dairy cows in farms located in the region south of the Santa Fe province. Results show that subclinical endometritis significantly affected the reproductive performance

( $p < 0.05$ ) of the cows under study with more services required to reach pregnancy. Cows with subclinical endometritis required 4 services and healthy cows only 2 ( $p < 0.0001$ ), and consequently having a longer interval from calving to conception 166 vs 113 days ( $p = 0.0004$ ). On the other hand, it was observed that the presence of subclinical endometritis is not significantly influenced by body condition, parity or total milk production ( $p > 0.05$ ). The production system showed a predisposition to a higher prevalence of subclinical endometritis in Free Stall systems than in supplemented grazing system ( $p < 0.05$ ). The use of F2 $\alpha$  prostaglandin analogues during postpartum showed that although it decreases the presence of subclinical endometritis, it is not statistically significant ( $p > 0.05$ ). It is concluded that subclinical endometritis is an entity that would impact on the reproductive efficiency of the dairy cattle farms studied. For this reason, it is highly recommended to further study it increasing the number of cows and establishments to confirm the reproductive consequences and also the productive ones that might affect dairy cattle in the south of Santa Fe province.

## 2. INTRODUCCIÓN

Los sistemas ganaderos de producción lechera persiguen como uno de sus principales objetivos el de lograr la máxima rentabilidad productiva y por ende económica, de sus rodeos en general y de sus vacas en particular. Esta mayor productividad se ve reflejada como consecuencia de una correcta interacción de factores principalmente genéticos, nutricionales, sanitarios, y de manejo. De ellos, los involucrados con la salud (sanitarios) han sido y siguen siendo objeto de estudio de diversos grupos de investigadores distribuidos por todos los continentes. La salud reproductiva constituye el núcleo de estudio de la mayor parte de las investigaciones por desempeñar un importante rol para alcanzar una correcta *performance* reproductiva (LeBlanc, 2008). Las vacas tienen que parir a intervalos regulares para incrementar la producción individual y total del rodeo (Palmer, 2008), esto da cuenta de que cualquier problema reproductivo repercutirá sobre la producción.

El control sanitario, aunque parezca obvio es un aspecto que no puede quedar relegado, ya que la producción de un rodeo lechero se sustenta, en parte, por su salud. Los efectos de la enfermedad en la productividad pueden ser directos

o indirectos. Mayores desechos, reducción de leche o proteínas, mayor mortalidad de vacas adultas y eficiencia reproductiva reducida son los resultados potenciales de la enfermedad (Ruegg, 2001).

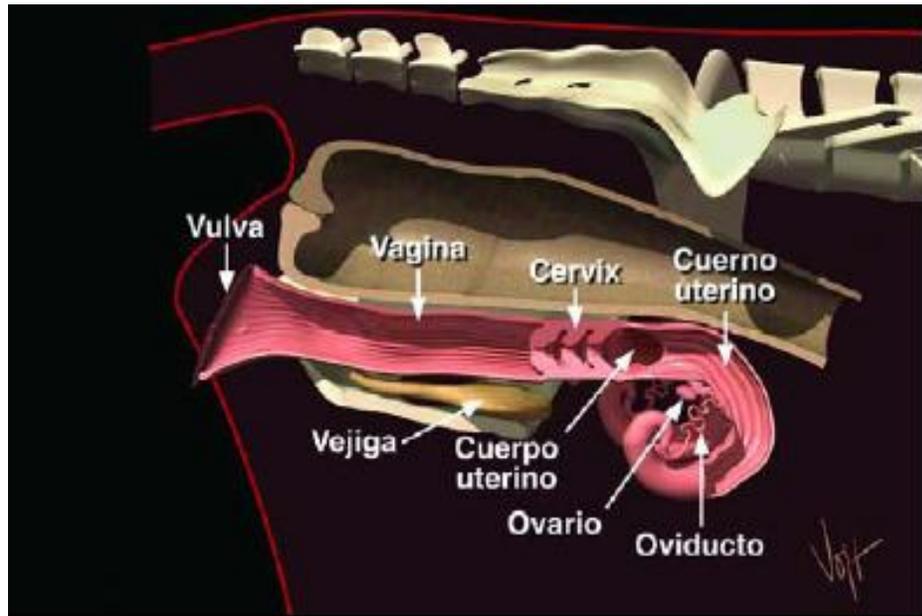
El útero constituye uno de los órganos de la porción tubular de los genitales internos del sistema reproductor. Se localiza en la cavidad pelviana, se dispone entre la vagina y el oviducto y se divide en tres regiones anatómicas diferenciadas: un cuello o cérvix, un cuerpo y cuernos bilaterales. (Figura 1 A y B). Histológicamente la pared uterina se organiza en tres capas o túnicas, desde la luz hacia el exterior: la mucosa-submucosa (endometrio), la muscular (miometrio) y la serosa (perimetrio) (Figura 2). En el endometrio se describen dos regiones estructural y fisiológicamente diferentes denominadas zona funcional y zona basal. La primera, más superficial, se degenera y pierde total o parcialmente durante cada ciclo estral. La zona basal, más profunda, persiste a lo largo de todo el ciclo, y regenera a la zona funcional perdida. El epitelio de revestimiento es cilíndrico pseudoestratificado y/o cilíndrico simple, compuesto por células ciliadas y células secretoras. El tejido conectivo subepitelial es laxo, con abundantes células propias del tejido conectivo como fibroblastos, macrófagos, mastocitos; y células migrantes provenientes de la circulación sanguínea como polimorfonucleares neutrófilos (PMN N), eosinófilos, linfocitos y células plasmáticas (Figura 3) (Dellmann, H., 1994). Es característica de esta túnica la presencia de engrosamientos locales con predominio de fibroblastos y abundante

irrigación, denominados carúnculas. Además, distribuidas por todo el endometrio a excepción de las carúnculas, se observan glándulas tubulares ramificadas arrolladas (Figura 4). El miometrio es la túnica media o muscular organizada en dos capas de músculo liso. Una más interna dispuesta circularmente y otra más externa distribuida longitudinalmente. Entre ambas se destaca la presencia de gran cantidad de vasos sanguíneos y linfáticos, región que se conoce como capa o zona vascular. El perimetrio es la túnica serosa, y como tal se compone de un tejido conectivo laxo recubierto por un epitelio plano simple o mesotelio peritoneal.

Durante el transcurso del ciclo estral, la estructura uterina descripta sufre modificaciones, a saber, proliferación, ramificación y secreción de las glándulas endometriales; cambios en la irrigación y en el tono muscular; presencia de flujo en útero y vagina, con diferencias en su contenido y valores de pH. A nivel de vagina el pH del flujo de una vaca reproductivamente sana oscila entre  $6,92 \pm 0,51$  y del cuello uterino entre  $6,22 \pm 0,31$  (Wehrend y col., 2003). Entre las diversas funciones del útero, se destacan el transporte de gametos masculinos o espermatozoides desde el lugar de la eyaculación (vagina craneal) hacia el oviducto; el ser sustrato de la implantación y gestación; la regulación de la persistencia del cuerpo lúteo mediante la producción y secreción hormonal de prostaglandina  $F2\alpha$  ( $PGF2\alpha$ ) y la expulsión del producto en el momento del parto. Cualquier alteración histofisiológica que involucre al útero, indefectiblemente, repercutirá sobre la reproducción.

Figura 1 A. Esquema de la disposición anatómica de los órganos del sistema reproductor de la hembra bovina. B. Subdivisión anatómica del útero.  
(Extraído de [http://www.selectsires.com/reproductive/reproductive\\_anatomy\\_spanish.pdf](http://www.selectsires.com/reproductive/reproductive_anatomy_spanish.pdf))

A.



B.

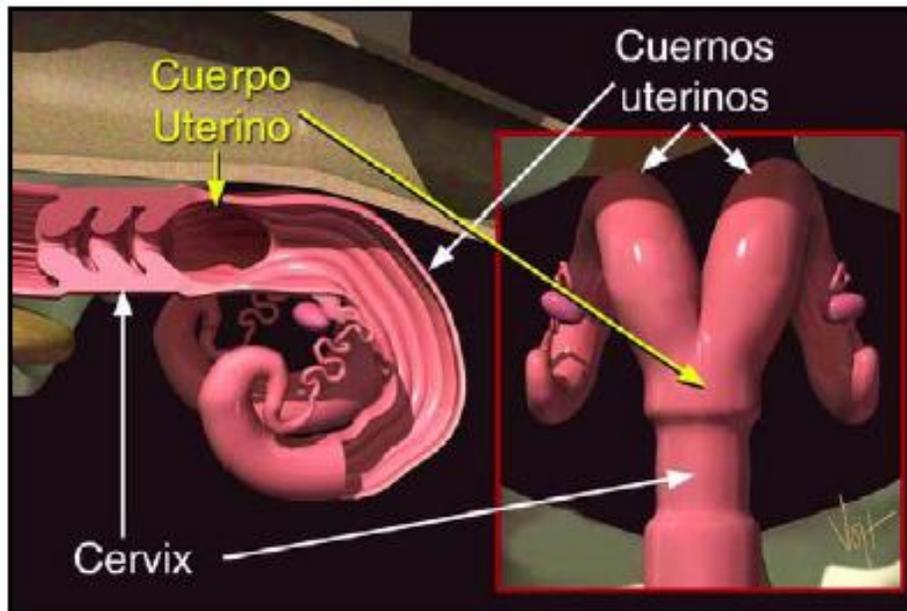


Figura 2. Microfotografía óptica, útero bovino. 40X. Hematoxilina-eosina. Obsérvense las tres túnicas que conforman la pared: **a**. endometrio, **b**. miometrio, y **c**. perimetrio.

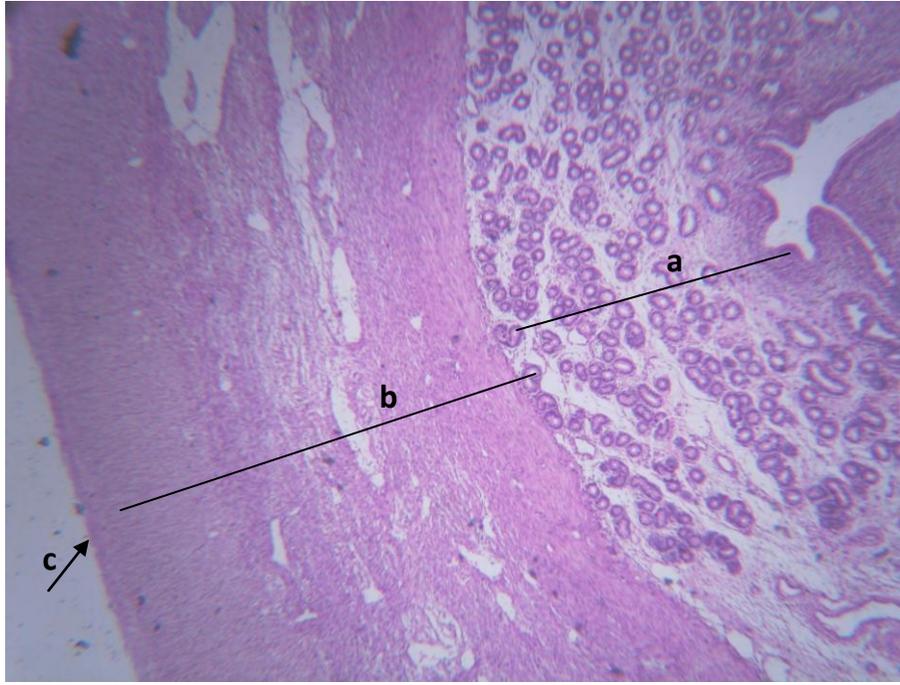


Figura 3. Microfotografía óptica, útero bovino. 400X. Hematoxilina-Eosina. Se observa el epitelio cilíndrico pseudoestratificado (a) y el tejido conectivo laxo subepitelial (b) del endometrio.

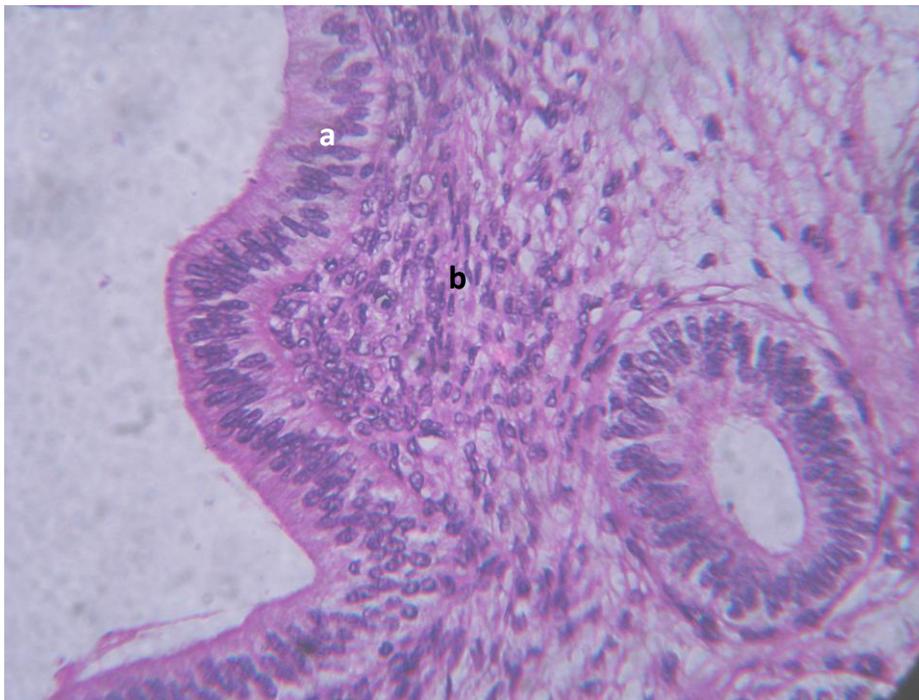
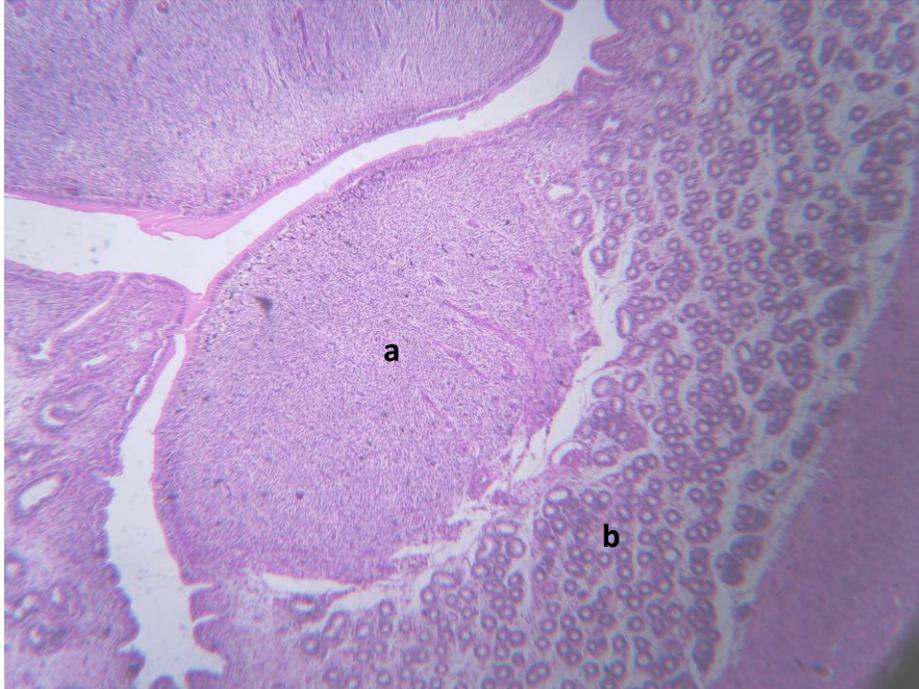


Figura 4. Microfotografía óptica, útero bovino. 40X. Hematoxilina-Eosina. Se aprecia la túnica mucosa con dos regiones claramente diferenciadas: carúncula(**a**) y glándulas endometriales (**b**).



La intensificación de los sistemas ganaderos ha sido una constante en las últimas décadas a nivel mundial, y nuestro país no escapa a dicha realidad, lo que se observa en una reducción de las áreas destinadas a pastoreo en concordancia con el aumento de superficie agrícola. A modo de acompañar este proceso se implementaron nuevas técnicas de explotación y biotecnológicas. Entre las primeras se incluyen el confinamiento y el aumento de cantidad de animales por establecimiento con la regulación del entorno de los mismos (alimentación tipo ración totalmente mezclada (TMR), control constante de temperatura y humedad ambiente); y como una de las biotecnológicas, la de mayor impacto fue la

inseminación artificial (IA). Tecnología cuya difusión ha ido aumentando a lo largo de las últimas cuatro décadas en los tambos de nuestro país y de todo el mundo. Motivo por el cual, grupos de investigadores internacionales y locales, dedicaron sus estudios a la evaluación de las características del semen antes y después del congelado buscando una mayor eficiencia reproductiva. Eficiencia que también es alterada por patologías reproductivas, siendo para destacar las enfermedades con asiento a nivel uterino durante el postparto de vacas lecheras (Lewis, 1997). Las enfermedades subclínicas, entendidas como anomalía de una función que únicamente se detecta por diagnóstico o pruebas de laboratorio, constituyen una amenaza en cualquier establecimiento lechero. Por definición, estas enfermedades son más difíciles de detectar y el costo de obtener información, se incrementa por la necesidad de usar pruebas de diagnóstico.

En general, pocas enfermedades tienen una causa única. La exposición a un agente de la enfermedad no siempre lleva al desarrollo de la enfermedad subclínica o clínica. La enfermedad se desarrolla a través de la interacción de los factores animales (el hospedador), factores patógenos (el agente) y factores ambientales. Los factores animales que influyen la susceptibilidad a varias enfermedades incluyen edad, raza, género, estado inmune, conformación de la ubre, etapa de lactancia y nivel de producción de leche. La mastitis, endometritis, acidosis y laminitis, son ejemplos de enfermedades subclínicas que han emergido

como grandes limitantes a la productividad en los establecimientos lecheros con una mayor intensificación.

Es común practicar la IA sin tener en cuenta el estado del endometrio, a excepción de aquellos animales que manifiesten algún signo que permita determinar la existencia de entidades mórbidas manifiestas como la metritis y la endometritis clínica (EC). Por tal razón es necesario reducir el margen de error reproductivo a la mínima expresión. Para lograr esto además de los estudios de calidad seminal, resulta de suma importancia el estudio y análisis del estado de la mucosa endometrial durante el período de espera voluntaria entre los 21 y 56 días posparto, y en particular la detección de endometritis subclínica (ES), ya que esta última no es considerada al momento de la inseminación artificial por no manifestar signo clínico alguno.

