

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
ESCUELA DE POSTGRADO
MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN SALUD Y ANIMAL



**DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE CORTE DE POLIMORFOS
NUCLEARES NEUTROFILOS (PMN – N) PARA EL DIAGNÓSTICO DE
ENDOMETRITIS SUB CLÍNICA E IMPACTO SOBRE LA
EFECIENCIA REPRODUCTIVA Y PRODUCTIVA EN VACAS
LECHERAS. IRRIGACIÓN MAJES, AREQUIPA. 2014**

Tesis presentada por la Bachiller
Edith Melchorita Arenas Oviedo

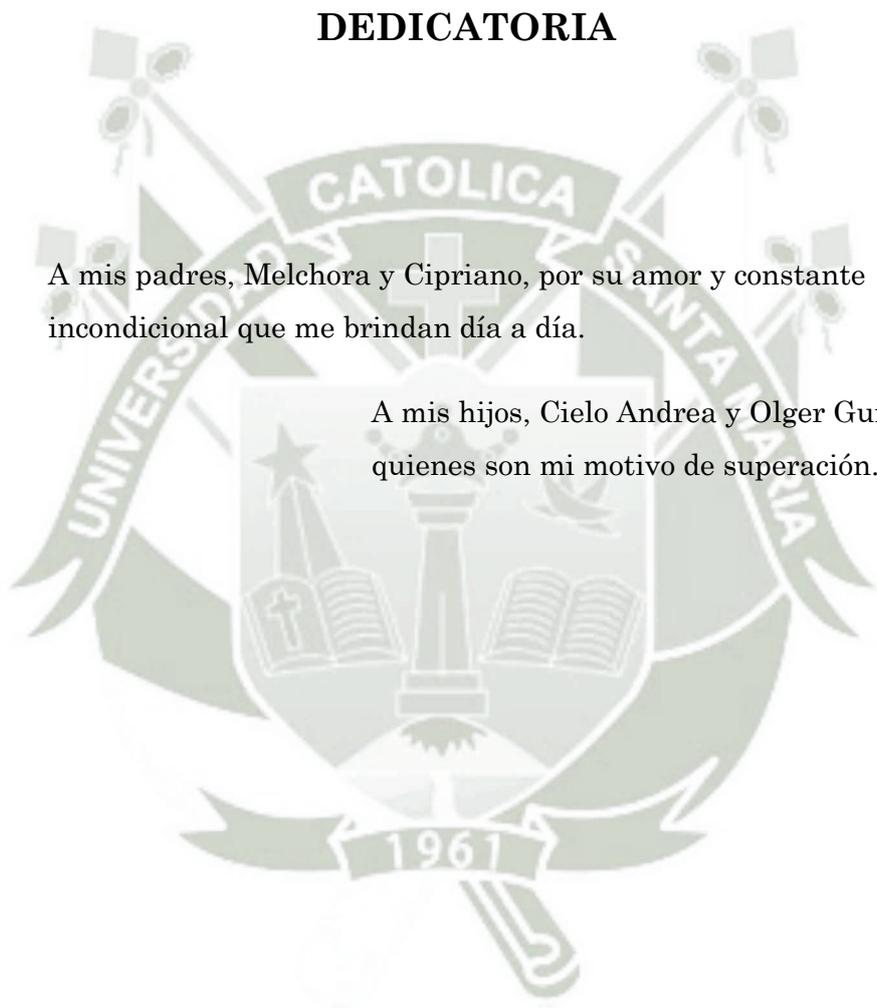
Para optar el Grado Académico de
Magíster en Producción y Salud Animal

AREQUIPA – PERÚ
2015

DEDICATORIA

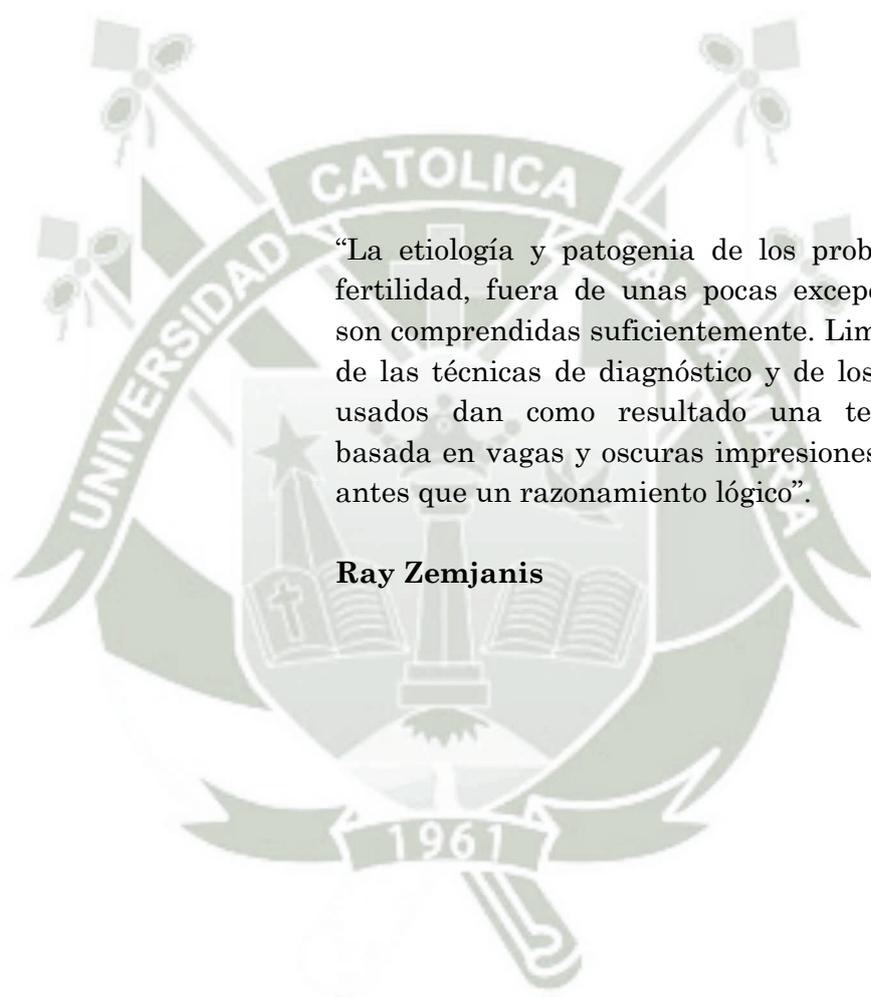
A mis padres, Melchora y Cipriano, por su amor y constante apoyo incondicional que me brindan día a día.

A mis hijos, Cielo Andrea y Olger Guillermo, quienes son mi motivo de superación.



AGRADECIMIENTOS

A los docentes e investigadores del Centro Latinoamericano de Estudios de Problemáticas Lecheras (CLEPL. Convenio Universidad Nacional El Rosario UNR-Argentina y Universidad Católica de Santa María UCSM-Arequipa), especialmente al Dr. Juan Reátegui Ordoñez y Dr. Agustín Rinaudo por los aportes realizados en el desarrollo del presente trabajo de investigación. Mi reconocimiento y gratitud para ellos, por su apoyo incondicional durante este tiempo.



“La etiología y patogenia de los problemas de fertilidad, fuera de unas pocas excepciones no son comprendidas suficientemente. Limitaciones de las técnicas de diagnóstico y de los métodos usados dan como resultado una terapéutica basada en vagas y oscuras impresiones clínicas, antes que un razonamiento lógico”.

Ray Zemjanis

ÍNDICE GENERAL

Resumen	07
Abstract	09
Introducción.....	11
Capítulo Único: Resultados	15
Determinación del Punto de Corte de PMN N.....	16
Prevalencia de Endometritis Subclínica de vacas lecheras en la Irrigación Majes.....	18
Impacto de la Endometritis subclínica sobre la performance productiva y reproductiva en vacas lecheras de la zona.....	23
Conclusiones	27
Recomendaciones.....	28
Propuesta.....	29
Bibliografía	35
Anexos	39
Anexo Nro. 01: proyecto de tesis	40
Anexo Nro. 02: matrices de sistematización	90
Anexo Nro. 03: análisis de la curva de ROC	96
Anexo Nro. 04: cálculos estadísticos	100
Anexo Nro. 05: secuencia fotográfica	115

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro Nro. 01

Prevalencia de Endometritis Subclínica en Vacas lecheras de la Irrigación Majes	19
---	----

Cuadro Nro. 02

Prevalencia de Endometritis Subclínica en Vacas lecheras de la Irrigación Majes según número de lactancia	21
---	----

Cuadro Nro. 03

Prevalencia de Endometritis Subclínica en Vacas lecheras de la Irrigación Majes según Días en Leche.....	22
--	----

Cuadro Nro. 04

Performance Reproductivo y Productivo Promedio de Vacas Sanas y con Endometritis Subclínica.....	23
--	----

Cuadro Nro. 05

Tasa de Preñez de Vacas Sanas y con Endometritis Subclínica	25
---	----

Cuadro Nro. 06

Performance Reproductivo y Productivo Promedio de Vacas Sanas y con Endometritis Subclínica Según Lactancia.....	25
--	----

Cuadro Nro.07

Tasa de Preñez de Vacas Sanas y con Endometritis Subclínica Según Lactancia	26
---	----

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica N° 01

Curva ROC para determinar el punto de corte de %PMN-N y determinación de positivos en muestras de citología endometrial.....17

Gráfica N° 02

Curva de supervivencia de Kaplan – Meier para el diagnóstico (días) que requirió cada vaca desde el parto para lograr la preñez según el estado sanitario de la mucosa uterina24



RESUMEN

El objetivo principal del presente trabajo fue determinar el punto de corte del porcentaje de polimorfo nucleares neutrófilos (%PMN – N) como indicador de la inflamación del endometrio, para ello se utilizaron datos de 134 vacas Holstein clínicamente sanas entre 21 a 56 días posparto, de establos lecheros de la Irrigación Majes. Se obtuvieron muestras de citología endometriales mediante la técnica de Cytobrush. Los frotis, realizados sobre porta objetos limpios, fueron fijados al aire. Luego se remitieron al laboratorio donde se colorearon mediante la tinción Diff-Quick, se procedió a la lectura de los mismos obteniéndose el porcentaje de polimorfo nucleares neutrófilos (%PMN – N), en relación a las células totales (epiteliales más neutrófilos). El criterio para diagnosticar endometritis subclínica (ES) fue $>5\%$ de PMN – N en los frotis de cada vaca. El punto o valor de corte de polimorfo nucleares neutrófilos (PMN – N) fue obtenido mediante el análisis de la curva ROC de $>5,10\%$ con una sensibilidad de 77,55 y una especificidad de 38,89. La prevalencia general en el presente estudio para endometritis subclínica (ES) fue de 26,87% lo que representa 36 animales positivos del total muestreado. El valor más alto de prevalencia para endometritis subclínica (ES) se da para vacas de cuarta lactancia con un porcentaje de **29,17%**, seguido por vacas de primera lactancia **28,57%**, segunda lactancia **27,78%**, y vacas de tercera lactancia con **19,05%**. No obstante a la variaciones observadas entre las diferentes lactancias, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.3013$) a la prueba estadística de Chi cuadrado. Según los días en Leche (DEL) se observa el mayor porcentaje de vacas con endometritis subclínica (ES) en el rango de 34 – 46 DEL con 38,64%, seguido de 35,00 % en el rango de 21 – 33 DEL y hay una disminución a 17,14% en el rango de 47 – 56 DEL. Las variables observadas entre los grupos manifiestan una marcada diferencia estadísticamente significativa entre el rango de 47 - 56 DEL y los rangos de 21 - 33 y 34 - 46 DEL ($P = 0.0015$, para la prueba de Chi cuadrado). Los resultados que corresponden a las variables reproductivas y productivos fueron: intervalo parto primer servicio (IPPS), intervalo parto concepción (IPC), preñez primer servicio (PPS), número de servicio por preñez (NSP) y producción diario de leche (PDL), en vacas sanas y vacas con ES, en la mayoría de los parámetros reproductivos se observa una pérdida de eficiencia (IPPS, IPC, %PPS). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.1264$). Mientras en el porcentaje de Preñez Primer Servicio (%PPS), existe una gran diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.0338$ para prueba de Chi cuadrado) entre las vacas sanas 38,78 % y las vacas con ES 25,00% observándose en estas últimas un bajo

porcentaje de PPS. Se analizaron las tasas de preñez de ambos subgrupos, en el mismo se destaca claramente que las vacas sanas presentan el **51%** de preñez, mientras que las vacas con ES tuvieron una menor tasa de preñez (TP) con el **49%**. Sin embargo esta diferencia no es estadísticamente significativa ($P = 0.7773$). En cuanto al %PPS las vacas de cuarta lactancia también requirieron más servicios por preñez. Se analizaron también las tasas de preñez de Vacas Sanas y vacas con ES según lactancia, la tasa de preñez en primera lactancia, observando diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.0425$), mientras que la segunda ($P = 0.4795$), tercera ($P = 0.4777$) y cuarta lactancia ($P = 0.2532$) no presentan diferencias estadísticas significativas. En el intervalo parto concepción (IPC), se utilizó un análisis estadístico de Curva de Supervivencia de Kaplan – Meier, para el diagnóstico (en días) que requirió cada vaca desde el parto para lograr la preñez tampoco surgieron diferencias estadísticamente significativas al comparar vacas sanas y vacas con ES. Las vacas sanas necesitaron 102 días para preñarse, las vacas con ES 106 días, la diferencia de 4 días entre ambos grupos, si bien ni se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.1264$ para la prueba estadística de U de Mann Whitney), muestra un detrimento en la eficiencia reproductiva de las vacas con ES.

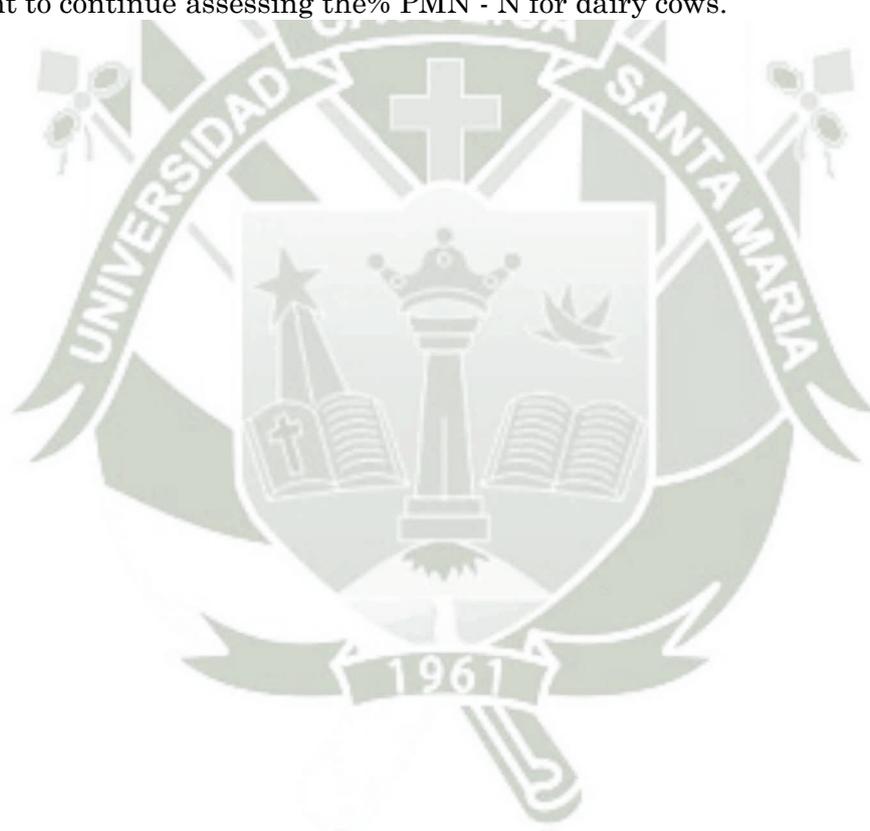
De acuerdo a los datos obtenidos, se puede concluir que el punto de corte es $>5,10\%$, para el intervalo de 21 a 56 DEL para el diagnóstico de ES, valor similar al 5% utilizado por diferentes autores. La ES repercutirá en la eficiencia reproductiva de los establos lecheros, por tal motivo se considera importante continuar la evaluación con el % PMN – N para vacas lecheras como método de diagnóstico de inflamación endometrial.