Plöntzke y col. (2010) han reportado un impacto negativo de la presencia de endometritis subclínica en el desempeño reproductivo posterior de vacas lecheras bajo sistemas intensivos y régimen de confinamiento. Salasel y col. (2010) comunicaron una asociación entre la endometritis subclínica y la disminución en la tasa de concepción en la próxima inseminación artificial con una tasa de concepción del 5 % para las vacas con endometritis subclínica y del 47 % de las vacas, sin endometritis subclínica.

### **3. OBJETIVO e HIPÓTESIS**

El objetivo de esta tesis doctoral fue analizar la incidencia de endometritis subclínica en vacas lecheras en establecimientos del sur de la provincia de Santa Fe y determinar su impacto sobre la performance productiva y reproductiva.

Como hipótesis de trabajo se planteó que la endometritis subclínica incide en los resultados productivos y reproductivos de los establecimientos lecheros.

## 4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 4.1. Infección uterina postparto y patogenia de endometritis

El útero en el periparto y postparto es infectado por una invasión generalmente ascendente de microorganismos provenientes del cérvix, vagina, vestíbulo y región perineal. Se ha determinado que alrededor del 90 % de las vacas adquieren infección uterina durante las dos primeras semanas postparto (Blanch, 1994). Esta infección se da por una gran variedad de bacterias aeróbicas y anaeróbicas, entre otros microorganismos, siendo los más comunes *Escherichia coli*, *Arcanobacter pyogenes*, *Corynebacterium bovis*, *Pseudomona spp.*, *Clostridium perfringens*, *Fusobacterium necrophorum*, *Bacterioides melaninogenicus*, *Prevotella spp.*, *Streptococcus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *Staphilococcus epidermidis*, *Micrococcus spp.*, y *Herpesvirus bovino tipo 4* (LeBlanc y col., 2002; Kasimanickam y col., 2004; Alba Gomez y col., 2006; Drillich, 2007; Sheldon y col., 2008; Williams y col., 2008; Sheldon y col., 2009; Rinaudo y col., 2009; Westermann y col., 2010; Bartolomé y col., 2011). La mayor parte de estas infecciones son resueltas, en general, por mecanismos de

defensa del útero (Sheldon y col., 2008). Mecanismos que pueden ser anatómicos, a modo de barrera como es el cierre de la vulva y el cérvix; o bien, inmunológicos incluyendo una respuesta de tipo celular y humoral (Drillich, 2007). En este sentido Kasimanickam y col. (2004) destacan a los neutrófilos como la primera línea de defensa ante la invasión de microorganismos patógenos en el útero durante el posparto, con el consiguiente aumento de estas células inflamatorias en la luz uterina. Con frecuencia, las bacterias patógenas resisten a los mecanismos de defensa causando inflamación uterina, una de las principales causas de infertilidad (Sheldon y col., 2006). Esta resistencia a los mecanismos de defensa ocurre en aproximadamente un 10 % de los animales provocando una infección con la consecuente inflamación del endometrio sin afectar el resto de las tunicas (Bartolomé y col., 2011).

Földi y col. (2006) sostienen que el desequilibrio entre la infección uterina y los mecanismos de defensa antimicrobianos propios del útero pueden desencadenar el desarrollo de patologías como la metritis puerperal, piómetra, endometritis clínica, y endometritis subclínica. Todos los procesos inflamatorios del útero afectan al endometrio, pudiendo o no extenderse al miometrio y al perimetrio (García Rodríguez, 2003). Así, la endometritis es la inflamación del endometrio debido a la persistencia de una infección moderada o al retraso en la involución uterina (Palmer, 2008).

La inflamación de la mucosa uterina como entidad mórbida se puede clasificar, de acuerdo a su presentación, en endometritis clínica y endometritis subclínica según la presencia o ausencia de signos clínicos asociados.

La endometritis clínica se caracteriza por presentar uno o varios de los siguientes signos: pirexia, anorexia, diarrea, deshidratación, descargas vulvares purulentas o fétidas, asimetría de los cuernos, y/o útero flácido, sin tono, pared fina y friable, con fluido palpable. Westermann y col. (2010) definen a la endometritis clínica como la descarga mucopurulenta o purulenta por vulva luego de los 21 días del parto. Bartolomé y col. (2011) agregan como signos de endometritis clínica el tamaño del diámetro del cuello uterino ( $> 7,5$  cm) entre los 20 y 33 días en leche (DEL) y/o la descarga mucopurulenta posterior a los 26 DEL.

Por el contrario, en ausencia de signos clínicos evidentes de endometritis, las modificaciones del endometrio uterino pueden ser definidas como endometritis subclínicas (Drillich, 2007). Sheldon y col. (2009), a su vez, describen como característica principal de la endometritis subclínica a la presencia de PMN N en el endometrio en ausencia de bacterias.

Los PMN N provenientes de la sangre circulante, atraídos por citoquinas y quimiocinas, son los principales encargados de la eliminación de los agentes microbianos del útero en el postparto (Sheldon y col., 2009), pero por la

disminución de la actividad fagocítica que sufren los leucocitos en el periparto (Hammon y col., 2006) se produce una mayor susceptibilidad al desarrollo de endometritis en las vacas lecheras. El balance energético negativo que padecen las vacas durante el posparto también provoca un deterioro en las funciones de la inmunidad innata dificultando la respuesta ante las infecciones uterinas en el posparto (Le Blanc y col., 2008). Estudios recientes realizados in vitro, demostraron que la exposición de la mucosa uterina al plasma seminal y la secreción de las vesículas seminales indican un potencial desarrollo de los procesos inflamatorios en el útero de la especie bovina (Aloé y col., 2012).

Las endometritis en el postparto son enfermedades multifactoriales con gran impacto económico, ya que tanto endometritis clínica como subclínica reducen la eficiencia reproductiva del ganado lechero (Kaufmann y col., 2010), debido a que las vacas con endometritis subclínica desarrollan una falla embrionaria temprana por una alteración en la calidad del embrión (Hill y col., 2008). En estudios recientes se ha observado que la endometritis subclínica modifica las concentraciones de esteroides ováricos afectando la calidad del ovocito, y esto podría explicar en parte, las tasas de concepción más bajas y el mayor intervalo entre el parto y la concepción que se asocian a menudo con endometritis subclínica (Green y col., 2011).

#### **4.2. Técnicas de diagnóstico de endometritis clínica y subclínica**

En la práctica profesional se utilizan distintas técnicas con el fin de evaluar el estado de la mucosa uterina y por ende, la presencia de inflamación del endometrio. Archbald y col. (1998) midieron concentraciones plasmáticas de 13,14-dihidro,15-ceto-PGF $2\alpha$  para diagnosticar la existencia de endometritis subclínica en el postparto de vacas lecheras y obtuvieron resultados insatisfactorios, por tal motivo la utilización de dicha técnica quedó en desuso.

Entre las técnicas más difundidas se pueden mencionar la palpación transrectal, vaginoscopía, ultrasonografía, biopsia endometrial, y la citología endometrial (*cytobrush* y lavaje uterino). Algunas de ellas están más difundidas que otras, ya sea por su practicidad, disponibilidad y/o conocimiento. En los tambos, la técnica más utilizada y difundida es la palpación transrectal cuya realización ofrece al personal interviniente datos del útero tales como el tamaño de los cuernos, simetría, textura, tono, contenido luminal, y estructuras ováricas. Otra técnica de diagnóstico, menos empleada es la vaginoscopía, que consiste en la inspección de las estructuras vaginales y cervicales a través de la introducción vaginal de un instrumento cilíndrico y hueco generalmente de acero inoxidable que puede contener o no fuente de iluminación propia. Los datos que aporta se refieren a presencia de pus o descargas mucopurulentas en el flujo cervicovaginal

(FCV) y el estado de la mucosa vaginal y del cérvix. La ultrasonografía tomó importancia y difusión en los últimos años, y junto a la palpación transrectal permite observar el grosor de la pared uterina, la presencia de contenido en la luz y la existencia de diferentes estructuras ováricas. Todas las técnicas descriptas son útiles para el diagnóstico de endometritis clínica, puesto que evalúan sobre todo presencia de contenido mucopurulento en la luz uterina, así como sus descargas y tono de los cuernos, cuerpo y cérvix, pudiendo determinar la presencia de estos signos. Por el contrario, son muy poco sensibles para detectar endometritis subclínica no permitiendo el diagnóstico de esta patología.

La técnica de biopsia endometrial no se utiliza de rutina en la actividad privada, pero sí ha sido reportada en estudios de investigación. Zurgilgen en 1948 realizó el primer informe en bovinos (Perusia y col., 2000). La técnica consiste en la extracción de una pequeña porción de mucosa uterina a través de un instrumento específico (pistolete de Hannover), la muestra así obtenida es fijada en líquido de Bouin y procesada para su corte, tinción y observación histopatológica.

El empleo de la citología endometrial consiste en la recolección de células del endometrio a través de dos técnicas diferentes: cepillado o *cytobrush* y lavaje uterino. Con la muestra recolectada se realiza un frotis, y una vez que éste es debidamente teñido se observa en microscopio de campo claro para su análisis.

Estas últimas técnicas (biopsia y las variantes de citología endometrial) son muy sensibles para el diagnóstico de endometritis subclínica puesto que mediante el conteo de polimorfonucleares neutrófilos permite inferir la presencia de una inflamación del endometrio.

En la Tabla 1 se comparan las distintas técnicas de diagnóstico descritas y la valoración de cada una en base a, la facilidad de uso, la rapidez de entrega de resultados, la sensibilidad (probabilidad que para un individuo enfermo se obtenga en la prueba un resultado positivo) y la especificidad (probabilidad que para un individuo sano se obtenga en la prueba un resultado negativo). Las técnicas de citología endometrial son las que brindan una mayor sensibilidad y especificidad y entre ellas la de *cytobrush* por sus características de facilidad de aplicación, y rapidez de obtención de los resultados, es la técnica más sensible y consistente y por ende el test principal de diagnóstico de endometritis clínica y subclínica en bovinos (Palmer, 2008). El *cytobrush*, es la técnica recomendada para mejorar el diagnóstico de endometritis subclínica, también en otras especies de animales domésticos como la yegua (Overbeck y col., 2011).

Tabla 1. Comparación entre las diferentes técnicas de diagnóstico de patologías uterinas. Adaptado de Palmer (2008)

Técnica	Facilidad de uso	Tiempo al resultado	Sensibilidad relativa	Especificidad relativa
Palpación rectal	+++	+++	+	+++
Vaginoscopía	+++	+++	+	+++
Biopsia endometrial	++	+	++	++++
Ultrasonografía	+++	+++	+	++++
Citología (Lavado)	+	+	+++	++++
Citología (Cytobrush)	+++	+++	+++	++++

Es importante mencionar que hay diferentes opiniones, por un lado, respecto al momento del posparto (cantidad de DEL) en que la técnica es realizada para diagnosticar endometritis subclínica. Por otro lado, el umbral de PMN N aceptado para definir la presencia o no de esta patología, no es uniforme entre los distintos investigadores. Kasimanickam R. y col. (2004), realizaron una subdivisión en dos grupos según los DEL; el primero comprendido entre 21 y 33 DEL e identificando como ES aquellas preparaciones con un % PMN N  $\geq 18$  %. El segundo grupo se determinó entre 34 y 47 DEL con un % PMN N  $\geq 10$  % para las vacas que padecen ES. Gilbert y col. (2005), por otro lado, determinaron como valor mínimo  $> 5$  % PMN N entre los 40 y 60 DEL; Hamonn y col. (2006)  $>25$  % PMN N entre los 25 y 31 DEL; Barlund y col. (2008)  $> 8$  % PMN N entre los 28

y 41 DEL; Galvão y col. (2009)  $\geq 4\%$  PMN N a los 49 DEL; Plöntzke y col. (2010) identifican como positivos aquellos animales entre 18 y 52 DEL cuyas citologías sean  $\geq 5\%$  PMN N; y a los  $190 \pm 40$  DEL, Salasel y col. (2010) determinaron como valor mínimo  $\geq 3\%$  PMN N.

### **4.3. Prevalencia en distintos países**

La endometritis clínica afecta alrededor de un 15 a un 20 % de las vacas entre la 4º y 6º semana después del parto, y de un 30 a un 35 % adicional tienen endometritis subclínica entre la 4º y 9º semana postparto (LeBlanc, 2008). Este último dato coincide con el 16,3 % de endometritis clínica y del 53% entre los 40 y 60 DEL de endometritis subclínica descrito por Bartolomé y col. (2011).

La prevalencia de infecciones del útero varía entre las distintas investigaciones y existe una amplia dispersión de prevalencia de endometritis en distintos países: 2,6 % al 4,5 % en España, 6,25 % en Dinamarca, 47,6 % en Corea, en Australia varió entre 5,6 % y el 10,9 %, y en Reino Unido 10,1 % (Azawi, 2008). Gilbert y col. (2005) en estudios realizados en rodeos de Estados Unidos y a través de técnicas citológicas, describieron una prevalencia de endometritis del 53 %, similar a la descrita para algunos rodeos del estado de Nueva York donde oscilaron entre el 4,8 % y el 52,6 % (Cheong y col., 2011). Sin

embargo, Fonseca y col. (1983) reportaron una prevalencia de sólo 10,3 % para los rodeos estadounidenses.

Kasimanickam y col. (2004) reportaron una prevalencia de endometritis subclínica del 35 % a los 20-33 días en leche (DEL) y de 34 % para los 34-47 DEL en establecimientos estabulados de Ontario, Canadá. Plöntzke y col. (2010) obtuvieron una prevalencia de endometritis subclínica del 38 % a los 18-38 DEL y del 19 % a los 32-52 DEL en sistemas a pastoreo en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Madoz y col. (2008) describieron una prevalencia del 10,1 % en general en rodeos pertenecientes a la República Argentina.

#### **4.4. Tratamiento**

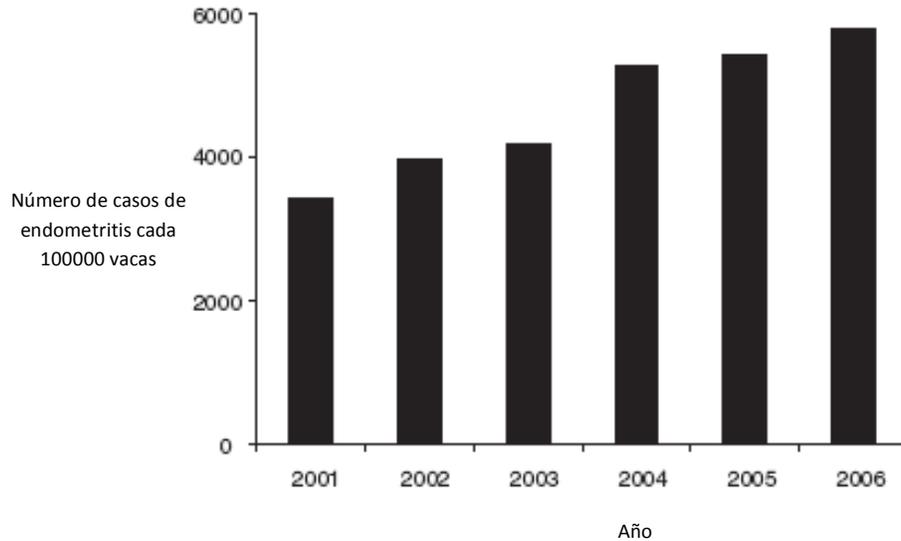
Williams y col. (2008) en base a los informes del NADIS (National Animal Disease Information Service, del Reino Unido), mencionaron la necesidad de la intervención del médico veterinario para la resolución de la endometritis clínica. Enfermedad que presentó un aumento en la prevalencia durante el período 2001-2006, para posicionarse en un 6 % del total de la población bovina inglesa, sin cuantificar ni relevar los animales que padecen endometritis subclínica (Gráfico 1).

En los últimos años, es creciente el interés tanto de grupos de investigadores como de profesionales, por el desarrollo y aplicación de tratamientos específicos para la endometritis subclínica.

El tratamiento de la endometritis subclínica con PGF2 $\alpha$  o sus análogos, aplicación de antibióticos intrauterinos y/o enzimas proteolíticas mostraron resultados heterogéneos en las investigaciones desarrolladas (Lincke y col., 2007).

Kasimanickam y col. (2005 b) reportaron una gran eficacia reproductiva de las vacas con la aplicación de 500  $\mu$ g intramusculares de cloprostenol, un análogo de la prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ), y una infusión intrauterina de 500 mg cefapirina benzatínica para el tratamiento de endometritis subclínica. También se describe el uso sistemático de la PGF2 $\alpha$  a la 5 $^{\circ}$  y 7 $^{\circ}$  semana después del parto a fin de mejorar la tasa de preñez (LeBlanc, 2008). La aplicación de PGF2 $\alpha$  se fundamenta en la inducción de celo en las vacas con un cuerpo lúteo sensible a prostaglandinas, y la expulsión física de microorganismos y productos de la inflamación (Galvão y col., 2009). Todo es debido a los efectos propios de la PGF2 $\alpha$  y sus análogos, como, favorecer la llegada y actividad de los PMN N, provocar una mayor presencia de inmunoglobulinas en el FCV, aumentar el tono y contractilidad uterina y provocar la lisis del cuerpo lúteo sensible.

Gráfico 1. Prevalencia de endometritis en el Reino Unido. Período 2001–2006.  
(Adaptado de Williams y col., 2008)



Por el contrario, Galvão y col. (2009) no encontraron respuesta en la reducción de endometritis subclínica con el tratamiento con PGF2 $\alpha$ ; resultados similares obtuvieron Dubuc y col. (2011). La aplicación intrauterina de ceftiofur (clorhidrato) tampoco mejoró la prevalencia de endometritis subclínica (Galvão y col., 2009).

Otro tratamiento probado fue el uso de suplementos de selenio (Se), selenito de sodio y levadura de Se, en el alimento no encontrando mejoras en la salud uterina (retención de placenta, metritis, endometritis subclínica) (Cerri y col., 2009).

Estudios más recientes (Bartolomé y col., 2011) concluyeron que hasta el momento, ninguno de los tratamientos probados por los diferentes grupos de investigación han podido poner a la luz resultados convincentes para endometritis subclínica.