ABSTRACT

The main objective of this study was to determine the cutoff of% polymorph nuclear neutrophils (PMN - N) as an indicator of inflammation of the endometrium, this data for 134 clinically healthy Holstein cows were used from 21 to 56 days postpartum, Dairy farm of Majes Irrigación. Endometrial cytology samples were obtained by Cytobrush technique. Smears, performed on clean porta objects were set to air. The laboratory where they were stained by Diff-Quick staining were then submitted, we proceeded to read the same yield the percentage of polymorphonuclear neutrophils (% PMNs - N) compared to total cells (epithelial more neutrophils). The criteria for diagnosing ES was > 5% PMN - N in smears of each cow. The cutoff point or PMN - N was obtained by the analysis of the ROC curve > 5.10% with a sensitivity and a specificity of 77.55 38.89. The overall prevalence in this study was 26.87% ES representing 36 positive animals of total samples. The highest prevalence value for SE is given to fourth lactation cows with a percentage of 29.17%, followed by first lactation cows 28.57%, 27.78% second lactation and third lactation cows 19, 05%. However the variations mentioned between the different lactations, no statistically significant differences ($P = 0.3013$) to the chi-square test statistic is found by days in milk (DIM) the highest percentage of cows observed with SE with 38.64 % in the range of 34 - 46 OF, followed by 35.00% in the range of 21 - 33 OF and there is a decrease with 17.14% in the range of 47-56 DIM. The observed variables between groups show a marked statistically significant difference between the range of 47-56 DIM and ranges of 21-33 and 34-46 DEL ($P = 0.0015$, for the chi-square test). The results correspond to reproductive and productive variables IPPS, IPC, PPS, NSP and PDL, in healthy cows and cows with SE, in most reproductive parameters in a loss of efficiency (IPPS, CPI,% PPS) is observed, no statistically significant difference ($P = 0.1264$) were found. While the percentage of Pregnancy First Service (PPS), a great statistically significant difference ($P = 0.0338$ for Chi square test) between healthy cows and cows 38.78% 25.00% observed with SE in the last one low percentage of PPS. Pregnancy rates of both subgroups, it stands out clearly that healthy cows 51% of pregnancy, while cows with SE had lower TP 49% were analyzed. However, this difference is not statistically significant ($P = 0.7773$). As for the% PPS fourth lactation cows also required more services per pregnancy. Pregnancy rates of Healthy cows and cows were also tested with ES as breastfeeding, pregnancy rate in first lactation it has significant differences ($P = 0.0425$), while the second ($P = 0.4795$), third ($P = 0.4777$) and the fourth lactation ($P = 0.2532$) presented no statistically significant

differences. A statistical analysis survival curve Kaplan was used in childbirth conception interval (IPC) - Meier, for diagnosis (days) requiring each cow from calving to achieve pregnancy will not emerged statistically significant differences when comparing healthy cows and cows with SE. Cows in the first group required 102 days to preñarse, cows with ES 106 days. The difference of four days between the two groups, although not statistically significant ($P = 0.1264$ for the statistical test of Mann Whitney) were found detrimental seen in reproductive efficiency of cows with SE.

According to the data obtained, one can conclude that the cutoff of $> 5.10\%$, so the range of 21 to 56 for diagnosing DPP SE, 5% is similarly used by different authors in the impact SE reproductive efficiency of dairy farms, for that reason is considered important to continue assessing the% PMN - N for dairy cows.



INTRODUCCIÓN

En los sistemas de producción de ganado lechero, es indispensable tener una alta eficiencia reproductiva para el éxito económico de la ganadería lechera. El mayor valor de una vaca lechera está dada por su capacidad reproductiva, ya que gracias a esta función maravillosa, el ganadero recibe beneficios de un ternero por vaca por año, mayor cantidad de partos durante la vida productiva del animal, con un potencial genético que puede ser superior al de la madre y la cantidad de leche producida en una lactancia de 10 meses. Como consecuencia en los últimos años, la capacidad reproductiva de las vacas lecheras está siendo amenazada por diferentes factores principalmente nutricionales, genéticos, sanitarios y de manejo. Las pérdidas reproductivas incluyen un incremento del número de días de vacía, aumento de los servicios por concepción y un incremento del riesgo de rechazo debido a fallas reproductivas (LeBlanc y col., 2002).

La endometritis subclínica se define como una inflamación del endometrio en ausencia de signos clínicos de endometritis (Sheldon y col., 2006). Las enfermedades uterinas postparto comprometen severamente la eficiencia reproductiva. Palmer, (2008) indica que la endometritis es la inflamación del endometrio usualmente debido a la persistencia de una infección moderada o al retraso en la involución uterina. Las vacas repetidoras representan un alto porcentaje de vacas del hato, aspecto que repercute en la producción y reproducción del rebaño.

El útero es un órgano 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. Histológicamente la pared uterina se divide en tres capas o túnicas, desde la luz hacia el exterior: la mucosa - submucosa (endometrio), la muscular (miometrio) y la serosa (perimetrio). El endometrio está conformado por dos capas, una superficial y otra profunda. La superficial posee epitelio cilíndrico simple y/o pseudoestratificado, pudiendo llegar a ser cubico en zonas aisladas, esta célula de revestimiento se continúa con el epitelio de las glándulas uterinas. Las glándulas son de tipo tubular, se abren en la superficie de la mucosa uterina y se extienden en el espesor del estroma endometrial, terminando en extremos ciegos por debajo del epitelio se encuentra la lámina propia o corion formada por tejido conjuntivo laxo

altamente vascularizado con fibroblastos, macrófagos y mastocitos. Hacia la profundidad de la capa superficial el tejido conjuntivo se va haciendo menos celular (Dellman, H. 1994). Es característica de la túnica endometrial la presencia de engrosamientos locales con predominio de fibroblastos y abundante irrigación, denominados carúnculas, son engrosamientos circunscriptos del endometrio libres de glándulas, que se ubican en cuatro hileras por cuerno de aproximadamente quince carúnculas cada una, y son en forma de cúpula en el caso de la vaca.

El miometrio es la túnica media o muscular organizada en dos capas de musculo liso. Una más interna dispuesta circularmente y otra más externa distribuida longitudinalmente. Entre ambas la presencia de gran cantidad de vasos sanguíneos y linfáticos, se conoce como capa vascular. El perímetro es la túnica serosa, y como tal se compone de un tejido conectivo laxo recubierto por un epitelio plano simple o mesotelio peritoneal (Dellmann y Brown, 1993).

El útero en el periparto y postparto es infectado por una invasión generalmente ascendente de microorganismos provenientes del cérvix, vagina, vestíbulo y región perineal. Alrededor del 90% de las vacas adquieren infección uterina durante las dos primeras semanas posparto (Blanch, 1994)

Los neutrófilos son 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 (Kasimanickam y col., 2004). Los neutrófilos 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).

Las endometritis han sido clasificadas en clínicas y subclínicas. La endometritis clínica fue definida como la presencia de una descarga purulenta, generalmente con olor fétido y un diámetro de > 7.5 cm. del cérvix uterino entre los días 20 a 33 posparto o descarga muco-purulenta después de los 26 días posparto. La endometritis subclínica se define en base a resultados de la citología uterina como la presencia de más 18% de Polimorfos Nucleares Neutrófilos (PMN - N) entre los días 21 y 33 o más del 10% de PMN entre los días 34 y 47 postparto. La incidencia de endometritis clínica en rodeos lecheros alcanza aproximadamente el 16.9% y la endometritis subclínica el 53% entre los días 40 y 60 (Bartolome, y Khalloup, 2011).

La inflamación subclínica del endometrio necesita, para ser diagnosticada, de algún método complementario como el análisis citológico, ya que el animal no presenta ningún signo local o general que oriente a pensar en la existencia de una patología uterina Sheldon y col. (2006).

La citología endometrial es una práctica que recientemente se ha comenzado a utilizar para la evaluación de la salud uterina en bovinos (Gilbert y col., 2005; Palmer, 2006). Se caracteriza por ser rápida, específica, sensible y económica, lo que la hace una herramienta valiosa para la investigación sobre el rol y la importancia de la endometritis (Gilbert, 2005).

Según gran parte de las publicaciones, se podría considerar que en ausencia de endometritis clínica (EC) una vaca es diagnosticada positiva a endometritis subclínica (ES) cuando la citología endometrial presenta $>18\%$ PMN para muestras tomadas entre los 21-33 DPP, $>10\%$ PMN - N para muestras entre 34-47 DPP (Días Post Parto); (Kasimanickam y col., 2004; Sheldon y col., 2006). A pesar de que estos valores de corte son los aceptados por la mayoría de los investigadores, no existe consenso total, variando los valores de corte entre 4 y 25% PMN (Galvão y col., 2009; Hammon y col., 2006).

El diagnóstico de endometritis subclínica en vacas lecheras se basa fundamentalmente en el cálculo del porcentaje de Polimorfo Nucleares Neutrófilos (%PMN - N) presentes en los frotis obtenidos por medio de la técnica citológica de cepillado de la mucosa uterina o Cytobrush. El punto de corte de una prueba diagnóstica consiste en la determinación del valor mínimo por encima del cual se puede diagnosticar a un individuo como enfermo. Para lograr determinar el mencionado punto de corte se utiliza un análisis estadístico denominado Curva ROC (Características Operativas del Receptor), el cual consiste en la determinación del valor de diagnóstico con la mayor sensibilidad (probabilidad que para un individuo realmente enfermo el resultado sea positivo) y especificidad (probabilidad que para un individuo realmente sano el resultado sea negativo) Rinaudo y col. (2012).