## **5. MATERIALES y MÉTODOS**

### **5.1. Caracterización de los establecimientos lecheros utilizados**

El trabajo se realizó en cuatro establecimientos comerciales identificados como T1, T2, T3, y T4 ubicados en las cercanías de las ciudades de Casilda (T1), Armstrong (T2), Sancti Spíritus (T3) y Christophersen (T4), todas localidades del sur de nuestra provincia. Región que forma parte de la cuenca lechera denominada Santa Fe Sur, una de las dos cuencas lecheras de la provincia de Santa Fe. Estas, junto a la cuenca de Córdoba constituyen las más importantes de la República Argentina. Cada una de ellas aporta el 36% de la producción láctea nacional, seguida por las cuencas de Buenos Aires (24 %), Entre Ríos (3 %) y La Pampa (1%) (Mancuso y col., 2008). Las cuencas, central y sur de la provincia de Santa Fe, están compuestas por 4392 establecimientos lecheros de los cuales 448 pertenecen a la cuenca Sur, entre los que se encuentran los cuatro tambos elegidos para desarrollar el presente trabajo.

La región sur de nuestra provincia presenta temperaturas moderadas que disminuyen de norte a sur por influencia de la latitud, y de oeste a este por

influencia del mar, con una media anual de 17° C, las precipitaciones regulares decrecen del nordeste al sudoeste y su media anual es de 944 milímetros, presentando un régimen térmico y precipitaciones acordes a la llanura pampeana. (Fuente: Universidad Nacional del Litoral). Posee suelos de óptima calidad para el desarrollo de cultivos agrícolas, así como de pasturas para la explotación ganadera destinada a la producción de carne y leche.

Los sistemas productivos de tres de los tambos utilizados (T1, T2, y T3) presentan características comunes a la mayoría de las empresas lecheras distribuidas en el sur de nuestra provincia y según la clasificación de Mancuso y col. (2008), se caracterizan por ser sistemas lecheros a pastoreo (pasturas implantadas base alfalfa (*Medicago sativa L.*), verdeos de invierno y verano ocupando al menos el 50 % de la dieta total diaria) con distintos regímenes de suplementación (grano partido de maíz, rollo y silos de maíz y sorgo, balanceado comercial y subproductos de la industria aceitera). El sistema de ordeño de estos establecimientos es el denominado espina de pescado con cuatro (4), seis (6) u ocho (8) bajadas dependiendo, generalmente, del número de vacas del establecimiento.

El tambo restante (T4) se caracteriza por ser un sistema lechero intensivo (*Free Stall*) en donde las condiciones ambientales (techo, camas de arena, picos aspersores y ventiladores) y la alimentación de tipo TMR (ración totalmente mezclada) están controlados todos los días del año. El sistema de ordeño consiste de

una plataforma rotativa de 80 bajadas que alcanza un promedio de 400 vacas ordeñadas por hora.

En todos los tambos, las vacas se ordeñaban dos veces al día y el manejo reproductivo de los animales estaba a cargo de los médicos veterinarios asesores que eran los responsables de la salud reproductiva de las vacas. En los cuatro establecimientos se realizó IA mediante la utilización de semen congelado de Holstein Americano y Canadiense, control lechero oficial y se disponía de un software para el registro de toda la información productiva y reproductiva de cada animal. Es decir, se eligieron tambos que garantizaran pautas mínimas de manejo.

Los establecimientos T3 y T4 administraron de rutina a todas las vacas paridas, análogos de PGF2 $\alpha$  en dos aplicaciones, una a los 30 días y otra a los 45 días postparto. Los tambos restantes (T1 y T2) no utilizaron dicho protocolo hormonal.

## **5.2. Animales**

Para el estudio y desarrollo de esta tesis doctoral se revisaron 1980 vacas primíparas y multíparas lecheras en lactancia, de raza Holstein Americano y Canadiense, las cuales fueron sometidas a una evaluación exhaustiva para identificar las que concretamente se incorporarían al muestreo.

### 5.2.1. Requisitos para la selección de las vacas a muestrear

**a) Tipo de parto (TP):** se utilizaron únicamente vacas con parto eutócico y que no hayan recibido tratamiento hormonal periparto y antibiótico postparto.

**b) Días en leche (DEL):** sólo se incluyeron aquellos animales con un período posparto comprendido entre los 21 y 56 días en leche. El criterio de selección de dicho rango fue debido a la duración del puerperio de las vacas (21 días) y al tiempo promedio de espera voluntaria para la liberación de las vacas para servicio de 56 días (DeJarnette y col., 2007).

Ambos registros TP y DEL se obtuvieron de la historia clínica digitalizada de cada vaca perteneciente a cada uno de los establecimientos.

**c) Temperatura rectal (T°):** Valores por encima o por debajo de la temperatura normal (37,5 °C–39,5 °C) fue motivo de rechazo de esos animales para la toma de muestras, ya que esta diferencia de T° con los rangos normales podría indicar la presencia de alteraciones fisiológicas.

La temperatura rectal se registró durante un mínimo de dos a tres minutos por animal mediante la utilización de termómetros de mercurio de máxima marca Franklin introduciéndolo por movimientos rotatorios a través del esfínter anal. El termómetro fue sumergido en una solución de yodo povidona por un lapso de tres a cinco minutos entre las diferentes tomas.

**d) Flujo cervicovaginal (FCV):** El flujo obtenido debió responder a las características de un FCV 0 de acuerdo a la clasificación de Runciman y col. (2009), siendo éste principalmente transparente y sin flóculos de pus.

Previo a la salida al campo se definieron criterios de selección para determinar las vacas sobre las cuales se realizaría el muestreo del endometrio (Figura 5). De este modo, la obtención de datos y muestras solamente se realizó sobre aquellas vacas que el día de la visita cumplieren favorablemente con todos los requisitos de selección previstos. Al mismo tiempo que se cumplió con la revisión de los animales se completó, en forma minuciosa, cada uno de los datos consignados en la planilla diseñada a tal efecto.

### **5.2.2. Técnica para obtención de flujo cervicovaginal**

La recolección y categorización del flujo se llevó a cabo en aquellas vacas que superaron positivamente las evaluaciones de TP, DEL y T°. Las muestras fueron tomadas utilizando la técnica de exploración semiológica manual conocida como flujeo que consiste en la realización de un tacto vaginal (Figura 6). Previo a ello, siempre se realizó la limpieza y desinfección de la región perineal y vulva con solución yodada mediante cepillo de cerdas blandas y toallas de papel tipo *tissue*. Utilizando un guante de tacto lubricado con vaselina líquida transparente se introdujo la mano a través de la vulva hacia el fondo de la vagina, rodeando con los

dedos índice, mayor y anular el orificio cervical externo. Seguidamente se introdujo el dedo índice en el cérvix, y luego se retiró palpando el piso de la vagina y vestíbulo vaginal. De este modo, una cantidad necesaria de flujo fue colectada en la mano.

Posteriormente se observó el FCV a trasluz separando suavemente los dedos y se lo clasificó en forma directa según la siguiente categorización descripta por Runciman y col., (2009):

- **Flujo cervicovaginal 0** (FCV 0), principalmente transparente pudiendo presentar una leve opacidad, sin flóculos de pus (Figura 7);
- **Flujo cervicovaginal 1** (FCV 1), transparente con pequeños flóculos de pus que representa no más del 50 % del volumen total (Figura 8);
- **Flujo cervicovaginal 2** (FCV 2), purulento, donde el contenido de pus representa más del 50 % del volumen total (Figura 9);
- **Flujo cervicovaginal 3** (FCV 3), enteramente purulento y/o sanguinopurulento, color rojo amarronado, pudiendo presentar olor fétido o pútrido (Figura 10).

Si bien la presencia en una vaca de un FCV 1, FCV 2 o FCV 3, no la hacía apta para el muestreo citológico de la mucosa uterina, se registró los datos de la misma como positiva a endometritis clínica (EC).

Figura 5. Diagrama de flujo de las pautas para la selección de las vacas a muestrear el endometrio

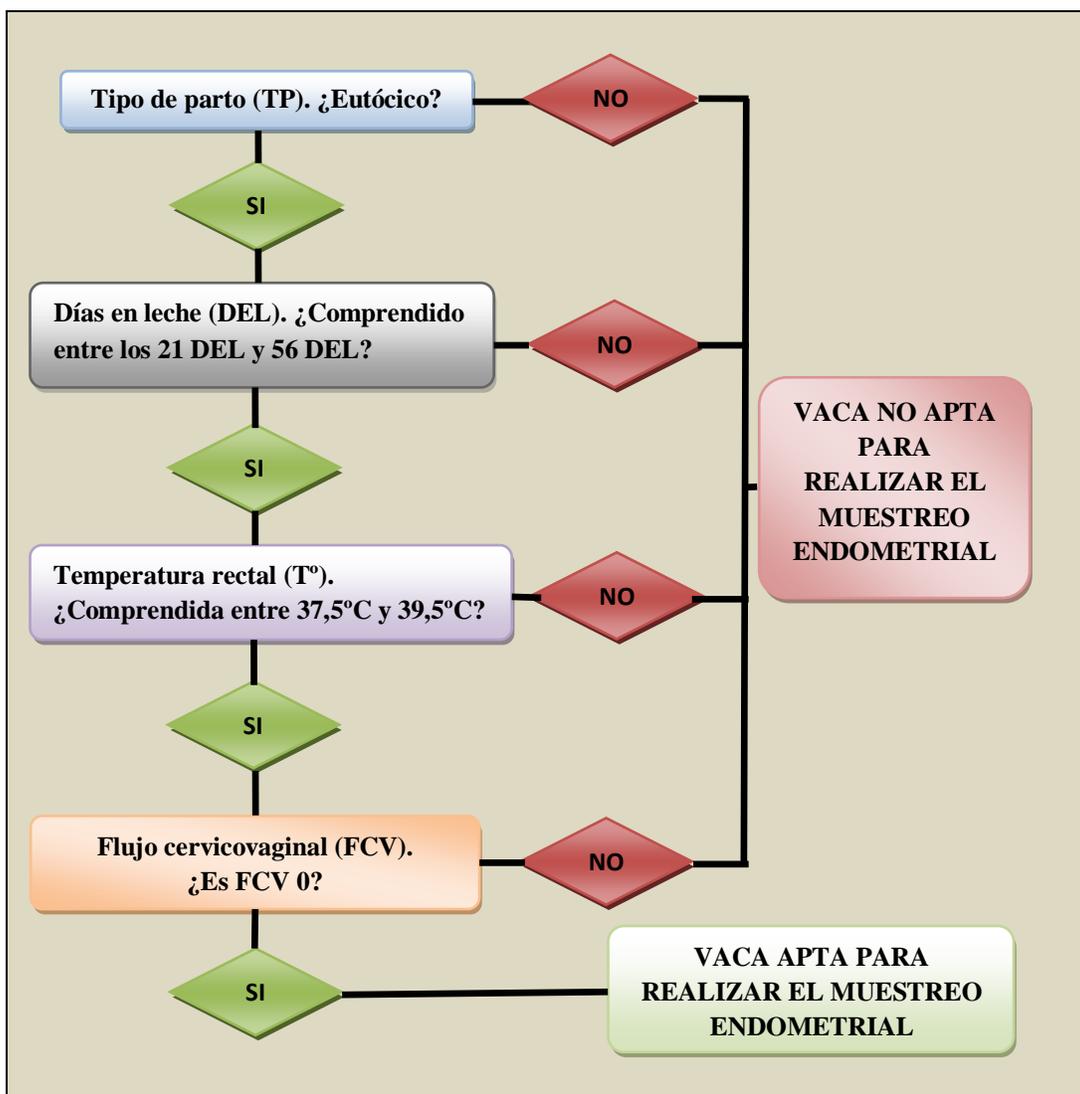


Figura 6. Realización de tacto vaginal para la obtención de FCV



Figura 7. FCV 0. Se observa un flujo transparente, sin presencia de flóculos de pus



Figura 8. FCV 1. Se observa un flujo transparente con presencia de flóculos de pus que representan no más del 50% de volumen total



Figura 9. FCV 2. Se observa un flujo de aspecto purulento por la presencia de pus en una proporción superior al 50% de la muestra



Figura 10. FCV 3. Se observa un flujo hemorrágico, de color rojo-marrón. En ocasiones se puede apreciar un olor pútrido



### 5.2.3. Registros utilizados

Del total de las 1980 vacas analizadas sólo superaron los requisitos de selección 402 vacas que representan el 20,3 %, las restantes fueron descartadas por no cumplimentar con una o varias de las pautas de selección. A su vez, para el análisis de las variables reproductivas y productivas se utilizaron 274 vacas que representan el 68,2 % de esos 402 animales muestreados inicialmente, ya que la población objeto de estudio se redujo por diversos motivos como ventas, descartes, enfermedades y tratamientos ocurridos durante la lactancia en estudio, y/o incluso la muerte de los mismos.

Las visitas a los tambos con el objetivo de recolectar los datos y muestras necesarias se realizaron durante el período comprendido entre el mes de Abril del año 2008 y el mes de Mayo del año 2010; con un intervalo semanal, quincenal o mensual de acuerdo a las características y posibilidades de cada establecimiento llevando a cabo tres experimentos para permitir un mejor análisis de las mismas:

**EXPERIMENTO 1.** Se utilizaron con 274 vacas primíparas y múltiparas correspondientes al período estudiado con todas sus variables productivas y reproductivas completas. Las vacas fueron subdivididas, para el estudio particular de las diferentes variables reproductivas y productivas, en dos subgrupos, el primero de vacas sanas (222 vacas) y el segundo de vacas con ES (52 vacas).

Para su análisis productivo, las vacas se ordenaron en base a los litros totales en orden ascendente y se subdividieron en tres subgrupos de tamaños iguales (Marini y col., 1999). A su vez, las vacas se dividieron según sus lactancias en cuatro subgrupos: Primera lactancia (62 vacas), Segunda lactancia (112 vacas), Tercera lactancia (55 vacas) y Cuarta o más lactancias (45 vacas).

**EXPERIMENTO 2.** Las 274 vacas del Experimento 1 se subdividieron de acuerdo al sistema de producción de procedencia en SP (Sistema a pastoreo con distintos regímenes de suplementación) T1, T2 y T3: 156 vacas y FS (Sistema

estabulado) T4: 118 vacas. Los DEL se dividieron en dos períodos de 17 días cada uno (21 - 38 DEL y 39-56 DEL), este corte se realizó en base al límite de 38 días utilizado por Plöntze y col. (2010).

**EXPERIMENTO 3.** Cabe mencionar que este apartado es de carácter descriptivo y anecdótico ya que se realizó en base al relevamiento y observación de la respuesta de los animales a la rutina práctica de cada establecimiento. Para la descripción de los resultados relacionados con la terapéutica se subdividieron las vacas del Experimento 1 en dos subgrupos en base a aquellos que aplican PGF2 $\alpha$  (Subgrupo: con PGF2 $\alpha$  182 vacas pertenecientes a los tambos T3 y T4) y aquellos que no lo aplicaban (Subgrupo: sin PGF2 $\alpha$  92 vacas pertenecientes a los tambos T1 y T2).

Dentro de esta experimento se tomaron muestras pareadas de vacas que no recibieron PGF2 $\alpha$  (10 vacas) con un intervalo de 15 días del T1, y también de vacas antes y después de la aplicación de PGF2 $\alpha$  (25 vacas) del T4, y se identificaron subgrupos de vacas de acuerdo a su respuesta, es decir que si las vacas en el primer muestreo eran consideradas vacas sanas, mantuvieron esa condición, o sufrieron endometritis subclínica, o por el contrario si durante el primer muestreo eran vacas con ES y si pudieron revertir la inflamación del endometrio o no.

### **5.3. Variables estudiadas**

#### **5.3.1. Variables reproductivas**

**Intervalo Parto Primer Servicio (IPPS):** Días transcurridos entre el i-ésimo parto y la primera inseminación artificial (IA).

**Porcentaje de Preñez al Primer Servicio (%PPS):** Cantidad de vacas preñadas por la primera IA, en relación a la cantidad de vacas totales inseminadas.

**Número de servicios por preñez (NSP):** Cantidad de servicios (inseminaciones artificiales) que se requirieron para lograr la preñez por cada vaca.

**Intervalo Parto Concepción (IPC):** Días transcurridos entre el i-ésimo parto y la concepción.

#### **5.3.2. Variables productivas**

**Condición corporal (CC):** Se obtuvo mediante la escala de valores del 1 a 5 descripta por Edmonson y Lean (1989).

**Número de partos (NP):** Cantidad de partos totales que haya tenido la vaca.

**Litros totales (LT):** Cantidad de leche ordeñada por vaca en la i-ésima lactancia.

#### **5.4. Técnica utilizada para el muestreo del endometrio**

Previo a la realización de la toma de muestra correspondiente, se realizó una cuidadosa limpieza de la zona perineal y de la vulva con solución yodada y toallas de papel tipo *tissue*.

##### **5.4.1. Técnica de cepillado o *Cytobrush***

Se comenzó con una palpación transrectal de los órganos genitales internos (ovarios, cuernos, cuerpo y cuello del útero) de la vaca, utilizando el brazo derecho enguantado y lubricado con vaselina líquida. Al mismo tiempo, dirigido mediante el brazo izquierdo, se introdujo en el útero por vía vaginal el instrumental necesario para la toma de muestra. El mismo está conformado por un cepillo colector endocervical (*Medibrush XL, Medical Engineering Co, SA*) cortado en su mango aproximadamente a 5 cm de largo y sujetado al mandril de una pistola o jeringa de inseminación de acero inoxidable, al que se le hizo una rosca especialmente diseñada para este fin. Para proteger la pistola de la contaminación vaginal, la misma fue cubierta con una vaina descartable, así fue introducida, pasando a través del cérvix, en la base del cuerno de mayor tamaño, en caso de notar diferencias entre ambos por palpación y sino, en uno de los cuernos al azar. En este sitio, presionando el mandril, se expuso el cepillo de la vaina y se lo hizo girar una vuelta completa (360°) en el mismo en sentido de las agujas del reloj rozando las cerdas

suavemente la mucosa uterina y colectando así la muestra necesaria. Seguidamente, se retrajo el cepillo dentro de la vaina y se retiró del útero y vagina la pistola de inseminación.

Una vez fuera del animal, se descartó la vaina, se expuso nuevamente el cepillo y se lo hizo rodar suavemente sobre un portaobjetos limpio, desengrasado y debidamente rotulado con el número de caravana correspondiente al animal y la fecha de toma de la muestras. Inmediatamente los frotis fueron rociados con un spray fijador celular (Biopur) para resguardarlos del polvo y así poder trasladarlos almacenados en cajas transportadoras, con una capacidad para 50 portaobjetos, hasta el laboratorio donde se colorearon utilizando una tinción panóptica comercial (Tinción 15, Biopur).