El valor de corte de porcentaje PMN - N utilizado varía, según los trabajos consultados, desde el 18% PMN N entre los 21 y 33 días posparto, el 10 %PMN N entre los 34 y 47 días posparto, y el 5% PMN N entre los 21 y 56 días posparto (Gilbert, 2005).

El presente trabajo de investigación despliega, en primer término, los resultados y discusión del análisis de punto de corte de Polimorfos Nucleares Neutrófilos para el diagnóstico de endometritis subclínica, prevalencia e impacto sobre la eficiencia reproductiva y productiva en vacas lecheras de la Irrigación de Majes como capítulo único, seguidamente se formula la propuesta de control y difusión de la Endometritis Subclínica como enfermedad reproductiva y su influencia en los parámetros productivos y reproductivos en base a las conclusiones, recomendaciones y considerando una serie de actividades que involucra factores económicos y productivos.

Posteriormente y en forma de anexos se despliega el proyecto de investigación completo, matrices de datos, sistematización, matrices de conteo, cálculos estadísticos y secuencia fotográfica.





1. Determinación del Punto de Corte de PMN - N

No existe un punto de corte para el diagnóstico de endometritis subclínica (ES) que se relacione con un diagnóstico de la enfermedad real y disminución en la eficiencia reproductiva que pueda ser aplicado directamente al sistema Peruano de producción de leche. Los estudios publicados en la literatura internacional fueron llevados a cabo en su mayoría en explotaciones intensivas y varían en los puntos de corte que aplican y su relación con análisis de los días en leche (DEL) de los animales.

Esto hace que las comparaciones, y más aún la extrapolación de estos datos al sistema nacional, no reflejen la situación real de las hembras lecheras, generando posibles interpretaciones erróneas para el diagnóstico de la endometritis subclínica.

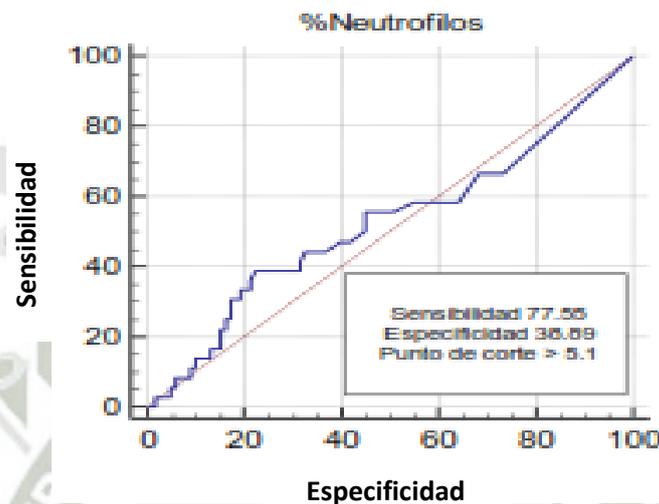
Debido a lo anteriormente expuesto, y a que con sólo cambiar el nivel de corte cambia notablemente la interpretación del análisis de citología endometrial por porcentaje de PMN N en ES, los objetivos de esta experimentación han sido validar la técnica de cepillado endometrial (citología endometrial) en nuestro país y buscar el nivel de corte que corresponde a una disminución de la eficiencia reproductiva de acuerdo a la metodología descrita por Dohoo y col., (2003), evitando así extrapolar en forma directa resultados de trabajos llevados a cabo bajo sistemas de producción distintos a nuestra realidad. Todo esto con el fin de poder diagnosticar correctamente y tratar a estos animales en tiempo y forma, mejorando así el ambiente uterino para la potencial gestación.

Como se observa en la Grafica Nro. 01 y Anexo 03 para la clasificación de la variable de Intervalo Parto Concepción (IPC) de 120 días y un tamaño de muestra de 134 animales se determinó, a través del análisis estadístico Curva ROC, un punto de corte de **>5,10%** con una **sensibilidad de 77,55** y una **especificidad de 38,89**.

El valor de corte obtenido para PMN N de **>5,10%** se encuentra cercano al 5.00% de PMN N recomendado por la publicaciones de Gilber y col. (2005) para Estados Unidos de América y Plöntzke y col. (2010). Asimismo el porcentaje obtenido es

similar al reportado en investigaciones de endometritis subclínica manifestado por Madoz (2012) quien reporto un 5% de PMN N en 21 – 62 DEL.

Gráfica Nro. 01
Curva ROC para determinar el punto de corte de % PMN N y
determinación de positivos en muestras de citología endometrial



Ver anexo Nro.03

El valor reportado es menor a los reportados en investigaciones de Argentina de endometritis subclínica manifestado por Rinaudo y col. (2012) quienes obtuvieron valores de PMN N de **6.18%** con una sensibilidad del **72.0%** y una especificidad del **88.0%**.

Los valores de corte reportado en los diferentes trabajos de investigación demuestran que en vacas normales el porcentaje de PMN - N no debería superar el 5%, ya que a partir de este umbral comenzaría a disminuir la eficiencia reproductiva a vacas lecheras, aumentando el Intervalo Parto Concepción (IPC).

Según gran parte de las publicaciones internacionales, se podría considerar que en ausencia de Endometritis Clínica (EC) una vaca es diagnosticada positiva a ES cuando la citología endometrial presenta >18% PMN – N para muestras tomadas entre los 21 - 33 DEL, o >10% PMN para muestras entre 34 - 47 DEL; (Kasimanickam y col., 2004; Sheldon y col., 2006). A pesar de que estos valores de corte son los aceptados por la mayoría de los investigadores, no existe consenso

total, variando los valores de corte entre 4 y 25% PMN - N (Galvão y col., 2009; Hammon y col., 2006); basadas en estas diferencias, las interpretaciones y comparación de resultados entre diferentes estudios se hace controversial. Esto se complica más aún, al extrapolar datos reproductivos relacionados con ES de animales bajo sistemas de explotación estabulados a nuestro sistema de producción lechera en la región ya que la prevalencia de ES en Arequipa, al igual de lo que sucede con la EC, es diferente que en Europa y en Norteamérica, muy probablemente debido a las diferencias en los sistemas de producción y manejo sanitario.

Mientras que en un estudio en el que se utilizó un valor de corte arbitrario del 5% de PMN - N, se reportó una prevalencia promedio de ES del 53% con un rango entre hatos del 37% a 74% (Gilbert y col., 2005); en otro estudio en donde se validó la técnica y se utilizaron valores de corte del 18% de PMN N para vacas muestreadas entre 20 y 33 DEL y del 10% de PMN entre 34 y 47 DEL, la prevalencia de ES fue del 34% (Kasimanickam y col., 2004).

Barlund también utilizó a la citología endometrial como diagnóstico pero tomando un 8% de PMN N como punto de corte, y la prevalencia de ES encontrada fue de 11.8% en animales entre 28 y 41 DEL (Barlund y col., 2008).

En la actualidad no existen reportes de trabajos de ES realizados en Perú sobre el punto de corte ya que las investigaciones mencionadas utilizaron diferentes puntos de corte, elegidos arbitrariamente y fueron del 10% (Feresiny col., 2006) y del 5% (Rinaudo y col., 2012).

2. Prevalencia de Endometritis Subclínica de vacas lecheras en la Irrigación Majes

Para determinar la prevalencia a Endometritis Subclínica (ES) se consideró el porcentaje de vacas positivas del total de animales enfermos, los datos arrojados por la presente investigación se muestran en el cuadro siguiente:

Cuadro Nro. 01
Prevalencia de Endometritis Subclínica en
Vacas lecheras de la Irrigación Majes

	f	%
Positivas	36	26,87
Negativas	98	73,13
Total	134	100,00

Se observa en el cuadro Nro. 01 que la prevalencia general para Endometritis Subclínica en Vacas lecheras de la Irrigación de Majes fue de **26,87%** lo que representa 36 animales positivos del total muestreado.

Los valores de ES del presente estudio sobrepasan los valores reportados en trabajos de investigación internacionales para sistemas intensivos, es así que Cheong y col., (2011) reporta un valor de 25.9% en tanto Kaufman y col., (2010) un valor de 12.4% de prevalencia. Así mismo reportes de la República Argentina manifiestan una prevalencia que varía entre el 12,5 % y el 25,8 %, con una media del 19 % (Rinaudo, 2012).

De los resultados obtenidos en la presente investigación se puede deducir que la prevalencia de endometritis subclínica está por encima de lo reportado para establecimientos lecheros analizados en el sur de la provincia de Santa Fe (Argentina) reportados por autores locales (Rinaudo y col., 2012).

Trabajos de investigación realizados en nuestro país mediante la técnica de cepillado endometrial reporta valores de prevalencia de **9,09%** de ES en posparto de vacas lecheras en sistemas intensivos de Arequipa (Reátegui y col., 2014). Los mismos autores en un segundo trabajo de investigación para la cuenca ganadera de Arequipa reportan una prevalencia de **13,27%** (Reátegui y col., 2014 a).

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) o 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.

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 (Rinaudo, 2012), por tal motivo se podría deducir que ambos sistemas de producción no presentan diferencias en la prevalencia de endometritis subclínica, en los reportes internacionales, existiendo hasta la fecha pocos reportes a nivel nacional o local de prevalencia de ES según el sistema de producción.

La prevalencia del 18,7% obtenida en sistemas estabulados por Rinaudo, (2012) 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 tomadas en cuenta a la hora de la evaluación, que provocarían el desarrollo de la misma.

Se analizó también la distribución del porcentaje de vacas sanas, y vacas con ES para cada una de los subgrupos de lactancia. 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 ó +), se analizaron en base al estado sanitario de la mucosa uterina.

Cuadro Nro. 02
Prevalencia de Endometritis Subclínica en Vacas lecheras de la Irrigación
Majes según número de lactancia

Lactancia	Vacas Sanas		Vacas con ES		Total vacas
	f	%	f ES	% ES	
Lac. 1	25	71,43	10	28,57a	35
Lac. 2	39	72,22	15	27,78a	54
Lac. 3	17	80,95	4	19,05a	21
Lac. 4 ó +	17	70,83	7	29,17a	24
Total	98	73,13	36	26,87	134

Letras iguales por columna indican no significancia ($p=0,05$)

Como se observa en el cuadro Nro. 02 el valor más alto de prevalencia para endometritis subclínica se produce para vacas de cuarta lactancia con un porcentaje de **29,17%**, seguido por vacas de primera lactancia **28,57%**, segunda lactancia **27,78%**, y vacas de tercera lactancia con **19,05%**. No obstante a la variaciones mencionadas entras las diferentes lactancias, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.3013$) a la prueba estadística de Chi cuadrado.

Los porcentajes obtenidos son superiores a lo reportado en investigaciones regionales de endometritis subclínica manifestado por Reátegui y col., (2014) quienes obtuvieron valores de 11,11% de prevalencia para vacas de primera a más de cuatro lactancias, con una media de 9,09%, y a lo reportado por Rinaudo y col. (2012) quienes reportan prevalencias de 24,19%, 17,86%, 18,18 % y 15,55% para primera, segunda, tercera y cuarta a más lactancias respectivamente, en sistemas de producción bajo las condiciones de la república de Argentina.

Se determinó la presencia de vacas con endometritis subclínica para poder evaluar también si existían diferencias en base al avance de los días en Leche (DEL) que fueron organizados en tres períodos 21 - 33 DEL; 34 - 46 DEL y 47 - 56 DEL. Se obtuvo la distribución que se observa en el cuadro Nro. 03.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el cuadro Nro. 03, se observa el mayor porcentaje de vacas con ES con 38,64% en el rango de 34 – 46 DEL, seguido de 35,00 % en el rango de 21 – 33 DEL y hay una disminución con 17,14% en el rango

de 47 – 56 DEL. Las variables observadas entre los grupos manifiestan una marcada diferencia estadísticamente significativa entre el rango de 47 - 56 DEL y los rangos de 21 - 33 y 34 - 46 DEL ($P = 0.0015$, para la prueba de Chi cuadrado). Dicha diferencia, dentro de lo complejo y controversial para la reproducción de la vaca lechera que es el padecimiento de ES, es bueno que se produzca un descenso en el último tercio del período analizado, ya que este último es el rango de tiempo más cercano a la liberación a servicio y es importante que exista la menor cantidad posible de vacas con ES.

Cuadro Nro. 03
Prevalencia de Endometritis Subclínica en Vacas lecheras de la Irrigación
Majes según Días en Leche

DEL	Vacas con ES		Vacas sanas		Total vacas
	f	%	f	%	
21 - 33	7	35,00a	13	65,00	20
34 - 46	17	38,64a	27	61,36	44
47 - 56	12	17,14b	58	82,86	70
Total	36	26,87	98	73,13	134

Letras diferentes en las filas indican diferencia estadística significancia ($p > 0,05$)

Presenta una marcada diferencia estadísticamente significativa para la prueba de chi cuadrado.

Los porcentajes obtenidos son superiores al reportado en investigaciones de endometritis subclínica manifestado por Rinaudo (2012) quien obtuvo valores de ES bajo sistema estabulado de 17,00% en 21 – 33 DEL y del 20,00% entre 39 – 53 DEL. En otros reportes de investigación para la república de Argentina se reporta valores de endometritis subclínica de 17,00% en 21 a 62 DEL (Madoz, L. 2012).

En nuestra localidad y región los trabajos de Prevalencia para Endometritis Subclínica según los días en leche reportan valores de 8,70% en el rango de 21 - 56 DEL y de 14,67% en el rango de 57 - 79 DEL con una media de 13,27 % de Prevalencia a Endometritis Subclínica (Reátegui y col., 2014a) valores inferiores a lo reportado en la presente investigación.

Cabe indicar que la prevalencia fue medida sobre el total de vacas evaluadas y no sobre el total de vacas clínicamente sanas con lo que logramos la solución a nuestra segunda interrogante del presente trabajo de investigación.

3. Impacto de la Endometritis subclínica sobre la performance productiva y reproductiva en vacas lecheras de la zona.

Cuadro Nro. 04
Performance Reproductiva y Productiva Promedio de Vacas Sanas y con Endometritis Subclínica

Vacas	n	IPPS (Días)	IPC (días)	PPS (%)	NSP	PDL* (Its)	NP	DEL
Sanas	98	79	102	38,78a	2	28	2,35	48,04
Con ES	36	81,50	106	25,00b	2	28	2,56	43,41

DEL: Días en leche

IPPS: Intervalo Parto Primer Servicio

IPC: Intervalo Parto Concepción

PPS: Preñez Primer servicio

NSP: Número de servicio por preñez

PDL: Producción diaria de leche

NP: Número de parto

*Expresado en Mediana

Letras diferentes en filas indican diferencia estadística significativa ($p < 0,05$)

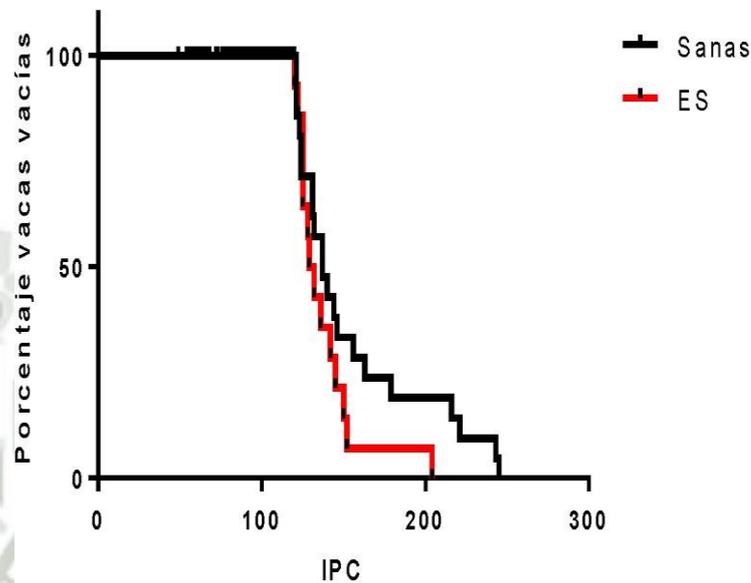
En el cuadro Nro. 04 podemos observar resultados que corresponden a las variables reproductivas y productivas IPPS, IPC, PPS, NSP y PDL, en vacas sanas y vacas con Endometritis Subclínica, en la mayoría de los parámetros reproductivos se observa una pérdida de eficiencia (IPPS, IPC, %PPS).

A pesar de observarse 2,5 días menos en el intervalo parto primer servicio (IPPS) entre vacas sanas y vacas con ES no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.1264$). Este resultado se produce ya que la ES al ser una enfermedad justamente subclínica el productor no la detecta y la primera inseminación se presenta como si fuese una vaca sana, por tal motivo no hay diferencias entre las vacas con ES y las vacas sanas.

En el intervalo parto concepción (IPC), tampoco surgieron diferencias estadísticamente significativas al comparar vacas sanas y vacas con ES. Las vacas del primer grupo necesitaron 102 días para preñarse, las vacas con ES 106 días. La diferencia de 4 días entre ambos grupos, si bien no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.1264$ para la prueba estadística de U de Mann Whitney), se observa un detrimento en la eficiencia reproductiva de las vacas con ES (Ver gráfico Nro. 02).