Las preparaciones citológicas así logradas se observaron para su análisis con un microscopio binocular Olympus BH-2 a un aumento de 400X y contando un mínimo de 200 células totales (células epiteliales y células inflamatorias), a partir de las cuales se determinó la proporción de células inflamatorias (polimorfonucleares neutrófilos) (Figura 11). Para determinar el grado de inflamación de la mucosa uterina, se calculó el porcentaje de polimorfonucleares neutrófilos (% PMN N), mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ PMN N} = \frac{\text{n PMN N}}{\text{C. T.}} \times 100$$

Donde:

% PMN N: Porcentaje de polimorfonucleares neutrófilos

n PMN N: Cantidad de Polimorfonucleares Neutrófilos presentes en la preparación

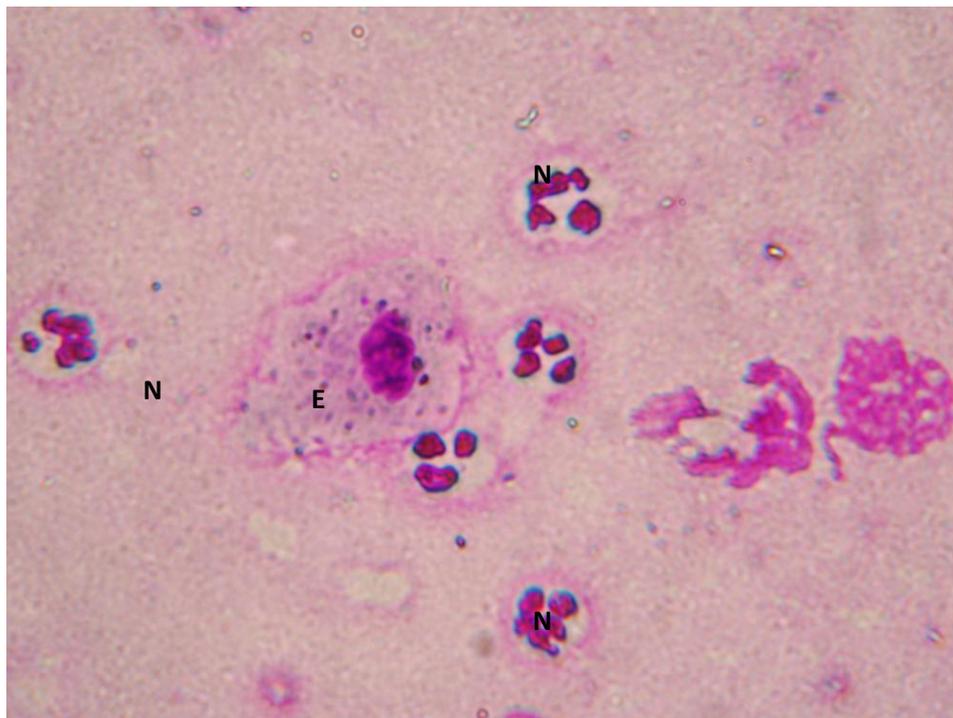
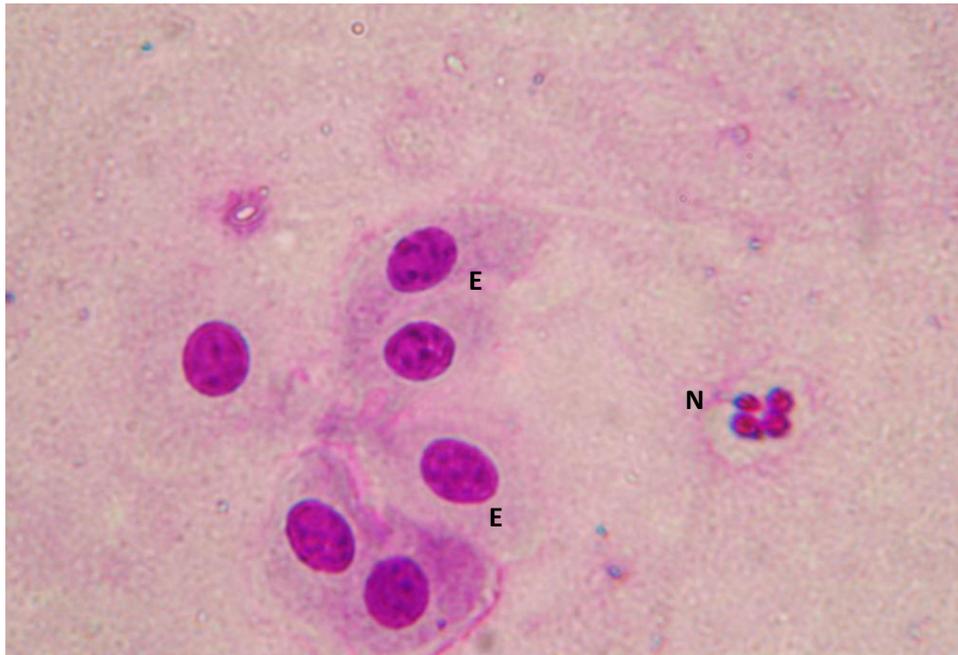
C. T.: Células Totales presentes en la preparación (células epiteliales y PMN N)

Luego de obtenido el % PMN N, se procedió a clasificar a las vacas como positivas a endometritis subclínicas (ES) siguiendo el criterio de los trabajos publicados por Gilbert y col. (2005) y Plöntzke y col. (2010) que consideran como positivos a endometritis subclínica a todos los animales cuyos frotis poseen un %  $\text{PMN N} \geq 5$  independientemente de los DEL.

Para el presente trabajo se utilizó, básicamente, el trabajo de Plontzke y col. (2010) como criterio de corte, ya que fue uno de los utilizados más recientemente, y además éste se aplicó en diversos sistemas incluso en explotaciones tamberas de la provincia de Buenos Aires de la República Argentina.

Una vez categorizada la muestra como positiva o negativa a ES se analizaron para su posterior estudio cada una de las variables descriptas en el apartado 5.3 del presente capítulo. Los animales positivos se denominaron como vacas con ES y los negativos, como vacas sanas.

Figura 11. Microfotografías ópticas. 400X. Tinción 15. Frotis obtenido por *cytobrush*. Se observan células epiteliales del endometrio (E) y PMN N (N)



## **5.5. Análisis estadísticos**

Se utilizaron las pruebas estadísticas: curva ROC, Chi cuadrado ( $X^2$ ), ANOVA, Mann Whitney, curva de supervivencia de Kaplan-Meier. En todos los casos el nivel de confianza utilizado fue del 95 % con un error  $\alpha < 0,05$ .

La determinación del punto de corte del % PMN N se realizó mediante la prueba estadística denominada curva ROC, para determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba diagnóstica de *cytobrush* con la preñez a los 210 DEL como valor de clasificación y el % PMN N como valor predictivo.

La comparación entre las prevalencias de endometritis subclínica entre los diferentes establecimientos se obtuvo mediante la prueba de Chi Cuadrado.

### **5.5.1. Análisis estadísticos aplicados en el Experimento 1**

Para las variables intervalo parto primer servicio (IPPS), número de servicios (NSP), e intervalo parto concepción (IPC), se estimaron las medianas y los rangos intercuartílicos para los dos subgrupos del Experimento 1 (Vacas Sanas y Vacas con ES) y se aplicó la prueba de Mann Whitney para evaluar mediante la misma si existían diferencias significativas.

Para estudiar si existían diferencias estadísticas, entre los subgrupos de vacas sanas y vacas con ES, en el %PPS, la condición corporal (CC), el número de

partos (NP), se aplicó la prueba estadística de contingencia de Chi cuadrado ( $X^2$ ). Para el análisis de la progresión de la preñez en relación a los DEL se aplicó para cada subgrupo la curva de supervivencia de Kaplan-Meier y se compararon entre sí con la prueba Log-rank (Mantel-Cox). Se organizaron las vacas de acuerdo a su NP y dentro de cada subgrupo se ordenaron los LT de las mismas en orden ascendente y se realizaron cortes obteniendo tres tercios de tamaño similar conformando tres categorías: baja, media y alta producción, dicha metodología fue adoptada del trabajo de Marini y col. (1999). Para determinar si los tercios de cada subgrupo mostraban diferencias significativas entre sí, se estimaron las medias y errores estándar para cada categoría y se probó si existían diferencias de producción entre categorías mediante la prueba de Análisis de la Variancia (ANOVA). Del mismo modo se agruparon las vacas dentro de cada lactancia, según el estado de la mucosa uterina en vacas Sanas y vacas con ES y se aplicó también la prueba estadística de Mann Whitney. Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Error estándar. Para evaluar si existían diferencias en el porcentaje de vacas sanas y vacas con ES dentro de cada uno de los subgrupos de producción para cada lactancia se aplicó la prueba estadística de contingencia de Chi cuadrado  $X^2$ .

### **5.5.2. Análisis estadísticos aplicados en el Experimento 2**

Para los análisis de los sistemas de producción, en primer lugar se dividieron las vacas en dos subgrupos (SP y FS) y además para cada subgrupo se

subdividieron los DEL en dos períodos de tiempo iguales (21-38 DEL y 39-56 DEL). Para cada subgrupo se determinó el porcentaje de aparición endometritis subclínica y de vacas sanas y se aplicó la prueba estadística de contingencia de Chi cuadrado  $X^2$ .

### **5.5.3. Descripción del Experimento 3**

Se estimaron los porcentajes de vacas sanas y vacas con ES para los dos subgrupos (Con PGF2 $\alpha$ , y Sin PGF2 $\alpha$ ).

El análisis de la curva ROC se realizó con el software estadístico MedCalc 12.2.1 en su versión de prueba gratuita, y los análisis estadísticos restantes se realizaron con el paquete informático JMP en su versión 5.0 para Windows (JMP®, SAS Institute, 2003).

## 6. RESULTADOS

Para determinar el punto de corte del %PMN N, se evaluó la sensibilidad (72 %) y especificidad (86,3 %) del valor de corte utilizado de 5 % PMN N para predecir la preñez a los 210 DEL. El punto de corte como predictivo de preñez a los 210 DEL, con la mejor combinación de sensibilidad y especificidad, fue del 6,18% PMN N (sensibilidad = 72 %, especificidad = 88 %) ( $P < 0,0001$ ). Es decir, el 72 % de las vacas con preñeces posteriores a 210 DEL arrojaron un frotis endometrial con un %PMN N mayor a 6,18, mientras que este valor fue menor para el 88% de las vacas que se preñaron antes de los 210 DEL. El valor de corte obtenido para PMN N (6,18 %) se encuentra cercano al 5 % PMN N, valor recomendado por las publicaciones de Gilbert y col. (2005) y Plöntzke y col. (2010) (Gráfico 2).

### 6.1. EXPERIMENTO 1

Se calculó el porcentaje de aparición de endometritis subclínica (% ES) para cada uno de los establecimientos estudiados los que se muestran en la Tabla 2.

Gráfico 2. Curva ROC para determinación del punto de corte del % PMN N para considerar positivo a una muestra de citología endometrial

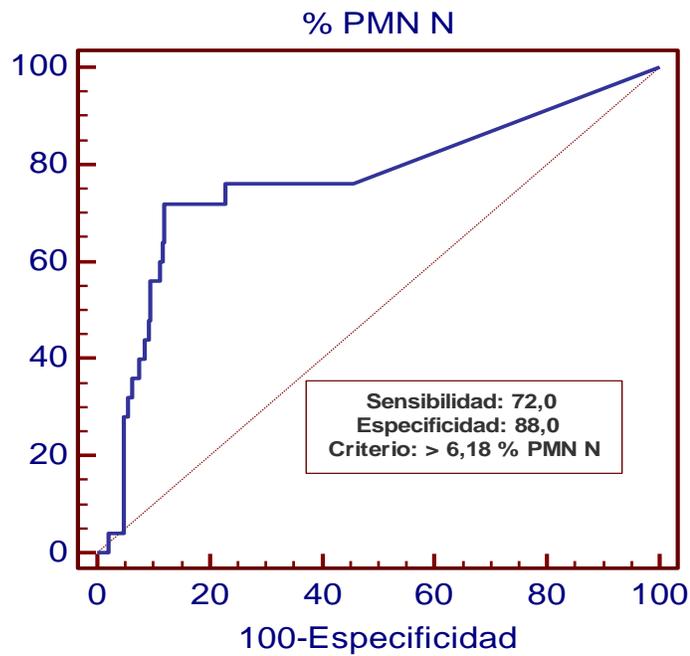


Tabla 2. Prevalencia de endometritis subclínica (ES) por tambo			
	Vacas muestreadas	Vacas con ES	% ES
<b>Tambo 1</b>	61	14	23,0
<b>Tambo 2</b>	31	8	25,8
<b>Tambo 3</b>	64	8	12,5
<b>Tambo 4</b>	118	22	18,7
<b>Totales</b>	<b>274</b>	<b>52</b>	<b>19,0</b>

Los tambos con prevalencia extrema de ES fueron el T3 (12,5 %) y el T2 (25,8 %), sin embargo al compararlos se observó que la diferencia entre el valor mínimo y máximo de aparición de la enfermedad no es estadísticamente significativa ( $P = 0,1782$ ). Tampoco adquirieron significado estadístico ( $P = 0,5160$ ) las diferencias estimadas al comparar la prevalencia de endometritis subclínica entre los cuatro establecimientos (T1 vs T2 vs T3 vs T4), o al comparar los tambos de a pares en todas las combinaciones posibles (Tabla 3). En general, en los establecimientos visitados la prevalencia de ES fue de 19%.

Tabla 3. Comparación de la prevalencia de endometritis subclínica por tambos (T), expresados con el valor P				
	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
<b>T1</b>		0,8127	0,1993	0,5805
<b>T2</b>	0,8127		0,1782	0,4780
<b>T3</b>	0,1993	0,1782		0,3625
<b>T4</b>	0,5805	0,4780	0,3625	

### 6.1.1. Variables Reproductivas

En este apartado se detallan los resultados de las comparaciones de las medianas y rangos intercuartílicos de cada subgrupo (Vacas Sanas y Vacas con ES) correspondientes a las variables reproductivas: IPPS (Tabla 4), NSP (Tabla 5) e IPC (Tabla 6).

Tabla 4. Mediana y rango intercuartílico del Intervalo Parto Primer Servicio (IPPS) en días por categoría según el estado sanitario de la mucosa uterina		
	Vacas Sanas	Vacas con ES
<b>Número de vacas</b>	222	52
<b>Mediana</b>	85	93
<b>Rango intercuartílico</b>	45,5	45,8
Las medianas no difieren (P=0,5318)		

Las vacas con ES mostraron, en general en todos los parámetros reproductivos, una pérdida de eficiencia. A saber, el IPPS fue en las vacas con ES 8 días mayor al de las vacas sanas (93 días vs. 85 días), sin embargo esta diferencia no adquiere significancia estadística (P = 0,5318). El porcentaje de preñez de las vacas con ES fue significativamente menor (15,4%) en relación al 40,5 % calculado para las vacas sanas (P < 0,0001). En el Gráfico 3 puede observarse la distribución

del porcentaje de vacas preñadas y vacías a la primera IA. La situación se repite al analizar el número de servicios requeridos para lograr preñez, mientras que las 52 vacas con ES requirieron cuatro (4) servicios, las vacas sanas solamente dos (2), diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0,0001$ ) (Tabla 5).

Gráfico 3. Porcentaje de vacas preñadas y vacías a la primera Inseminación Artificial (IA) para cada una de las categorías según el estado sanitario de la mucosa uterina ( $P < 0,0001$ ).

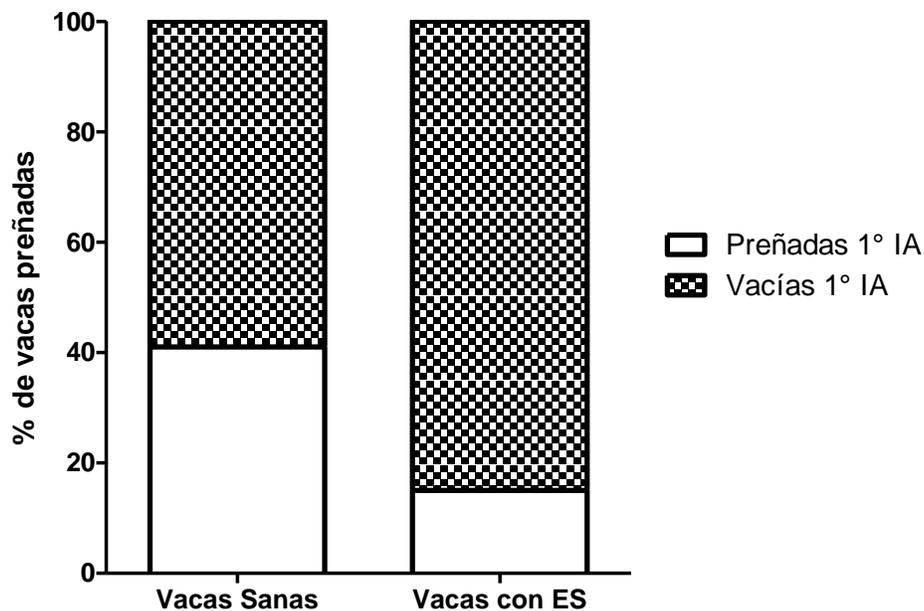


Tabla 5. Mediana y rango intercuartílico del Número de Servicios por preñez (NSP) por categoría según el estado sanitario de la mucosa uterina		
	<b>Vacas Sanas</b>	<b>Vacas con ES</b>
<b>Número de vacas</b>	222	52
<b>Mediana</b>	2	4
<b>Rango intercuartílico</b>	3	5
Las medianas difieren de manera significativa ( $P < 0,0001$ )		

En el Gráfico 4 se visualiza claramente que el mayor porcentaje de vacas que requirieron tres (3) o más servicios para alcanzar la preñez, corresponde al grupo con ES (69,2 %), ya que en las vacas sanas ese porcentaje se limita solamente al 39,2 %. Dicha diferencia resultó estadísticamente significativa ( $P < 0,0001$ ).

En el intervalo parto-concepción, también surgieron diferencias significativas ( $P = 0,0004$ ) al comparar vacas con ES y vacas sanas. Los animales del primer grupo requirieron 166 días para preñarse, los sanos 113 días. La diferencia de 53 días entre ambos equivale al tiempo que lleva desarrollar dos ciclos estrales completos (Tabla 6).

Gráfico 4. Porcentaje de vacas preñadas según cantidad de servicios para cada una de las categorías según el estado sanitario de la mucosa uterina ( $P < 0,0001$ ).