Grafica Nro. 02
Curva de supervivencia de Kaplan – Meier para el diagnóstico (días) que requirió cada vaca desde el parto para lograr la preñez según el estado sanitario de la mucosa uterina

Curva de Supervivencia de Kaplan-Meier



En el porcentaje de Preñez al Primer Servicio (%PPS), si existe diferencias estadísticamente significativa ($P = 0.0338$ para prueba de Chi cuadrado) entre las vacas sanas 38,78 % y las vacas con ES 25,00% observándose en estas últimas un bajo porcentaje de PPS. Según estudios realizados en Argentina (Capitaine Funes, 2005), se ha demostrado que en los hatos la preñez a la primera IA postparto en promedio no supera el 35% a su vez otros estudios, (Domínguez y col., 2006; Domínguez y col., 2003) demostraron que las vacas que tuvieron algún grado de endometritis tuvieron una disminución de la fertilidad que vario entre el 15% y el 26%, comparando con vacas que no presentaron endometritis durante el postparto.

Todo esto indica que la mejora de la eficiencia reproductiva no solo está en la aplicación de la biotecnología a la reproducción, como son los protocolos de sincronización de dinámica lútea y folicular, sino es importante mejorar el ambiente uterino donde se desarrollará la potencial gestación.

En el cuadro Nro. 05, se analizaron las tasas de preñez de ambos subgrupos, en el mismo se destaca claramente que las vacas sanas presentan un 51% de preñez, mientras que las vacas con ES tuvieron una menor tasa de preñez (TP) 49%. Sin embargo esta diferencia no es estadísticamente significativa ($P = 0.7773$).

Cuadro Nro. 05
Tasa de Preñez de Vacas Sanas y con Endometritis Subclínica

Vacas	n	TC	TDC	TP
Sanas	98	0,51	1,00	0,51a
Con ES	36	0,49	1,01	0,49a

TC: Tasa de concepción TDC: Tasa de detección de celos TP: Tasa de preñez
Letras iguales por columna indican no significancia ($p=0,05$)

En el cuadro Nro. 06, se detallan los resultados obtenidos al relacionar la presencia de endometritis subclínica con el número de parto de esas vacas. Las vacas primerizas no manifestaron diferencias significativas al comparar sanas con aquellas que poseen ES. El mismo comportamiento de los datos se observó para IPPS, PDL Y NSP, las vacas de segunda, 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.

Cuadro Nro. 06
Performance Reproductivo y Productivo Promedio de Vacas Sanas y con Endometritis Subclínica Según Lactancia

Lactancia 01							
Vacas	n	IPPS (Días)	IPC (días)	PPS (%)	NSP	PDL (lts)	DEL
Sanas	25	76,56	96,72	40,00a	1,96	28,52	47,16
Con ES	10	79,20	93,90	40,00a	1,80	30,00	40,30
Lactancia 02							
Vacas	N	IPPS (Días)	IPC (días)	PPS (%)	NSP	PDL (lts)	DEL
Sanas	39	81,95	100,79	35,90a	1,90	36,08	49,89
Con ES	15	86,40	108,80	20,00b	2,07	28,87	46,60
Lactancia 03							
Vacas	n	IPPS (Días)	IPC (días)	PPS (%)	NSP	PDL (lts)	DEL
Sanas	17	87,00	106,76	35,29a	1,94	28,53	46,00
Con ES	04	98,75	114,50	25,00b	1,79	30,79	39,50
Lactancia >04							
Vacas	N	IPPS (Días)	IPC (días)	PPS (%)	NSP	PDL (lts)	DEL
Sanas	17	84,24	107,71	47,06a	2,12	28,18	47,35
Con ES	07	89,43	122,43	14,29b	2,57	30,14	43,14

DEL: Días en leche IPPS: Intervalo Parto Primer Servicio IPC: Intervalo Parto Concepción PPS: Preñez primer servicio NSP: Número de servicio por preñez PDL: Producción diario de leche NP: Número de parto
Letras diferentes en filas indican diferencia estadística significativa ($p<0,05$)

Cuadro Nro. 07
Tasa de Preñez de Vacas Sanas y con Endometritis Subclínica Según Lactancia

Lactancia 01				
Vacas	n	TC	TDC	TP
Sanas	25	0,51	1,00	0,51a
Con ES	10	0,56	1,00	0.59b
Lactancia 02				
Vacas	n	TC	TDC	TP
Sanas	39	0,53	1,00	0,53a
Con ES	15	0,48	1,00	0,48a
Lactancia 03				
Vacas	n	TC	TDC	TP
Sanas	17	0,52	1,00	0,52a
Con ES	4	0,57	1,00	0,57a
Lactancia > 04				
Vacas	n	TC	TDC	TP
Sanas	17	0,47	1,00	0,47a
Con ES	7	0,39	1,00	0,39a

TC: Tasa de concepción TDC: Tasa de detección de celos TP: Tasa de preñez
Letras diferentes en filas indican diferencia estadística significativa ($p < 0,05$)

En el cuadro Nro. 07, Se analizaron también las tasas de preñez de Vacas Sanas y vacas con endometritis subclínica según lactancia. Donde podemos observar que la tasa de preñez en primera lactancia tiene diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.0425$), mientras que la segunda ($P = 0.4795$), tercera ($P = 0.4777$) y la cuarta lactancia ($P = 0.2532$) no presentan diferencias estadísticas significativas según el estado sanitario de la mucosa uterina.

Se confirmó que la ES disminuye la eficiencia reproductiva. Los resultados de eficiencia reproductiva obtenidos muestran claramente que la ES afecta negativamente a la eficiencia reproductiva a vacas lecheras, aumentando los días de vaca vacía. Esto concuerda con la mayoría de los informes al respecto (Kasimanickam y col., 2004) (Galvão y col., 2009; Gilbert y col., 2005; Salasel y col., 2010) y disiente sólo con uno en el que informan no haber encontrado diferencias significativas entre vacas de tambo positivas y negativas a ES (Plontzke y col., 2010). Esta discrepancia se podría explicar, debido a que en el presente trabajo se utilizó un mayor número de animales que en el anterior, permitiendo tener un estudio con mayor potencia, que permitió detectar estas diferencias previamente no detectadas.

CONCLUSIONES

Primera: el nivel de corte de PMN N hallado fue de $>5,10\%$ con una sensibilidad de $77,55\%$ y una especificidad de $38,89\%$ en el rango de 21 a 56 DEL para el diagnóstico de ES mediante la técnica de citología endometrial, técnica validada como método de diagnóstico de endometritis subclínica.

Segunda: la prevalencia de ES hallada por la técnica de citología endometrial, en Vacas lecheras de la Irrigación de Majes fue de $26,87\%$ lo que representa 36 animales positivos del total muestreado (134 animales). El valor más alto de prevalencia para endometritis subclínica se da para vacas de cuarta lactancia con un porcentaje de $29,17\%$, seguido por vacas de primera lactancia ($28,57\%$), segunda lactancia ($27,78\%$), y vacas de tercera lactancia ($19,05\%$). No obstante a las variaciones mencionadas entre las diferentes lactancias, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.3013$) a la prueba estadística de Chi cuadrado. El mayor porcentaje de vacas con ES según los DEL fue de $38,64\%$ en el rango de 34 – 46 DEL, seguido de $35,00\%$ en el rango de 21 – 33 DEL y hay una disminución con $17,14\%$ en el rango de 47 – 56 DEL las variantes observadas entre los grupos manifiestan una marcada diferencia estadísticamente significativa entre el rango de 47 - 56 DEL y los rangos de 21 - 33 y 34 - 46 DEL ($P = 0.0015$, para la prueba de Chi cuadrado).

Tercera: en referencia a la Tasa de Preñez (TP) se destaca claramente que las vacas sanas presentan un 51% de preñez, mientras que las vacas con ES tuvieron una menor TP con el 49% , esta diferencia no presenta diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.7773$).

RECOMENDACIONES

Primera: la endometritis postparto en vacas lecheras es una enfermedad de elevada prevalencia y económicamente importante, la técnica de citología endometrial, debería ser usada como herramienta de diagnóstico en campo para vacas lecheras.

Segunda: difundir la técnica de citología endometrial como método de diagnóstico de rutina para ES en vacas repetidoras, antes de realizar la inseminación artificial, en los establos lecheros.