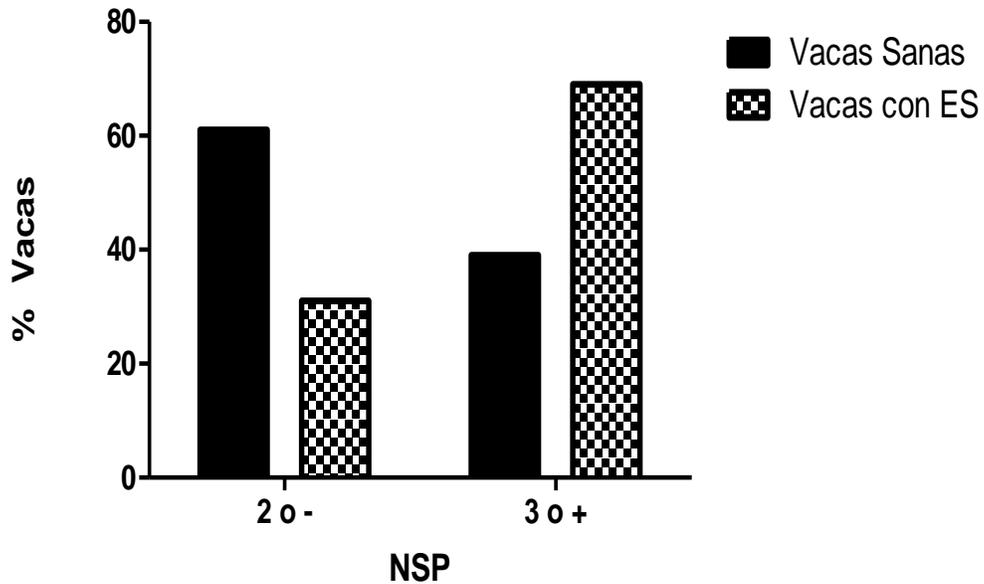
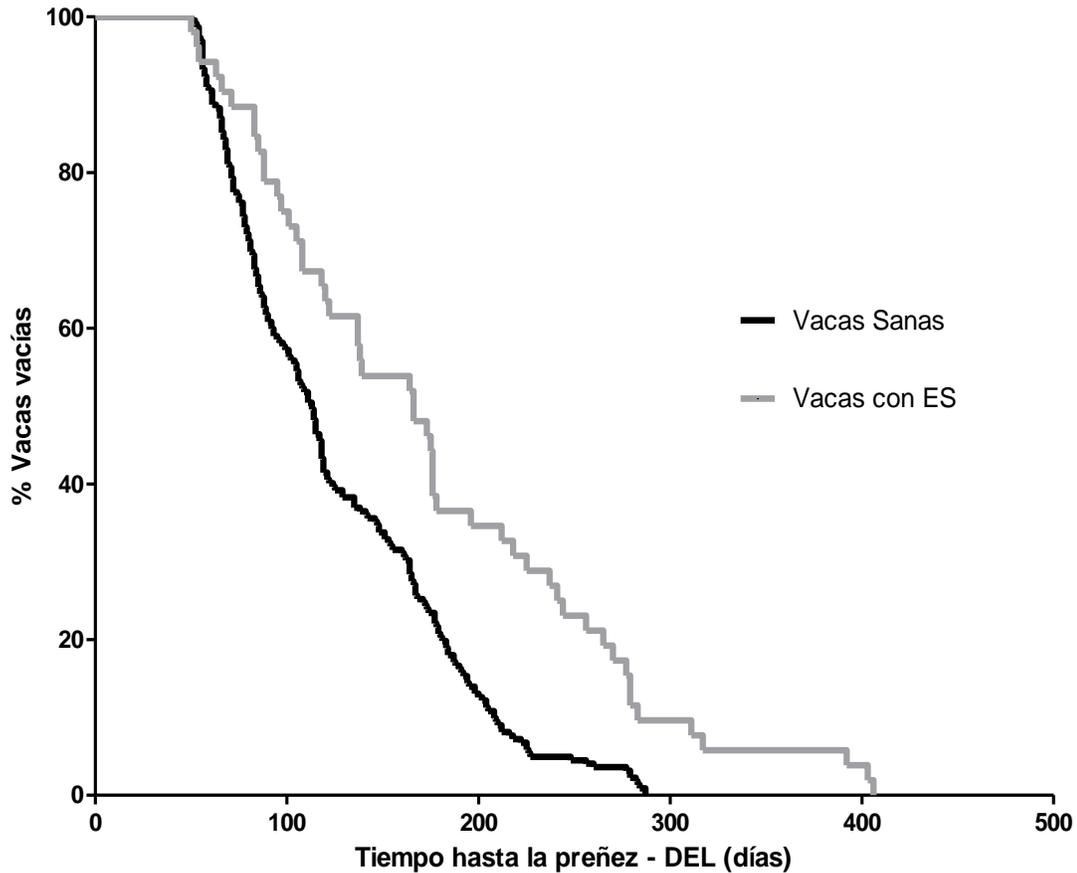


Tabla 6. Mediana y rango intercuartílico del Intervalo Parto Concepción (IPC) en días por categoría según el estado sanitario de la mucosa uterina

	Vacas Sanas	Vacas con ES
<b>Número de vacas</b>	222	52
<b>Mediana</b>	113	166
<b>Rango intercuartílico</b>	94,3	145,3
Las medianas difieren de manera significativa ( $P=0,0004$ )		

Se analizaron también las tasas de preñez de ambos subgrupos en relación a la progresión de los DEL. En el Gráfico 5 se muestran las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier para el evento preñez de cada uno de las categorías según el estado sanitario de la mucosa uterina. En el mismo se destaca claramente que las vacas sanas a los 82 DEL logran el 30,6 % de preñez, mientras que las vacas con ES únicamente el 11,5 %. Es notorio además, que el 91,5 % de las vacas sanas se preña antes de los 210 DEL y solamente el 65,4 % de vacas con ES. Dichas diferencias son estadísticamente significativas ( $p < 0,0001$ ). Las vacas con ES aumentaron la mediana de días para lograr la preñez en relación a las vacas sanas (166 vs. 113 días).

Gráfico 5. Curva de supervivencia de Kaplan-Meier para el tiempo (en días) que requirió cada vaca desde el parto para lograr la preñez según el estado sanitario de la mucosa uterina.



### 6.1.2. Variables Productivas

Para evaluar si existía relación entre la condición corporal (CC) y la presencia de endometritis subclínica, se ordenaron las vacas en tres grupos de acuerdo a su CC. Grupo 1, aquellas vacas con CC 2,25 o menos (-) (61 vacas: 50 vacas sanas y 11 vacas con ES), Grupo 2 con CC 2,50 o 2,75 (187 vacas: 151 vacas

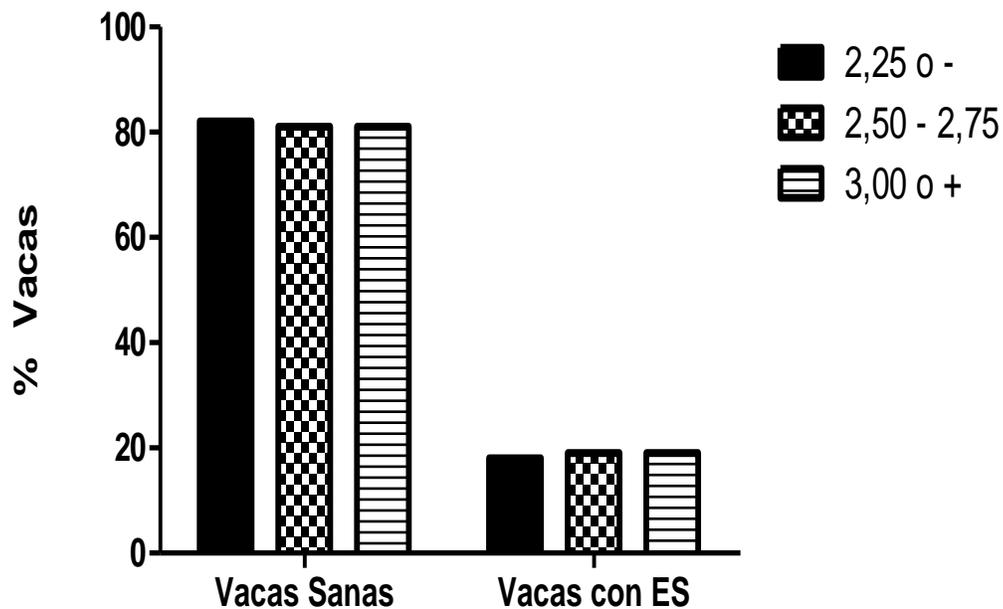
sanas y 36 vacas con ES), y Grupo 3 con CC 3 o más (+) (26 vacas: 21 vacas sanas y 5 vacas con ES) (Gráfico 6).

De los resultados observados (Gráfico 6) surge que la distribución de la aparición de ES no mantiene relación con la CC de la vaca al posparto: ya que las vacas con CC baja (2,25 o menos) no mostraron diferencias significativas ( $P = 0,9775$ ) con las vacas de CC intermedia (2,50 – 2,75), ni con las de CC alta (3 o más). El porcentaje de aparición de vacas con ES en los tres grupos se mantuvo cercano a la prevalencia del 19 % de vacas con ES de los rodeos estudiados (Grupo 1: 18,03 %, Grupo 2: 19,25 %, y Grupo 3: 19,23 %), siendo a su vez las vacas con mejor CC (Grupos 2 y 3) las que mostraron un mayor porcentaje de desarrollo de ES.

Del mismo modo, para evaluar si existían diferencias en la frecuencia de aparición de endometritis subclínica en relación al número de partos (NP) de la vaca, es decir, entre las vacas primíparas y las multíparas, se procedió a efectuar el análisis que se describe a continuación.

Las vacas primíparas fueron identificadas como Lactancia 1 (Lac. 1) y las vacas multíparas se subdividieron en tres grupos y fueron identificadas como Lactancia 2 (Lac. 2), Lactancia 3 (Lac. 3) y Lactancia 4 o superior (Lac. 4 o +) y se analizaron en base al estado sanitario de la mucosa uterina. En la tabla 7 se muestra la distribución del número y el porcentaje de vacas en cada uno de los grupos.

Gráfico 6. Porcentaje de vacas sanas y vacas con endometritis subclínica (ES), según la condición corporal (CC). (P=0,9775)



De los datos de la tabla 7, se puede apreciar que la distribución de aparición de endometritis subclínica, es independiente del número de partos que haya tenido la vaca en su vida, ya que si bien las vaquillonas de primera parición (primíparas) presentaron relativamente más ES (24,2 %) que las multíparas (17,9 %, 18,2 %, 15,6 %) no mostraron diferencias estadísticas significativas (P = 0,6699).

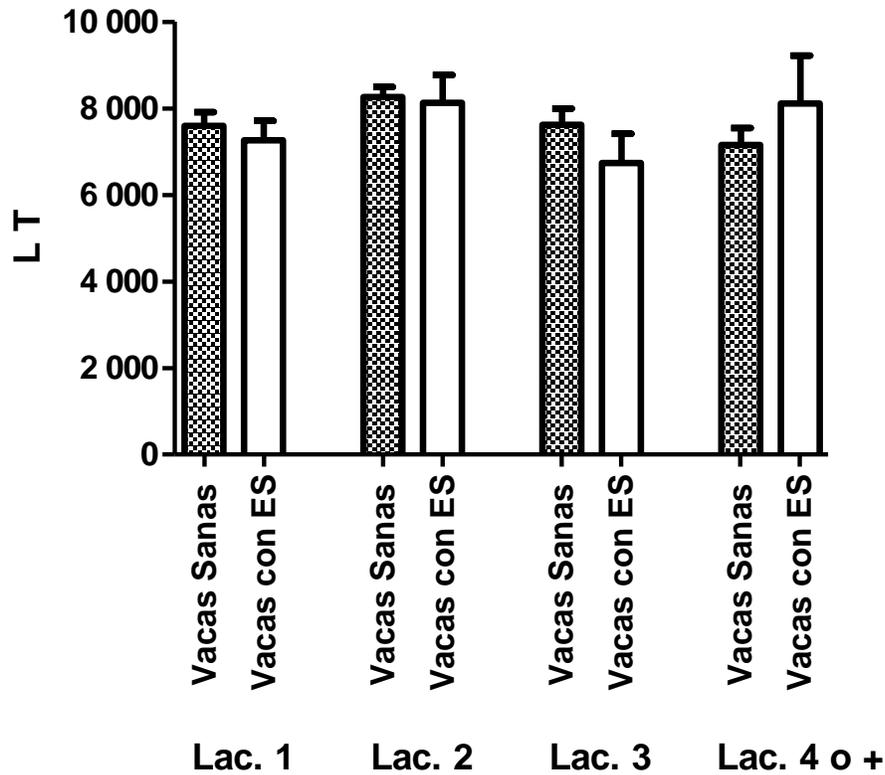
Tabla 7. Valores absolutos y porcentajes de Vacas Sanas y de Vacas con ES por Número de Parto o Lactancia (Lac.) (P= 0,6699)

	<b>Vacas Sanas</b>	<b>% Vacas Sanas</b>	<b>Vacas con ES</b>	<b>% Vacas con ES</b>	<b>Total vacas</b>
<b>Lac. 1</b>	47	75,8	15	24,2	62
<b>Lac. 2</b>	92	82,1	20	17,9	112
<b>Lac. 3</b>	45	81,8	10	18,2	55
<b>Lac. 4 o +</b>	38	84,4	7	15,6	45
<b>Total vacas</b>	<b>222</b>		<b>52</b>		<b>274</b>

### 6.1.3. Producción Láctea

En primer término se ordenaron los LT de las 274 vacas según su lactancia, y dentro de cada una de ellas, se distinguieron como subgrupos las vacas sanas de las vacas con ES. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre lactancias (Lac. 1 P = 0,7361; Lac. 2 P = 0,9848; Lac. 3 P = 0,3480; Lac. 4 o + P = 0,4713) (Gráfico 7).

Gráfico 7. Media y error estándar de producción láctea por lactancia y por estado de la mucosa uterina

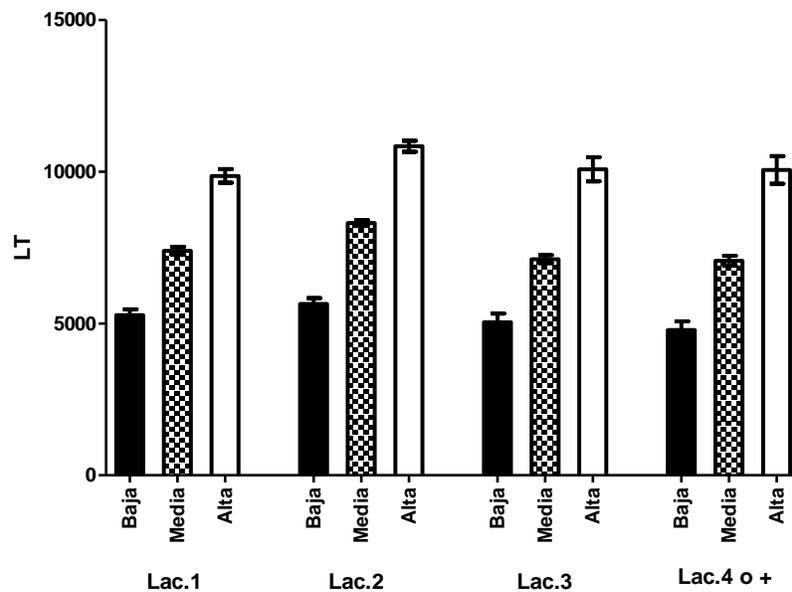


A su vez, dentro de cada lactancia, se ordenaron los litros totales de cada vaca en forma ascendente y se agruparon en tres categorías de producción: baja, media y alta. Se determinó si los tercios mostraban diferencias significativas entre sí para los cuatro subgrupos de NP (Lac. 1, Lac. 2, Lac. 3, Lac. 4 o +), con resultados favorables ( $P < 0,0001$ ) (Gráfico 8). El primer tercio o categoría de

producción estuvo integrado por los animales de menor producción, el segundo por las vacas intermedias y por ende, el tercero comprendió a las más productoras.

Se puede observar que de los tercios Alta, la mayor productividad se da en las vacas de segunda lactancia ( $10.838 \pm 180$  LT) seguidas por la tercera lactancia ( $10.079 \pm 395$  LT), luego la cuarta o más lactancias ( $10.060 \pm 454$  LT) y por último la primera lactancia ( $9.862 \pm 223$  LT). En relación a los tercios Media, también tuvieron su máxima expresión en la Lac. 2 ( $8.311 \pm 97$  LT), luego las Lac. 1 ( $7.394 \pm 131$  LT), Lac. 3 ( $7.120 \pm 131$  LT) y Lac. 4 o + ( $7.067 \pm 167$  LT). El tercio de menor productividad (Baja) tuvo una mejor *performance* al igual que en los otros tercios en la segunda lactancia ( $5.645 \pm 193$  LT), disminuyendo en la Lac. 1 ( $5.278 \pm 191$  LT), en la Lac. 3 ( $5.040 \pm 284$  LT) y por último en la Lac. 4 o + ( $4.786 \pm 284$  LT).

Gráfico 8. Media y error estándar de producción láctea por lactancia y por categoría de producción



Las medias y errores estándar de los LT por categoría de producción (alta, media, baja) para cada una de las lactancias y diferenciando vacas sanas y con ES, se expresan en la Tabla 8. Se observó que la producción de litros totales para cada grupo de vacas se comporta, de acuerdo a la lactancia que se analice, de manera disímil. No obstante, en ningún caso resultaron diferencias estadísticamente significativas.

Es así, que las vacas de primera lactancia que presentaron endometritis subclínica, en promedio tuvieron menor producción láctea total que las vacas que no padecieron dicha patología, repitiéndose esta situación en la tercera lactancia.

Por el contrario las vacas de segunda lactancia tienen una situación opuesta a las lactancias antes mencionadas ya que en este caso las vacas que sufrieron ES superaron en promedio de LT a las producciones de las vacas secas en las tres categorías de producción. En relación a las vacas más longevas (Lac. 4 o +) la distribución no tienen una tendencia en como en las lactancias menores.

Tabla 8. Medias y errores estándar de LT de Vacas Sanas y de Vacas con ES por lactancia y por categoría de producción				
		Vacas Sanas	Vacas con ES	P
<b>Lactancia 1</b>	<b>Baja</b>	5241 ± 204	5146 ± 576	0.9245
	<b>Media</b>	7409 ± 173	7224 ± 209	0.6540
	<b>Alta</b>	9961 ± 266	9440 ± 243	0.5304
<b>Lactancia 2</b>	<b>Baja</b>	5781 ± 197	5133 ± 532	0.2303
	<b>Media</b>	8283 ± 106	8539 ± 216	0.3399
	<b>Alta</b>	10820 ± 216	10920 ± 313	0.6982
<b>Lactancia 3</b>	<b>Baja</b>	5132 ± 338	4719 ± 538	0.3959
	<b>Media</b>	7140 ± 148	7017 ± 323	0.8126
	<b>Alta</b>	10250 ± 446	9150 ± 664	0.2396
<b>Lactancia 4 o +</b>	<b>Baja</b>	4740 ± 325	5086 ± 392	0.6962
	<b>Media</b>	7117 ± 171	6366 ± 0	-----
	<b>Alta</b>	10060 ± 509	10060 ± 1111	0.7437

En relación a la misma variable productiva, se analizó también la distribución del porcentaje de vacas sanas, y vacas con ES en cada una de las tres categorías de producción (Baja, Media y Alta), para cada una de los subgrupos de lactancia estudiados. Los mismos se pueden observar en las Tablas 9, 10, 11 y 12.

Los registros de la Tabla 11 muestran que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $P = 0,5015$ ) entre los porcentajes de vacas con ES en la tercera lactancia, en relación a los subgrupos de producción.

Por el contrario en las vacas primíparas se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $P = 0,0353$ ) en el subgrupo Media (33,3 % de vacas con ES). En la segunda lactancia se invierte esta relación siendo las vacas del subgrupo Media las que presentan menor prevalencia de ES (10,8 %), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $P = 0,0329$ ). En las lactancias cuarta o superiores, se observa una diferencia estadísticamente significativa ( $P = 0,0003$ ) en el subgrupo Alta con una prevalencia de 26,7 % de vacas con ES.

Tabla 9. Distribución de vacas por categoría de producción. Lactancia 1					
	Vacas Sanas	% Vacas Sanas	Vacas con ES	% Vacas con ES	Total
<b>Baja</b>	16	80 (a)	4	20 (a)	20
<b>Media</b>	14	66,7 (b)	7	33,3 (b)	21
<b>Alta</b>	17	81 (a)	4	19 (a)	21
<b>Total</b>	47		15		62
Dentro de una columna, letras diferentes indican diferencias significativas; ( $P=0,0353$ )					

Tabla 10. Distribución de vacas por categoría de producción. Lactancia 2

	<b>Vacas Sanas</b>	<b>% Vacas Sanas</b>	<b>Vacas con ES</b>	<b>% Vacas con ES</b>	<b>Total</b>
<b>Baja</b>	30	79 (a)	8	21 (a)	38
<b>Media</b>	33	89,2 (b)	4	10,8 (b)	37
<b>Alta</b>	29	78,4 (a)	8	21,6 (a)	37
<b>Total</b>	92		20		112

Dentro de una columna, letras diferentes indican diferencias significativas; (P=0,0329)

Tabla 11. Distribución de vacas por categoría de producción. Lactancia 3

	<b>Vacas Sanas</b>	<b>% Vacas Sanas</b>	<b>Vacas con ES</b>	<b>% Vacas con ES</b>	<b>Total</b>
<b>Baja</b>	14	77,8 (a)	4	22,2 (a)	18
<b>Media</b>	15	83,3 (a)	3	16,7 (a)	18
<b>Alta</b>	16	84,2 (a)	3	15,8 (a)	19
<b>Total</b>	45		10		55

Dentro de una columna, letras diferentes indican diferencias significativas; (P=0,5015)

Tabla 12. Distribución de vacas por categoría de producción. Lactancia 4 o +

	<b>Vacas Sanas</b>	<b>% Vacas Sanas</b>	<b>Vacas con ES</b>	<b>% Vacas con ES</b>	<b>Total</b>
<b>Baja</b>	13	86,7 (a)	2	13,3 (a)	15
<b>Media</b>	14	93,3 (a)	1	6,7 (a)	15
<b>Alta</b>	11	73,3 (b)	4	26,7 (b)	15
<b>Total</b>	38		7		45

Dentro de una columna, letras diferentes indican diferencias significativas; (P=0,0003)

Tabla 13. *Performance* Productiva y Reproductiva de vacas sanas y vacas con ES por Lactancia

<b>LACTANCIA 1</b>							
	<b>n</b>	<b>IPPS (días)</b>	<b>IPC (días)</b>	<b>%PPS</b>	<b>NSP</b>	<b>LT</b>	<b>CC</b>
<b>Vacas Sanas</b>	47	84 (62) (a)	88 (97) (a)	55,3 (a)	1 (1) (a)	7.691 (a)	2,5 (0,5) (a)
<b>Vacas con ES</b>	15	96 (54) (a)	218 (198) (b)	13,3 (b)	7 (7) (b)	6.848 (a)	2,75 (0,25) (a)
<b>LACTANCIA 2</b>							
	<b>n</b>	<b>IPPS (días)</b>	<b>IPC (días)</b>	<b>%PPS</b>	<b>NSP</b>	<b>LT</b>	<b>CC</b>
<b>Vacas Sanas</b>	92	86 (45,5) (a)	113 (94,6) (a)	39,1 (a)	2 (3) (a)	8.123 (a)	2,5 (0,25) (a)
<b>Vacas con ES</b>	20	93,5 (37,1) (a)	169,5 (96,5) (b)	25,0 (b)	4 (4,5) (b)	8.556 (a)	2,5 (0,44) (a)
<b>LACTANCIA 3</b>							
	<b>n</b>	<b>IPPS (días)</b>	<b>IPC (días)</b>	<b>%PPS</b>	<b>NSP</b>	<b>LT</b>	<b>CC</b>
<b>Vacas Sanas</b>	45	84 (44) (a)	118 (89,5) (a)	33,3 (a)	3 (3) (a)	7.238 (a)	2,5 (0,25) (a)
<b>Vacas con ES</b>	10	84 (35,5) (a)	119 (98,3) (a)	10,0 (b)	3 (4,3) (a)	6.834 (a)	2,5 (0,31) (a)
<b>LACTANCIA 4 o más</b>							
	<b>n</b>	<b>IPPS (días)</b>	<b>IPC (días)</b>	<b>%PPS</b>	<b>NSP</b>	<b>LT</b>	<b>CC</b>
<b>Vacas Sanas</b>	38	85 (52,5) (a)	132 (95,8) (a)	31,6 (a)	2 (3) (a)	7.165 (a)	2,5 (0,31) (a)
<b>Vacas con ES</b>	7	91 (56) (a)	175 (170) (a)	0,0 (b)	4 (6) (b)	8.135 (a)	2,5 (0,25) (a)
Dentro de una columna, letras diferentes indican diferencias significativas; $P < 0,05$ IPPS: Intervalo Parto Primer Servicio expresado en Mediana (Rango Intercuartílico) IPC: Intervalo Parto Concepción expresado en Mediana (Rango Intercuartílico) %PPS: Porcentaje de Preñez al Primer Servicio NSP: Número de Servicios por preñez expresado en Mediana (Rango Intercuartílico)							

En la Tabla 13 se detallan los resultados obtenidos al relacionar la presencia de endometritis subclínica con el número de partos de esas vacas. Las vacas primíparas manifestaron diferencias estadísticamente significativas al comparar sanas con aquellas que poseen ES, en detrimento de estas últimas. El mismo comportamiento de los datos se observó para IPC, %PPS y NSP, no así para IPPS. Por el contrario, no se encontró diferencia significativa entre las variables productivas estudiadas (CC y LT). Del mismo modo, las vacas múltiparas de segunda lactancia con ES, tuvieron un comportamiento reproductivo menor que las vacas sanas. Las vacas de tercera y cuarta lactancia tuvieron afectadas sus performances reproductivas en cuanto al %PPS y las vacas de cuarta lactancia también requirieron más servicios por preñez.

## **6.2. EXPERIMENTO 2**

### **6.2.1. Sistemas de producción**

Para cada uno de los subgrupos de los sistemas de producción se determinó la presencia de vacas con endometritis subclínica para poder evaluar también si existían diferencias en base al avance de los DEL que fueron organizados en dos períodos (21-38 DEL; 39-56 DEL). Se obtuvo la distribución que se observan en la Tabla 14.

Tabla 14. Comparación de prevalencias de vacas sanas y vacas con endometritis subclínica entre sistema a pastoreo con suplementación y sistema estabulado por grupos de días en leche (DEL)

Grupo 1: Sistema a pastoreo					
<b>DEL</b>	<b>Vacas con ES</b>	<b>% Vacas con ES</b>	<b>Vacas Sanas</b>	<b>% Vacas Sanas</b>	<b>Total</b>
<b>21-38</b>	23	21,1	86	78,9	<b>109</b>
<b>39-56</b>	7	14,9	40	85,1	<b>47</b>
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>19,2</b>	<b>126</b>	<b>80,8</b>	<b>156</b>
Grupo 2: Sistema estabulado (Free Stall)					
<b>DEL</b>	<b>Vacas con ES</b>	<b>% Vacas con ES</b>	<b>Vacas Sanas</b>	<b>% Vacas Sanas</b>	<b>Total</b>
<b>21-33</b>	9	17,0	44	83,0	<b>53</b>
<b>39-56</b>	13	20,0	52	80,0	<b>65</b>
<b>Total</b>	<b>22</b>	<b>18,6</b>	<b>96</b>	<b>81,4</b>	<b>118</b>

En base a los resultados expresados en la Tabla 14 surge que las diferencias entre los dos sistemas analizados no son estadísticamente significativas ( $P = 0,6781$ ). A su vez se observa en relación a las vacas con ES una distribución inversa entre los dos sistemas y los DEL, ya que hay una disminución del 21,1 % al 14,9 % a medida que avanzan los DEL de animales con endometritis subclínica en el sistema a pastoreo en contraposición a los animales bajo régimen estabulado en donde el porcentaje de vacas con ES aumenta del 17,0 % al 20,0 % ( $P = 0,3518$ ) con los DEL. Por otro lado, no se observan diferencias estadísticas significativas

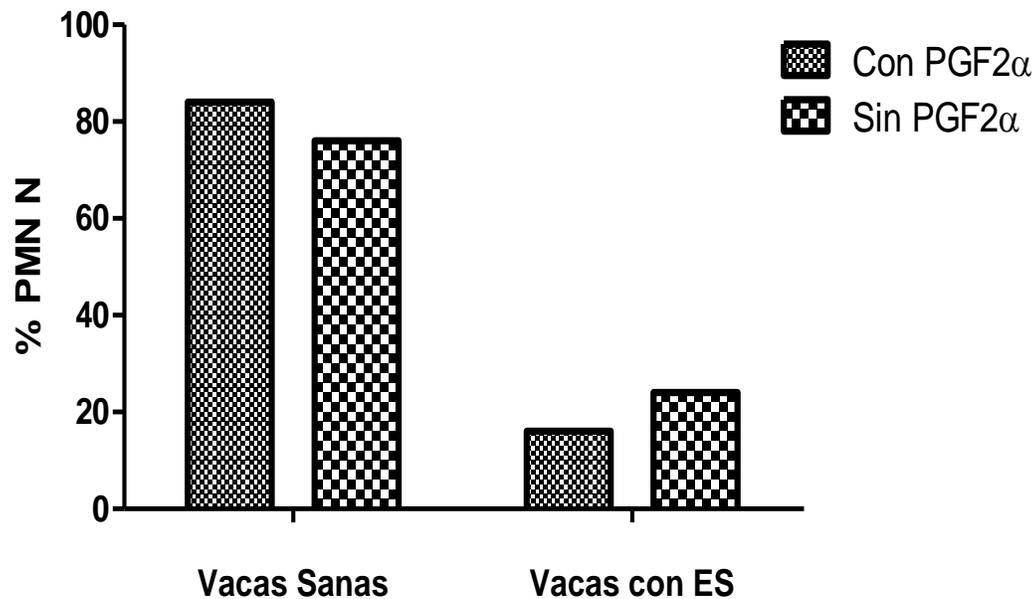
entre los animales sanos en el sistema a pastoreo y los del sistema *Free Stall*. (P= 0,6190).

### **6.3. EXPERIMENTO 3**

#### **6.3.1. Terapéutica**

Se determinó para cada uno de los subgrupos (182 vacas con PGF2 $\alpha$  y 92 vacas sin PGF2 $\alpha$ ) la presencia de endometritis subclínica, para observar si la aplicación de este producto de manera rutinaria disminuía la prevalencia de dicha enfermedad en los establecimientos que la aplicaban (Gráfico 9).

Gráfico 9. Comparación de prevalencias de endometritis subclínica para cada uno de los grupos (con PGF2 $\alpha$  y sin PGF2 $\alpha$ )



En base a los resultados observados en el Gráfico 9 se deduce que la aplicación de prostaglandinas sintéticas (PGF2 $\alpha$ ) en el período del posparto estudiado no disminuye el porcentaje y desarrollo de aparición de la endometritis subclínica.

Tabla 15. Evaluación de la respuesta de las vacas con ES a la aplicación de PGF2 $\alpha$			
	Vacas Sanas (1°) - Vacas Sanas (2°)	Vacas con ES (1°) - Vacas Sanas (2°)	Vacas con ES (1°) - Vacas con ES (2°)
Sin PGF2 $\alpha$	6 (60%)	2 (20%)	2 (20%)
Con PGF2 $\alpha$	14 (56%)	6 (24%)	4 (20%)

En la tabla 15 se puede observar que el tratamiento con  $\text{PGF2}\alpha$ , no disminuyó la aparición de endometritis subclínica ya que solamente el 24 % de las vacas revirtió la situación a vacas sanas, situación similar al 20 % de aquellas vacas que no recibieron aplicación de  $\text{PGF2}\alpha$  y durante el segundo muestreo no padecieron endometritis subclínica (remisión espontánea). A su vez el 20 % de las vacas con ES a pesar de recibir la aplicación de  $\text{PGF2}\alpha$  mantuvieron su situación de vacas enfermas al igual que las vacas sin aplicación de  $\text{PGF2}\alpha$ .

## 7. DISCUSIÓN

La producción de la vaca lechera Holstein ha aumentado notablemente en los últimos 40 años y, en la mayoría de los países ha duplicado sus niveles de producción, gracias a una combinación de mejoras en la genética, la alimentación y el manejo, pero con un enfoque muy particular, sólo buscando el mayor volumen de producción láctea individual (Rodríguez-Martínez y col., 2008). La fertilidad es uno de los aspectos más complejos de la reproducción animal, siendo influenciada indiscutiblemente por los genes y por el ambiente. Sin embargo, aunque estos dos componentes actúan conjuntamente, se enmascaran sinérgicamente, confundiendo cada uno las contribuciones del otro, y complicando las estrategias de selección por fertilidad, lo que finalmente influye sobre la eficiencia reproductiva (Pryce y col., 2004; Löf y col., 2007). Según lo mencionado anteriormente, la selección enfocada sólo por el volumen de leche producida ha sido constante en lechería. Desafortunadamente, hay correlaciones genéticas negativas claras, varias veces más fuertes que las fenotípicas (Roxström y col., 2001a; Roxström y col., 2001b), entre la tasa de producción de leche y la fertilidad, la presencia de mastitis y otras patologías (problemas podales, endometritis, rasgos de la salud en general). Existen

trabajos en donde se muestran correlaciones desfavorables encontradas, indicando que la selección solamente para la producción de leche conduce a una menor eficiencia reproductiva y a una menor salud animal, afectando seriamente el bienestar de la vacas lecheras (Hultgren y col., 2004; Oltenacu y col., 2005). Por ello es importante y necesario tener una visión integradora y macroscópica de todos los componentes de la producción, y un conocimiento de las interacciones entre sus elementos, para comprender los mecanismos asociados a la productividad y a la eficiencia del sistema, y a sus características a lo largo del tiempo (Marini y Oyarzabal, 2002).

Dentro de las patologías reproductivas, las enfermedades con asiento a nivel uterino durante el postparto son una importante causa de reducción de la eficiencia reproductiva en vacas lecheras (Lewis, 1997). La endometritis subclínica es una enfermedad multifactorial con gran impacto económico, que reduce la eficiencia reproductiva del ganado lechero (Kaufmann y col., 2010), desarrollando fallas embrionarias tempranas por una alteración en la calidad del embrión (Hill y col., 2008).

Se observó en distintos trabajos diferencias en el umbral mínimo de PMN N utilizado para determinar la presencia de endometritis subclínica. Por ello, se determinó el valor o punto de corte del % PMN N para la endometritis subclínica, en base a la predicción de preñez a los 210 DEL. De nuestros registros, el que se

corresponde con la mejor sensibilidad y especificidad fue del 6,18 % PMN N, dicho valor se encuentra cercano al 6,5 % PMN N reportado por Galvão, y col. (2009) y al 5 % propuesto por Gilbert y col. (2005), Galvão, y col. (2009), Plöntzke y col. (2010) y Senosy y col. (2011), motivo por el cual se consideró que el punto de corte utilizado por los autores mencionados anteriormente y el obtenido en este trabajo podrían ser empleados como valores de referencia para futuros estudios.

De los resultados obtenidos se puede deducir que la prevalencia de endometritis subclínica de los establecimientos lecheros analizados, del sur de la provincia de Santa Fe (Argentina) varían entre el 12,5 % y el 25,8 %, con una media del 19 %. Es decir, que en la región analizada, sur de la provincia de Santa Fe-Argentina, una de cada cinco vacas sufren de endometritis subclínica en el período posparto.

Si se compara con los resultados obtenidos por autores nacionales e internacionales, los citados anteriormente, son inferiores al 35 % hallado en los sistemas intensivos estabulados por Kasimanickam y col. (2004) ó al 53 % descripto por Gilbert y col. (2005), incluso al 38 % en sistemas a pastoreo comunicado por Plöntzke y col. (2010), pero se encuentran por encima del 10,1 % encontrado por Madoz y col. (2008) también en sistemas a pastoreo.

Los trabajos de Madoz y col. (2008) y Plöntzke y col. (2010) fueron realizados en establecimientos de la República Argentina pero ubicados en otras

cuencas lecheras, situándose ambos valores por debajo y encima de la prevalencia hallada en los sistemas estudiados en el presente trabajo. Asimismo, cuando se analizan las prevalencias de endometritis subclínica de acuerdo a los sistemas de producción se obtiene una media de 19,2 % en el sistema a pastoreo y de 18,7 % para el sistema estabulado, por tal motivo se podría deducir que ambos sistemas de producción no presentan diferencias en la prevalencia de endometritis subclínica, al menos para el área geográfica estudiada. La prevalencia del 18,7 % obtenida en sistemas estabulados de nuestra región es superior a lo observado en sistemas de explotación similares en diferentes regiones como la del 12,4 % comunicada por Kaufmann y col. (2010); y menores al 25,9 % reportado por Cheong y col. (2011), al 35 % informado por Kasimanickam y col. (2004) o al 53 % descrito por Gilbert y col. (2005).