Tercera: la endometritis subclínica es una entidad que repercutirá en la eficiencia reproductiva de los establecimientos lecheros, es por esta razón que se considera de sumo interés continuar con su estudio, de igual manera para vacas lecheras de diferentes genotipos mediante el método de citología endometrial, para lograr principalmente disminuir su prevalencia y obtener un tratamiento efectivo en aquellos animales que lo padezcan en el futuro.

PROPUESTA

“DIFUSIÓN DE LA TÉCNICA DE CITOLOGÍA ENDOMETRIAL Y PUNTO DE CORTE COMO MÉTODO DE DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITIS SUB CLÍNICA EN VACAS LECHERAS EN LA IRRIGACION MAJES”

1. Objetivos

❖ **Objetivo general**

Difundir y capacitar a los profesionales y técnicos de campo dedicados a la ganadería lechera sobre la técnica citológica de cepillado de la mucosa uterina o citología endometrial y el punto de corte de una prueba diagnóstica en la determinación del valor mínimo por encima del cual se puede diagnosticar a un individuo como enfermo.

❖ **Objetivos específicos**

- Difundir la técnica de citología endometrial como método de diagnóstico de ES en vacas repetidoras, antes de realizar la inseminación artificial, en los establos lecheros.
- Organizar eventos de capacitación para mejorar la performance reproductiva del hato con el uso de la técnica de citología endometrial en vacas lecheras como método de diagnóstico de ES.

2. Antecedentes

❖ **Endometritis subclínica**

La endometritis subclínica es la inflamación del endometrio usualmente debido a la persistencia de una infección moderada o al retraso en la involución uterina. Se caracteriza por la presencia de células polimorfas nucleares (PMN – N) en el lumen uterino.

Las vacas con endometritis subclínica no tienen descarga uterina, sin embargo la enfermedad provoca daños severos para el rendimiento reproductivo de las vacas.

La endometritis subclínica se define en base a resultados de la citología uterina como la presencia de > de 5.10% de PMN – N entre los días 21 a 56 DPP.

❖ **Citología endometrial**

La técnica de citología endometrial se basa en la obtención de células endometriales, mediante un cepillado de la superficie interna del útero. Esta técnica ha demostrado ser la mejor para la obtención de muestras citológicas uterinas en vacas para el diagnóstico de endometritis subclínica. Los cepillos endocervicales (que serán cortados aproximadamente a cinco cm de largo) y enroscados en el extremo del mandril de una pistola universal de inseminación artificial de acero inoxidable especialmente diseñada para este trabajo. Para proteger la pistola de la contaminación vaginal la misma será cubierta con una funda descartable. La región perineal y la vulva será higienizadas con solución yodada y toallas de papel absorbente. La pistola de inseminación se introducirá, guiada manualmente por la palpación rectal, a través de la vulva, vestíbulo vaginal y vagina pasando a través del cérvix y se colocara en el cuerpo uterino o en la base del cuerno de mayor tamaño en los casos de asimetría donde el cepillo se expondrá de la funda y procederá a la realización de la toma de muestra dando un giro al mismo en sentido de las agujas del reloj sobre la mucosa uterina. El cepillo luego se retraerá dentro de la vagina y la pistola de inseminación será retirada del útero y vagina.

Posteriormente, se realizará el frotis rotando cada cepillo con la muestra sobre un porta objetos limpio y se determinará el porcentaje de Polimorfos Nucleares Neutrófilos para constatar la existencia de ES. Rotulado con el número de arete correspondiente al animal y la fecha de la toma de la muestra. Inmediatamente de realizado el extendido será fijado y almacenado en cajas transportadoras de portaobjetos (Palmer, 2008).

Tinción:

Método: Diff Quick

Una vez fijada se realizará una tinción Diff Quick. Para cada frotis se contarán un mínimo de 100 (cien) células totales (células epiteliales y

células inflamatorias), a partir de las cuales se determinarán un porcentaje de células inflamatorias (macrófagos, linfocitos, neutrófilos) de las cuales los neutrófilos serán los utilizados para determinar el grado de inflamación de la mucosa uterina. El criterio para diagnosticar endometritis subclínica será $\geq 5\%$ PMN-N en los frotis.

Es un colorante de inmersión, por lo que cada componente deberá prepararse en un frasco pequeño de la siguiente manera:

Se sumerge la lámina es una solución fijadora por 5 veces (5 inmersiones de un segundo cada una). Se deja escurrir el fijador.

Se sumerge la laminilla en la solución I por 5 veces (5 inmersiones de 1 segundo cada una). Se deja que escurra el exceso de colorante.

Se sumerge la laminilla en la solución II por 5 veces (5 inmersiones de 1 segundo cada una). Se deja que escurra el exceso de colorante.

Se enjuaga la laminilla con agua destilada o des ionizada.

Se deja secar y se examina.

NOTA:

Cuando se desea una tinción total más intensa se aumenta el número de inmersiones en las soluciones I y II.

Si se desea una tinción más pálida, se disminuye el número de inmersiones en las soluciones I y II pero nunca a menos de 3 inmersiones de un segundo cada una.

Para aumentar la tinción eosinófilica se aumenta el número de inmersiones en la solución I.

Para aumentar la tinción basófila se aumenta el número de inmersiones en solución II.

Las soluciones deberán renovarse cada semana.

Las preparaciones citológicas logradas se observarán y analizarán con un microscopio binocular a un aumento de 400X y contando un mínimo de 100 células totales (células epiteliales y células inflamatorias), a partir de las cuales se determinará la proporción de células inflamatorias (polimorfos nucleares neutrófilos). Para determinar el grado de inflamación de la

mucosa uterina, se calculará el porcentaje de polimorfos nucleares neutrófilos (% PMN-N), mediante la siguiente fórmula:

$$\%PMNN = \frac{nPMN - N}{C.T.} \times 100$$

Dónde:

% PMN N : Porcentaje de polimorfos nucleares Neutrófilos

n PMN N : Cantidad de Polimorfos nucleares Neutrófilos presentes en la preparación.

C. T. : Células Totales presentes en la preparación (células epiteliales y PMN N) (Rinaudo y col., 2012).

La técnica de citología endometrial ha demostrado ser eficaz para obtener muestras de las células del endometrio realizar el examen citológico postparto en vacas lecheras. Por lo tanto el uso de esta técnica requiere de equipos simples y un microscopio, es muy rápido hacer el diagnóstico en campo, esto nos permite hacer un diagnóstico pre IA.

Para el diagnóstico de vacas repetidoras nos ayuda la técnica y esta debe ser difundida con todos los profesionales que trabajan en campo para mejorar la eficiencia reproductiva en los establos lecheros. (Gilbert y col, Plöntzke y col, 2010)

❖ **Punto de corte de PMN - N**

El punto de corte de una prueba diagnóstica consiste en la determinación del valor mínimo por encima del cual se puede diagnosticar a un individuo como enfermo. Para lograr determinar el mencionado punto de corte se debe utilizar un análisis estadístico denominado CURVA DE ROC (Características Operativas del Receptor), consiste en la determinación del valor de diagnóstico con la mayor **sensibilidad** (probabilidad que un individuo realmente enfermo el resultado sea positivo) y **especificidad** (probabilidad que un individuo realmente sano el resultado sea negativo).

El punto o valor de corte de PMN – N es de >5,10% con una sensibilidad de 77,55 y una especificidad de 38,89.

❖ **Difundir la técnica de citología endometrial como método de diagnóstico de ES en vacas lecheras.**

Se difundirá la técnica de Cytobrush con los profesionales y técnicos de campo como método diagnóstico de ES para la evaluación de la salud uterina en vacas.

El método se caracteriza por ser rápida, sensible, específica y económica, lo que le hace una herramienta valiosa para el trabajo en campo y así mejorar la eficiencia reproductiva y productiva en los establos lecheros.