Estos resultados muestran una importante dispersión de los valores de prevalencia de la enfermedad estudiada, permitiendo inferir que existen aún muchos factores que no han sido tenidos en cuenta a la hora de la evaluación, que provocarían el desarrollo de la misma.

En cuanto a la repercusión sobre las variables reproductivas estudiadas, se observó que si bien las vacas con endometritis subclínica fueron inseminadas en promedio a los 93 días de leche y las vacas sanas lo hicieron en promedio a las 85 días de leche, esta diferencia en la cantidad de días, para ambos grupos, entre el

parto y el primer servicio no resulta estadísticamente significativa. Esta situación coincide con los datos reportados por Plöntzke y col. (2010). El intervalo entre el parto y el primer servicio (IPPS) debería promediar los sesenta (60) días, estos resultados están relativamente cerca del óptimo requerido, por lo tanto, el factor humano en la detección de celos y el manejo alimenticio para la reanudación cíclica estuvieron garantizados. Esta ausencia de diferencias significativas se debe a que al ser la endometritis subclínica una entidad justamente que no presenta signos clínicos evidentes, la vaca que padezca la misma será inseminada al mismo tiempo que la vaca sana, al ser considerada como tal por el técnico inseminador.

Por otro lado cuando se observa el porcentaje de preñez durante ese primer servicio o inseminación artificial (% PPS), el 40,5 % de las vacas sanas quedaron preñadas durante el primer servicio, y solamente el 15,4 % de las vacas con endometritis subclínica lograron la preñez en ese servicio, siendo esta diferencia estadísticamente significativa contrariamente a lo encontrado por Plöntzke y col. (2010) que no observaron diferencias entre dichos porcentajes (28,8 % vacas sanas y 28,6 % vacas con ES).

Por tal motivo, los servicios necesarios para lograr la preñez de las vacas con endometritis subclínica con respecto a las que no lo padecen se incrementaron (tres (3) NSP para vacas con ES, y dos (2) NSP para vacas sanas) y por ende retrasaron la preñez durante al menos un ciclo estral, aumentando así los días

abiertos, repercutiendo negativamente en la economía tambera. Este aumento en el NSP también se ve reflejado en el mayor porcentaje de vacas con ES (59,6 %) que requirieron tres (3) o más servicios en relación a las vacas sanas (39,2 %) que necesitan ese NSP.

El mencionado aumento en el NSP también se vió reflejado en el intervalo parto concepción ya que las vacas con endometritis subclínica retrasaron en promedio su concepción en 53 días (166 días IPC para vacas con ES, y 113 días IPC para vacas sanas). Este último dato coincide con los obtenidos por Madoz y col. (2008) que describieron un incremento de días abiertos. En dicho trabajo el IPC se aumentó en 52 días. Sin embargo, estos resultados que demostrarían una relación entre la endometritis subclínica y la eficiencia reproductiva, no concordarían con reportes realizados por Plöntzke y col. (2010) en donde no han encontrado que la endometritis subclínica afecte la eficiencia reproductiva de las vacas en sistemas a pastoreo en Argentina.

La relación que existiría entre la endometritis subclínica y la concepción se puede sustentar con los diferentes porcentajes de preñez durante período posparto analizado. Es así que antes de los 82 días de leche (tiempo límite para que la vaca pueda tener un parto por año) el 30,6 % de las vacas sanas estaban preñadas cuando sólo el 11,5 % de las vacas con ES lo habían logrado. A medida que avanzan los DEL se van preñando con diferentes porcentajes en cada grupo, logrando la preñez

a los 210 DEL el 90,5 % de las vacas sanas y solamente el 65,4 % de las vacas con ES estaban preñadas. Por ende sólo el 9,5 % de las vacas sanas quedaron vacías a los 210 días de leche, por el contrario el 34,6 % de las vacas con endometritis subclínica quedaron vacías luego del mismo período de tiempo.

Las vacas que padecen trastornos metabólicos en el período del parto son más propensas a un aumento en la incidencia de mastitis, cojera y endometritis (Roche, 2006) todo lo cual contribuye a la reducción de la eficiencia reproductiva. Además de ser predisponentes para la producción de estas enfermedades, dichos trastornos causan graves pérdidas económicas a la industria lechera y también tienen grandes implicancias sobre el bienestar animal (Ouweltjes y col., 1996; Ahmadzadeh y col., 2009).

Como se aclaró en párrafos anteriores, es necesario conocer el comportamiento de otros factores de la producción, en este caso, el balance energético negativo se relaciona negativamente con los desórdenes metabólicos y locomotores, tales como fiebre de leche, cetosis, laminitis y endometritis (Collard y col., 2000). Debido a que las vacas de alta producción, para poder mantener una buena condición corporal (CC), tienen que pasar buena parte del día y de la noche comiendo y rumiando en lugar de realizar otras conductas como el cuidado de la piel, la exploración, la interacción social o el exhibir el comportamiento sexual (Jensen y col., 2002), el balance energético negativo también les afecta a las vacas

en su comportamiento en forma negativa. Cuando las mismas perciben su situación como estresante y no pueden hacerle frente, comienzan a comportarse en forma anormal, activa o pasivamente. En las primeras se ven comportamientos como exteriorización y enrollamiento de la lengua, inclinación de la cabeza, presión del morro contra objetos y amamantamiento de sí misma o de otras vacas. En las segundas se observan que simplemente se vuelven cada vez más inactivas y hasta reducen su ingesta (Lidfors y col., 2002).

El balance energético negativo durante el puerperio en las vacas se puede inferir por la inspección de las mismas reflejado en un menor CC (Gallardo y col., 2000). Como se mencionó en el apartado de revisión bibliográfica el balance energético negativo no permite el correcto funcionamiento de la actividad fagocítica de los leucocitos (Hamonn y col., 2006), deteriorando así las funciones de la inmunidad innata (Le Blanc, 2008) y aumentando las chances de desarrollo de ES en vacas con menor CC. A pesar de lo expuesto, no se observaron diferencias en el porcentaje de vacas que manifiestan ES en cada uno de los grupos de CC estudiados. Dicho porcentaje se mantuvo alrededor del 19%, sin encontrarse diferencias significativas entre vacas de menor o mayor condición corporal.

Con respecto al número de partos (NP), las vacas primíparas mostraron un 24,2 % de prevalencia de ES y las vacas múltiparas un 17,5 % con ES, diferencias que no fueron significativas. A su vez las vacas múltiparas se comportaron

diferentes de acuerdo a la cantidad de partos que haya tenido esa vaca. Es así que las vacas de segunda lactancia tuvieron un porcentaje de ES del 17,9 %, las vacas de tercer parto un 18,2 % y las vacas de cuatro partos o más redujeron ese valor al 15,6 %. Dicha diferencia no es estadísticamente significativa por tal motivo no es una variable que incida en el desarrollo de endometritis subclínica. El hallazgo de una mayor prevalencia de ES en primíparas que en multíparas, son diferentes a los registrados por Plöntzke y col. (2010) en establecimientos lecheros con sistemas pastoriles de la República Argentina, ya que en los mismos se obtuvo una prevalencia menor para primíparas (35 %) que para multíparas (39 %), al igual que lo discutido por Cheong y col. (2011), con una prevalencia de 20,1 % para primíparas y de 26,4 % para multíparas y por los resultados comunicados por Kaufmann y col. (2010) donde las vacas primíparas tuvieron una prevalencia de ES de 7,8 % mucho menor al 15,2 % de las vacas multíparas, aunque estas publicaciones coinciden con los resultados de esta tesis en relación a la no existencia de relación entre el NP y el desarrollo de ES.

Las producciones totales de los tres subgrupos (Baja, Media y Alta) de cada una de las lactancias, manifestaron diferencias estadísticamente significativas en sus medias y errores estándar. Cuando se analizaron las producciones de cada subgrupo (vacas sanas, vacas con ES) dentro de cada lactancia se observó que las vacas sanas y las vacas con ES no tuvieron diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo en la segunda lactancia se evidenció una tendencia de

las vacas con endometritis subclínica en las tres categorías de producción a superar la media de las vacas sanas en cuanto a la producción total.

Esto se sustenta, bajo el término global de “enfermedades de la producción” en vacas lecheras se incluyen actualmente no solamente los clásicos desórdenes metabólicos resultantes de deficiencias y/o desequilibrios nutricionales o asociadas a fallas en los mecanismos homeostáticos de control (como la cetosis clínica, la hipocalcemia puerperal, la tetania hipomagnésica y algunas enfermedades de los estómagos, como la acidosis ruminal, el meteorismo espumoso y el desplazamiento del abomaso), sino también a todo un conjunto de afecciones clínicas y subclínicas, ligadas no sólo a la cantidad y calidad del alimento suministrado, sino también a la interacción entre los distintos nutrientes, la forma y tiempo de suministro de los alimentos, los niveles de producción y la forma en que los nutrientes son canalizados en forma diferencial a diferentes órganos y tejidos, por los mecanismos homeoréticos de control, de acuerdo al cuadro endocrinológico predominante en los diferentes estadios productivos y reproductivos por los que va atravesando el animal (Bauman y col., 1980; Wieland, O, 1968; Breukink y col., 1992; Corbellini, 1998; Gerloff, 1988; Gröhn y col., 1989).

Existe cierta evidencia que sugiere que la prevalencia de estos trastornos se ha ido incrementando a medida que aumentó el potencial genético de producción (Hamann, 1994), a nivel práctico parece existir una correlación negativa entre el

nivel de producción y la eficiencia reproductiva o la aparición de otras enfermedades (Hamann, 1994; Chagas, 2007). Otros estudios detallados, ya sea sobre un número relativamente pequeños de animales en condiciones experimentales bien controladas (Staples y col., 1997) o estudios epidemiológicos extensivos de campo (Jónsson, 1994), no siempre han conseguido demostrar esa correlación. Lo que sí parece suceder, es que, de las dos características fisiológicas que diferencian a un animal de alto mérito genético de otro de menor potencial (uno es la capacidad de consumo y el otro, la capacidad de repartición de nutrientes) (Vernon, 1988; Royal y col., 2000), no han crecido ambos en forma paralela, por lo que la capacidad de movilización de los tejidos de reserva parece ser más elevada en los animales de alto mérito (Veerkamp, 1998), lo que los hace más vulnerables a desbalances alimentarios sutiles, en aras de sostener su potencial de producción (Andersson y col., 1991).

Así como la constitución génica es responsable de mérito productivo de una especie vegetal o animal, la conformación estructural y funcional del sistema de producción es determinante de su performance potencial. Consecuentemente es factible advertir que sistemas de conformación diferentes pueden responder de manera distinta dentro de un mismo ambiente, y que sistemas de conformación similar localizados en ambientes distintos, pueden también dar lugar a resultados diferentes. (Viglizzo, 1989). Cuando se habla de una interacción sistema ambiente,

es necesario reconocer que el sistema a pastoreo con mayor o menor suplementación no puede ser controlado por el hombre en su totalidad, que lo diferencia con el estabulado o tipo *Free Stall* en donde el hombre controla todos los factores dentro del mismo, haciendo que las variables ambientales pierdan relevancia ya que las mismas son artificialmente llevadas a un estado de relativa invariancia. Sin embargo, otras variables se deberían tener en cuenta en estos sistemas, ya que la intensificación, genera agresión y dolores crónicos trayendo como consecuencia una reducción de la calidad de vida.

El sistema utilizado para la explotación tampera fue otra de las variables que se analizó, en donde se obtuvieron diferencias significativas en la frecuencia de aparición de endometritis subclínica. Se pudo apreciar un porcentaje similar de dicha entidad mórbida en los establecimientos estabulados tipo *Free Stall* (18,6 %) y en los sistemas a pastoreo con suplementación (19,2 %). Pero cuando se subdividió el período analizado en dos segmentos (21-38 DEL; 39-56 DEL), se observó que a medida que transcurrían los DEL en el sistema a pastoreo descendía el porcentaje de animales con ES de 21,1 % entre los 21-38 DEL al 14,9 % a los 39-56 DEL. Por el contrario en el sistema estabulado sucedió lo inverso, a medida que avanzaron los DEL se incrementó la proporción de animales positivos a ES con 16,7 % (21-38 DEL) y 20 % (39-56 DEL). Al final de los días de espera voluntaria, momento cuando las mismas se liberan a servicio, presenta un desarrollo mayor de

vacas con ES el sistema *free stall* (20 %) en relación al 14,9 % del sistema a pastoreo con suplementación, coincidiendo y reforzando lo planteado por Hammon y col. (2006), en donde las vacas sufren un periodo de inmunodeficiencia en torno al parto debido al estrés (hacinamiento, baja calidad de la ración, pobre confort, calor), cambios en los perfiles hormonales, reducción de la ingesta y una actividad de los neutrófilos reducida desde el parto hasta la tercera semana postparto.

Si la tendencia hacia una mayor intensificación de los sistemas lecheros argentinos es cada vez mayor y el sistema estabulado (*free stall*) como máxima expresión de la misma, tiene cada vez mayor adopción en nuestro país, la endometritis subclínica se debería incorporar para el tratamiento y prevención como una de las llamadas enfermedades de la producción.

El tratamiento de la endometritis subclínica con PGF2 $\alpha$  o sus análogos, aplicación de antibióticos intrauterinos y/o enzimas proteolíticas mostraron resultados heterogéneos en las diversas investigaciones (Lincke y col., 2007).

Kasimanickam y col. (2005 b) reportaron una gran eficiencia en la respuesta reproductiva de las vacas con la aplicación de 500  $\mu$ g intramusculares de un análogo de la prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) como el cloprostenol y una infusión intrauterina de 500 mg cefapirina benzatínica para el tratamiento de endometritis subclínica. También se describe que el uso sistemático de la PGF2 $\alpha$  a la 5 $^{\circ}$  y 7 $^{\circ}$

semanas después del parto puede mejorar la tasa de preñez (Leblanc, 2008). La aplicación de  $PGF2\alpha$ , se fundamenta en la inducción de celo en las vacas con un cuerpo lúteo sensible a prostaglandinas, y la expulsión física de microorganismos y productos de la inflamación (Galvão y col., 2009), todo esto por los efectos propios del accionar de la  $PGF2\alpha$  y sus análogos como la de favorecer la llegada y actividad de los PMN N, provocar una presencia de inmunoglobulinas en el FCV, aumentar el tono y contractilidad uterina, y provocar la lisis del cuerpo lúteo sensible.

Por otro lado, Galvão y col. (2009) no encontraron respuesta en la reducción de endometritis subclínica con el tratamiento con  $PGF2\alpha$ . Dubuc y col. (2011) también obtuvieron resultados insatisfactorios en el tratamiento de endometritis subclínica con la aplicación de  $PGF2\alpha$  independientemente de las concentraciones de progesterona al momento del tratamiento. La aplicación intrauterina de ceftiofur (clorhidrato) tampoco mejoró la prevalencia de endometritis subclínica.

Existe un gran interés tanto de grupos de investigadores, como en profesionales que se desempeñan en la actividad privada (Charmandarian, Comunicación personal), en el desarrollo y aplicación de tratamientos específicos para la endometritis subclínica. Si bien lo observado en esta tesis es de carácter netamente anecdótico por la metodología empleada coincide con resultados de trabajos anteriores realizados por otros autores (Galvão y col., 2009) que no encontraron mejorías con la utilización de dicho producto y sin embargo, no

concuerdan con lo observado por otros (Kasimanickam y col., 2005 b; LeBlanc, 2008) quienes sostienen una gran efectividad de la PGF2 $\alpha$  en el tratamiento de endometritis subclínica. Por otro lado, las observaciones coinciden con lo planteado por Bartolomé y col. (2011) en donde concluyeron que hasta el momento los tratamientos no han demostrado resultados convincentes para endometritis subclínica.

Kasimanickam y col. (2005 b) concluye que el esfuerzo para identificar las vacas con endometritis subclínica para su tratamiento dependerá del costo de los test de diagnóstico, el costo del tratamiento, el desempeño reproductivo del rodeo y la prevalencia de la enfermedad. Numerosos antibióticos y antisépticos han sido utilizados para tratar la endometritis. Los ejemplos incluyen penicilina, gentamicina y dehidroestreptomomicina, intrauterina y parenteral. Muchos han demostrado no ser efectivos para el tratamiento de las condiciones uterinas, mientras que el desempeño de otros es difícil de interpretar debido a la falta de criterios diagnósticos consistentes y claros (Kasimanickam y col., 2005 b; Paisley y col., 1986).

## 8. CONCLUSIONES

La endometritis subclínica repercute en forma negativa sobre la reproducción, incrementando el número de servicios por preñez y retrasando el intervalo parto concepción, alargando así los días abiertos de las vacas lecheras.

Las variables productivas como el estado corporal, el número de partos, y la producción láctea, no influenciaron en el desarrollo de endometritis subclínica en las vacas estudiadas.

El sistema de producción influiría en el desarrollo de ES ya que al final del período posparto estudiado los animales en sistemas a pastoreo con suplementación sólo el 14,9 % de las vacas desarrollaban la enfermedad en contraposición al 20 % de animales con ES en el sistema estabulado tipo *Free Stall*.

La endometritis subclínica es una entidad que repercutiría en la eficiencia reproductiva de los establecimientos lecheros, es por esta razón que se considera de sumo interés continuar con su estudio, para lograr principalmente disminuir su prevalencia y obtener un tratamiento efectivo en aquellos animales que lo padezcan en el futuro.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Alba Gómez, L.O. y Silveira Prado, E.A. (2006). La leucorrea vaginal bovina de carácter no inflamatorio y su significación clínica -The bovine vaginal leucorrhoea of non inflammatory character and their clinical significance. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET. Vol. VII (10): 1-29
2. Ahmadzadeh, A.; Frago, F.; Shafii, B.; Dalton, J.C.; Price, W.J., y McGuire, M.A. (2009). Effect of clinical mastitis and other diseases on reproductive performance of Holstein cows. Anim Reprod Sci, 112: 273–282.
3. Aloé, S.; Weber, F.; Behr, B.; Sauter-Louis, C. y Zerbe, H. (2012). Modulatory Effects of Bovine Seminal Plasma on Uterine Inflammatory Processes. Reprod Domest Anim 47(1):12-9
4. Andersson, L.; Gustaffson, A.H. y Emanuelson, U. (1991). Effect of hyperketonaemia and feeding on fertility in dairy cows. Theriogenology, 36(4): 521-536.
5. Archbald, L.F.; Tsai, I.F.; Thatcher, W.W.; Tran, T.; Wolfsdorf, K. y Risco, C. (1998). Use of plasma concentrations of 13,14-dihydro,15-keto-PGF<sub>2</sub> alpha (PGFM) in the diagnosis of sub-clinical endometritis and its relationship to fertility in the postpartum dairy cow. Theriogenology, 49(8):1425-36.

6. Azawi O.I. (2008). Review Postpartum uterine infection in cattle. *Anim Reprod Sci*, 105:187–208.
7. Barlund, C.S.; Carruthers, T.D.; Waldner, C.L. y Palmer C.W. (2008). A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology*, 69:714–723.
8. Bartolomé, J.A. y Khalloub, P. (2011). Salud uterina, reinicio de la actividad ovárica y patologías del postparto en la vaca lechera. I Simposio Latinoamericano de Reproducción Animal.
9. Bauman, D.E. y Currie, W.B. (1980). Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J Dairy Sci*, 63: 1514-1529.
10. Blanch, M.S. (1994). La metritis bovina: Revisión. *INTA, RIA*, 25(1):1-11.
11. Breukink, H.J.; Wensing, Th. y Wentink, G.H. (1992). Disorders in the dairy cow as a consequence of production, pp 123-135 In: *Proc. 8th. Intern. Conf. on Prod. Diseases in Farm Animals*, Aug. 24-27, 1992, Univ. of Berne, Switzerland.
12. Burgueño, M.J.; García-Bastos, J.L. y González-Buitrago, J.M. (1995). Las curvas ROC en la evaluación de las pruebas diagnósticas. *Medicina Clínica*, 104(17): 661-670.

13. Casas, N. (1833). Elementos de Anatomía Patológica Veterinaria. Lesiones del aparato reproductor. Madrid (España). Artes Gráficas Soler, S. L. 190-195.
14. Cerri, R.L.; Rutigliano, H.M.; Lima, F.S.; Araújo, D.B. y Santos, J.E. (2009). Effect of source of supplemental selenium on uterine health and embryo quality in high-producing dairy cows. *Theriogenology*, 15;71 (7):1127-37.
15. Chagas, L.M.; Bass, J.J.; Blache, D.; Burke C.R.; Kay, J.K.; Lindsay, D.R.; Lucy, M.C.; Martin, G.B.; Meier, S.; Rhodes, F.M.; Roche, J.R.; Thatcher, W.W. y Webb, R. (2007). Invited review: New perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing dairy cows. *J Dairy Sci*, 90:4022-4032.
16. Cheong, S.H.; Nydam, D.V.; Galvão, K.N.; Crosier, B.M. y Gilbert, R.O. (2011). Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci*, 94 (2):762-770.
17. Collard, B.L.; Boettcher, P.J. ; Dekkers, J.C.M.; Petitclerc D. y Schaeffer, L.R. (2000). Relationships between energy balance and health traits of dairy cattle in early lactation. *J Dairy Sci*, 83:2683- 2690.
18. Corbellini, C.N. (1998). Las enfermedades de la producción en las vacas lecheras en transición, pp 88-123, En: Nutrición de la Vaca Lechera, Ed. por M. Ruberto y G.A. Gagliostro, Unidad Integrada E.E.A. INTA/Fac. Cs. Agr., UNMdP, Balcarce, Pcia. Bs. As., Argentina.

19. De Bois, C.H.W. y Manspeaker, J.E. (1986). Endometrial biopsy of the bovine. Current Therapy in Theriogenology: diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in animals. 2 Ed. Philadelphia, PA., Saunders, WB. 424-426.
  
20. DeJarnette, J.M. y Nebel, R.L. (2008). Anatomía y Fisiología de la Reproducción Bovina. [http://www.produccionbovina.com/informacion\\_tecnica/inseminacion\\_artificial/97-fisiologia.pdf](http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/97-fisiologia.pdf).
  
21. DeJarnette, J.M.; Sattler, C.G.; Marshall, C.E. y Nebel, R.L. (2007). Voluntary waiting period management practices in dairy herds participating in a progeny test program. J Dairy Sci, 90(2):1073-9.
  
22. Dellmann, H. (1994). Histología Veterinaria. Capítulo 13: Sistema reproductor femenino. 267-290. 2ª Edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España).
  
23. Drillich, M. (2007). Actualización sobre endometritis crónica y subclínica en vacas de tambo. Jornadas de actualización profesional. “Diagnóstico y tratamiento de endometritis clínica y subclínica en vacas de tambo”. 3-8.
  
24. Dubuc, J.; Duffield, T.F.; Leslie, K.E.; Walton, J.S. y Leblanc, S.J. (2011). Randomized clinical trial of antibiotic and prostaglandin treatments for uterine health and reproductive performance in dairy cows. J Dairy Sci, 94(3):1325-38.
  
25. Edmonson, A.J. y Lean, I.J. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. Tulare 93274. J Dairy Sci, 72:68-78.

26. Földi, J.; Kulcsár, M.; Pécsi, A.; Huyghe, B.; de Sa, C.; Lohuis, J.A.; Cox, P. y Huszenicza, G. (2006). Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Anim Reprod Sci*, 96(3-4):265-81.
27. Fonseca, F.A.; Britt, J.H.; McDaniel, M.C.; Wilk, J.C. y Rakes, A.H. (1983). Reproductive trails of Holsteins and Jerseys. Effect of age, milk yield and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrus cycles, detection of estrus, conception rate, and days open. *J. Dairy Sci*, 66:1128-1147.
28. Galvão, K.N.; Frajblat, M; Brittin, S.B.; Butler, W.R.; Guard, C.L. y Gilbert, R.O. (2009a). Effect of prostaglandin F2 $\alpha$  on subclinical endometritis and fertility in dairy cows. *J. Dairy Scie*, 92:4906–13
29. Galvão, K.N.; Greco, L.F.; Vilela, J.M.; Sá Filho, M.F. y Santos, J.E. (2009b). Effect of intrauterine infusion of ceftiofur on uterine health and fertility in dairy cows. *J Dairy Sci*, 92(4):1532-42.
30. Gallardo, M.; Maciel, M.; Cuatrin, A y Burdisso, L. (2000). ¿Qué nos dice la condición corporal de las vacas lecheras? *Producir XXI*. Año 9. Nº 108:25-30.
31. García Rodríguez, M.E. (2003). La metritis en la vaca: Etiología Tratamiento e Impilcaciones en la Reproducción. Trabajo de tesis doctoral. Facultad de Veterinaria de la Universidad de Santiago de Compostela, España.

32. Gerloff, B.J. (1988). Feeding the dry cow to avoid metabolic disease, pp 379-390. In: *Metabolic diseases in ruminant livestock*, The Vet. Clin. of N. America, Food Animal Practice, Vol 4 (Nº2), July 1988, USA.
33. Gilbert, R.O.; Shin, S.T.; Guard, C.L.; Erb, H.N y, Frajblat M. (2005). Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 64:1879–88.
34. Green, M.P.; Ledgard, A.M.; Beaumont, S.E.; Berg, M.C.; McNatty, K.P.; Peterson, A.J. y Back, P.J. (2011). Long-term alteration of follicular steroid concentrations in relation to subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *J. Anim Sci*, 89(11):3551-3560.
35. Gröhn, Y.T.; Erb, H.N.; McCulloch, C.E. y Saloniem, H.S. (1989). Epidemiology of metabolic disorders in dairy cattle: association among host characteristics, disease and production. *J Dairy Sci*, 72:1876-1885.
36. Hamann, J. (1994). Trends in yield and health parameters: an attempt of a retrospective analysis, pp 57-61, In: *Proc. Int. Symp. Prospects for Future Dairying. A challenge for Science and Industry*, Alfa Laval Agri, Tumba, and Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.
37. Hammon, D.S.; Evjen, I.M.; Dhiman, T.R.; Goff, J.P. y Walters, J.L. (2006). Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Vet Immunol Immunopathol*, 15; 113 (1-2):21-9.

38. Hill, J. y Gilbert. R. (2008). Reduced quality of bovine embryos cultured in media conditioned by exposure to an inflamed endometrium. *Aust Vet J*, 86(8):312-6.
39. Hultgren, J.; Manske, T. y Bergsten, C. (2004). Associations of sole ulcer at claw trimming with reproductive performance, udder health, milk yield, and culling in Swedish dairy cattle. *Prev Vet Med*, 62:233-251.
40. Jensen, M.B.; Munksgaard, L.; Pedersen, L.J.; Ladewig, J. y Matthews, L. (2002). Operant conditioning as a method to assess lying motivation in dairy heifers. *Proc 36th Int ISAE Congr*, The Netherlands, p. 69.
41. Jónsson, G.(1994). Ethical implications of high milk yields, pp 233-238 In: *Proc. Int. Symp. Prospects for Future Dairying. A challenge for Science and Industry*, Alfa Laval Agri, Tumba, and Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.
42. Kasimanickam, R.; Duffield T.F.; Foster R.A.; Gartley C.J.; Leslie K.E.; Walton J.S. y Johnson W.H. (2004). Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 62: 9–23.
43. Kasimanickam, R.; Duffield, T.F.; Foster, R.A.; Gartley, C.J.; Leslie, K.E.; Walton, J.S. y Johnson, W.H. (2005a). A comparison of the *cytobrush* and uterine

lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Can Vet J*, 46(3):255-259.

44. Kasimanickam, R.; Duffield, T.F.; Foster, R.A.; Gartley, C.J.; Leslie, K.E.; Walton, J.S. y Johnson, W.H. (2005b). The effect of a single administration of cephapirin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. *Theriogenology*, 63(3):818-30.

45. Kaufmann, T.B; Drillich, M.; Tenhagen, B.A. y Heuwieser W. (2010). Correlations between periparturient serum concentrations of non-esterified fatty acids, betahydroxybutyric acid, bilirubin, and urea and the occurrence of clinical and subclinical postpartum bovine endometritis. *BMC Veterinary Research*, 6:47

46. LeBlanc, S.J.; Duffield, T.F.; Leslie, K.E.; Bateman, K.G; Keefe, G.P.; Walton, J.S. y Johnson W.H. (2002). Defining and Diagnosing Postpartum Clinical Endometritis and its Impact on Reproductive Performance in Dairy Cows. *J Dairy Sci*, 85 (9): 2223-2236.

47. LeBlanc S.J. (2008). Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *The Veterinary Journal*, 176:102–114.

48. Lewis G.S. (1997). Symposium: Health problems of the postpartum cow. Uterine Health and disorders. *J Dairy Sci*, 80:984-994.

49. Lidfors, L. y Isberg L. (2002). Intersucking in dairy cattle- review and questionnaire. *Appl Anim Behav Sci*, 42:87-94.
50. Lincke, A.; Drillich, M.; Heuwieser, W. (2007). Subclinical endometritis in dairy cattle and its effect on fertility-a review of recent publications. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 120(5-6):245-50.
51. Löf, E.; Gustafsson, H.; Emanuelson, U. (2007). Associations between herd characteristics and reproductive efficiency in dairy herds. *J Dairy Sci*, 90: 4897-4907.
52. Madoz, L.V.; Ploentzke, J.; Albarracin, D.; Mejia, M.; Drillich, M., Heuwieser, W. y De LaSota, R.L. (2008). Prevalence of clinical and subclinical endometritis in dairy cows and the impact on reproductive performance. , p.51. 16<sup>th</sup> International Congress on Animal Reproduction, Budapest, Hungary.
53. Mancuso, W. y Teran, J.C. (2008). El Sector Lácteo Argentino. XXI Curso internacional de lechería para profesionales de América Latina. p.13-22.
54. Marini, P.R. y Oyarzabal, M.I. (1999). Producción de leche e intervalo parto-parto en vacas Holando. *Rev Arg Prod Anim*, 19 (3-4):425-433.
55. Marini, P.R. y Oyarzabal, M.I. (2002). Patrones de producción en vacas lecheras. Componentes de la producción y sus características según nivel de producción. *Rev Arg Prod Anim*, 22 (1):29-46.

56. Oltenacu, P.A. y Algers, B. (2005). Selection for increased production and the welfare of dairy cows: Are new breeding goals needed? *Ambio*, 34: 311-315.
57. Overbeck, W.; Witte, T.S. y Heuwieser W. (2011). Comparison of three diagnostic methods to identify subclinical endometritis in mares. *Theriogenology*, 15; 75(7):1311-8.
58. Ouweltjes, W.; Smolders, E.A.A.; Elving, L.; van Eldik, P. y Schukken, Y.H. (1996). Fertility disorders and subsequent fertility in dairy cattle. *Livest Prod Sci*, 46: 213–220.
59. Paisley, L.G.; Micklesen, W.D. y Anderson, P.B. (1986). Mechanisms and therapy for retained membranes and uterine infections of cows: a review. *Theriogenology*, 25: 353-381.
60. Palmer, C. (2008). Endometritis en vacas lecheras. *Taurus*, 10 (37):25-32.
61. Perusia, O.; Peralta, C.; Repetto, A.; Signorini, M.; Iñiguez, E. (2000). Biopsias endometriales en bovinos. I Congreso Virtual Veterinario de Diagnóstico por Imagen.
62. Plöntzke, J.; Madoz, L.V.; de la Sota, R.L.; Drillich, M. y Heuwieser, W. (2010). Subclinical endometritis and its impact on reproductive performance in grazing dairy cattle in Argentina. *Anim Reprod Sci*, 122 (1-2):52-7.

63. Pryce, J.E.; Royal, M.D.; Garnsworthy, P.C., et al. (2004). Fertility in the high-producing dairy cow. *Livest Prod Sci*, 86:125- 135.
64. Rinaudo, A.; Prado, A.N. y Bassi A.Z. (2009). Estudio bacteriológico de cepillados endometriales de vacas lecheras en postparto. Libro de Resúmenes del XI Congreso y XXIX Reunión anual de la Sociedad de Biología de Rosario p. 206
65. Roche, J.F. (2006). The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci*, 96: 282–296.
66. Rodriguez-Martinez, H.; Hultgren, J.; Båge, R.; Bergqvist, A.S.; Svensson, C.; Bergsten, C.; Lidfors, L.; Gunnarsson, S.; Algers, B.; Emanuelson, U.; Berglund11, B.; Andersson, G.; Håård, M.; Lindhé, B.; Stålhammar, H. y Gustafsson, H. (2008). La eficiencia reproductiva en vacas lecheras de alta producción: ¿Es sostenible con las prácticas de manejo actuales? In: *IVIS Reviews in Veterinary Medicine*, I.V.I.S. (Ed.). International Veterinary Information Service, Ithaca NY ([www.ivis.org](http://www.ivis.org)), Last updated: 11-Dec-2008; R0108.1208.ES
67. Roxström, A.; Strandberg, E. y Berglund, B. (2001a). Genetic and environmental correlations among female fertility traits and milk production in different parities of Swedish Red and White dairy cattle. *Acta Agric Scand, Sect A, Anim Sci*, 51: 7-14.

68. Roxström, A.; Strandberg, E. y Berglund, B. (2001b). Genetic and environmental correlations among female fertility traits and the ability to show oestrus, and milk production. *Acta Agric Scand, Sect A, Anim Sci*, 51: 192-199.
69. Royal, M.D., Darwash, A.O. y Flint, A.P.F. (2000). Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Anim Sci*, 70:487-501.
70. Rueg, P.L. (2001). Causa de Enfermedades y Prevención. *Novedades Lácteas Ordeño y Calidad de Leche*, N° 40: 8.
71. Runciman, D.J.; Anderson G.A. y Malmo, J. (2009). Comparison of two methods of detecting purulent vaginal discharge in postpartum dairy cows and effect of intrauterine cephalixin on reproductive performance. *Aust Vet J*, 87 (9):369-378.
72. Salasel, B.; Mokhtari, A. y Taktaz, T. (2010). Prevalence, risk factors for and impact of subclinical endometritis in repeat breeder dairy cows. *Theriogenology*, 15;74 (7):1271-8.
73. Senosy, W.; Izaike, Y. y Osawa, T. (2011) Influences of Metabolic Traits on Subclinical Endometritis at Different Intervals Postpartum in High Milking Cows. *Reprod Domest Anim*, 10.1111/j.1439-0531.

74. Sheldon, I.M.; Lewis, G.S.; LeBlanc, S.J. y Gilbert, R.O. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65:1516–1530.
75. Sheldon, I.M.; Williams, E.J.; Miller A.N.A.; Nash D.M. y Herath S. (2008). Uterine diseases in cattle after parturition. *Vet J.*, 176:115–121.
76. Sheldon, I.M.; Cronin, J.; Goetze, L.; Donofrio, G. y Schuberth, H.J. (2009). Defining Postpartum Uterine Disease and the Mechanisms of Infection and Immunity in the Female Reproductive Tract in Cattle. *Biol Reprod.* 81(6):1025-1032.
77. Staples, C.R.; Thatcher, W.W. y Burke, J.M. (1997). Influences of dietary energy, fat, and protein on reproductive performance of lactating dairy cows, pp 204-221. In: *Proc. XIth. Inter. Conf. on Prod. Diseases in Farm Animals*, Ed. by H. Martens, Free University of Berlin, Enke Verlag, Stuttgart.
78. Veerkamp, R.F. (1998). Selection for economic efficiency of dairy cows using information on liver weight and feed intake: A review. *J Dairy Sci*, 81:1109-1119.
79. Vernon, R.G. (1988). The partition of nutrients during the lactation cycle, pp 32-52, In: *Nutrition and Lactation in the Dairy Cow*, Ed. by P.C. Garnsworthy, Butterworths, London, England.
80. Viglizzo, E.F. (1989). Conferencia: La interacción sistema – ambiente en condiciones extensivas de producción. *Rev Arg Prod Anim*, 9 (4):279-294.

81. Wehrend, A.; Träsch, K.; Failing, K. y Bostedt H. (2003). The regional differences of the pH-value in the vagina, cervix and uterus of cows during interestrus. *Deutsche tierärztliche Wochenschrift*, 100 (2):65-68.

82. Westermann, S.; Drillich, M.; Kaufmann, T.B.; Madoz L.V. y Heuwieser W. (2010). A clinical approach to determine false positive findings of clinical endometritis by vaginoscopy by the use of uterinebacteriology and cytology in dairy cows. *Theriogenology*, 74(7):1248-1255.

83. Wieland, O (1968). *Advances in Metabolic Disorders*, Academic Press, NY, USA, pp 1-47.

84. Williams, E.J.; Herath, S.; England, G.C.W.; Dobson, H.; Bryant C.E. y Sheldon, I.M. (2008). Effect of *Escherichia coli* infection of the bovine uterus from the whole animal to the cell. *The Animal Consortium*, 2 (8):1153–1157.