❖ **Capacitación a profesionales y técnicos de la técnica de citología endometrial como método de diagnóstico de ES en campo.**

- En coordinación con profesionales y técnicos de campo que se dedican a la actividad privada se organizara eventos de capacitación de la técnica de cytobrush con prácticas en establos lecheros de la zona.
- Con la participación de especialistas en reproducción se realizarán charlas sobre anatomía, fisiología reproductiva bovina y enfermedades uterinas postparto que comprometen la eficiencia reproductiva y productiva del animal.
- Con la participación del Ministerio de Agricultura, comité Regional de Productividad Lechera y centros de acopio lechero CALES se realizará un programa de asistencia técnica para el diagnóstico de endometritis subclínica para vacas repetidoras en los establos inscritos.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES:

<i>ACTIVIDADES</i>	<i>RESPONSABLES</i>	<i>SEMESTRES</i>				
		1	2	3	4	5
Capacitación a profesionales y técnicos de la técnica de citología endometrial	Médicos veterinarios especialistas en reproducción	X				
Establecimiento del programa de asistencia técnica al ganadero.	Ministerio de Agricultura y Comité Regional Productividad Lechera.		X	X		
Monitoreo de los resultados de citología endometrial	Médicos veterinarios especialistas en reproducción	X	X	X	X	X
Evaluación e informe final	Jefe del proyecto					X

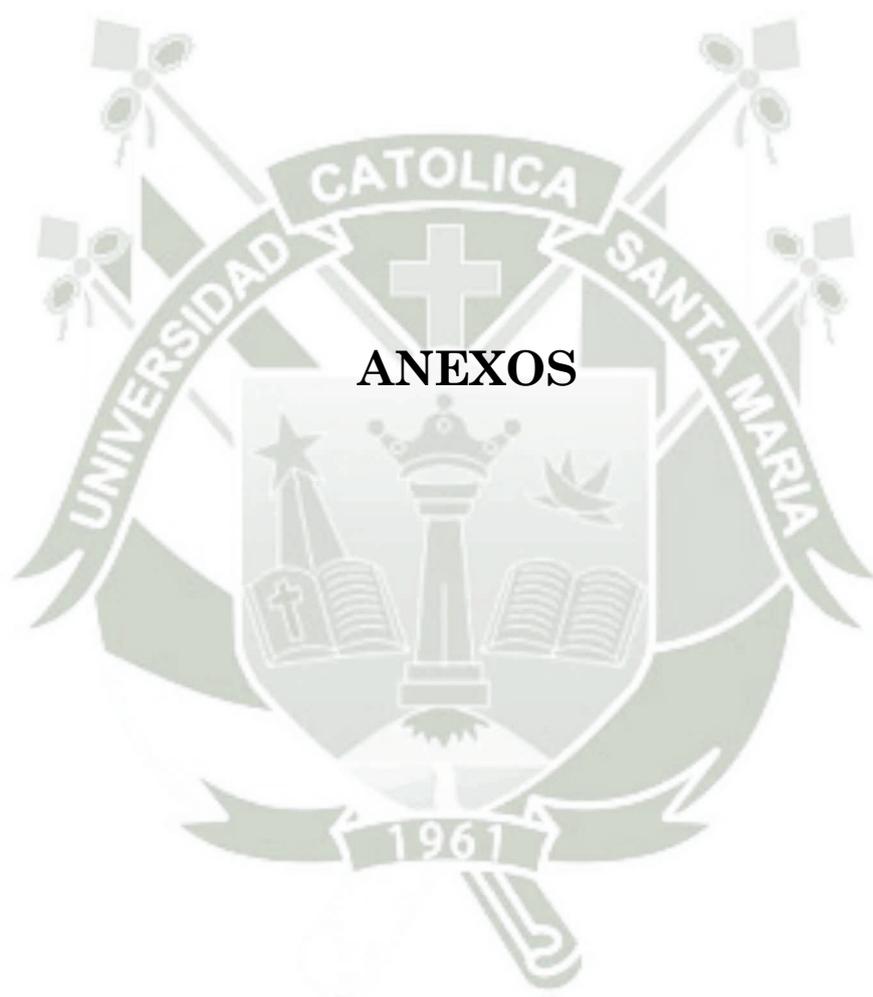
BIBLIOGRAFÍA

1. Aloé, S. Weber, F.; Behr, B.; Sauter-Louis, C. y Zerbe, H. (2012) Modulatory Effects of Bovine Seminal Plasma on Uterine Inflammatory Processes. *ReprodDomestAnim* 47(1):12-9.
2. Busso, F., Corbellini, C., Grigera, J., Lucas, V., Podetti, V., Tuñón, G., Vidaurreta, I., (2009) Organización y análisis de un sistema de registro de enfermedades del parto en vacas lecheras: su incidencia e impacto económico sobre las empresas.
3. Barlund C, Carruthers T, Waldner C, Palmer C. A Comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology*. 2008; 69(6):714-23.
4. Correa, M.T., Erb, H., Scarlett, J., (1993), Path analysis for seven postpartum disorders of Holstein cows. *J Dairy Sci* 76, 1305-1312.
5. Dijkhuizen, A.A., Stelwagen, J., Renkema, J.A., (1985) Economic aspects of reproductive failure in dairy cattle. I. Financial loss at farm level. *Preventive Veterinary Medicine* 3, 251-263.
6. Dominguez, G., Magnasco, M., Magnasco, R., Hernandez, J., Risco, C., de la Sota, R., (2006) Effect of clinical endometritis on reproductive performance in Holsteincows in Argentina. *Theriogenology* 66, 679-680.
7. Domínguez, G., Magnasco, R., Magnasco, M., de la Sota, R., 2003. Diagnóstico, tratamiento y auto cura de infecciones uterinas en un rodeo lechero bajo condiciones de explotación comercial. In: V Simposio Internacional de Reproducción Animal, Cordoba, Argentina, p. 394.
8. Erb, H.N., Smith, R.D., Hillman, R.B., Powers, P.A., Smith, M.C., White, M.E., Pearson, E.G., 1984, Rates of diagnosis of six diseases of Holstein cows during 15-day and 21-day intervals. *American journal of veterinary research* 45, 333- 335.

9. Erb, H.N., Smith, R.D., Oltenacu, P.A., Guard, C.L., Hillman, R.B., Powers, P.A., Smith, M.C., White, M.E., (1985) Path model of reproductive disorders and performance, milk fever, mastitis, milk yield, and culling in Holstein cows. *J Dairy Sci* 68, 3337-3349.
10. Gautam, Gokarna; Nakao, Toshihiko; Yusuf, Muhammad; Koike, Kana (2009). Prevalence of endometritis during the postpartum period and its impact on subsequent reproductive performance in two Japanese dairy herds. *Theriogenology* 0378-4320. Elsevier.
11. 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.
12. 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. AnimSci*, 89(11):3551-3560.
13. Gröhn, Y., Erb, H.N., McCulloch, C.E., Saloniemi, H.S., (1990) Epidemiology of reproductive disorders in dairy cattle: associations among host characteristics, disease and production. *Preventive Veterinary Medicine* 8, 25-39.
14. 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.
15. Madoz, L., (2012) Tesis Endometritis subclínica en vacas de tambo: diagnóstico, prevalencia e impacto sobre la eficiencia reproductiva, Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional de la plata, Tesis Doctoral, la plata - Argentina.
16. LeBlanc, S.J., Duffield, T.F., Leslie, K.E., Bateman, K.G., Keefe, G.P., Walton, J.S., Johnson, W.H., (2002) Defining and diagnosing

- postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci* 85, 2223- 2236.
17. Castilla, L. (2011). *Manual Práctico de Estadística para las ciencias de la Salud*. Editorial Trillas D.F. México. P. 167
 18. López, de U., Pita F., (2011) curvas ROC *Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística*, (1998) España *Cad Aten Primaria* 1998; 5 (4): 229-239.
 19. Madoz, L., Ploentzke, J., Albarracin, D., Mejia, M., Drillich, M., Heuwieser, W., De la Sota, R., 2008, Prevalence of clinical and subclinical endometritis in dairy cows and the impact on reproductive performance. *Reprod. Domest. Anim. Supplem.* 43 51.
 20. Magnasco, M., Magnasco, R., DeLaSota, R.L., (2007). Prevalencia de endometritis clínica en un tambo comercial y su efecto sobre la eficiencia reproductiva. In: VII Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina, p.302.
 21. Medicina de la producción LABVETSUR Año 1 N° 1- 2002 pág. 4.
 22. Olivera, (2010), *Midiendo y Monitoreando la Reproducción en Vacas Lecheras: La Tasa de Preñez*, Agroindustrias el Olivar, Huaura, Lima.
 23. Ortega Manuel María; Marro Omar; Dra. Catena María, (2012) *Diagnóstico de endometritis subclínica en vacas holando Argentino entre los días 40 al 70 posparto*.
 24. 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.
 25. Palmer, C., (2008). Endometritis en vacas lecheras. *Taurus*, 10 (37):25-32.
 26. Plontzke, J., Madoz, L.V., De la Sota, R.L., Drillich, M., Heuwieser, W., 2010, Subclinical endometritis and its impact on reproductive

- performance in grazing dairy cattle in Argentina. *AnimReprodSci* 122, 52-57.
27. Reátegui, J. Marini, A., Fernández, F., Rinaudo, A., Cuadros, S., Marini, P. Endometritis subclínica en el postparto de vacas lecheras en sistemas intensivos de producción de leche, Arequipa. *SPERMOVA* 2014a; 04(1): 74 -76
28. Reátegui, J., Marini, A., Fernández, F., Rinaudo, A., Cuadros, S., Marini, P. Prevalencia de endometritis subclínica en postparto de vacas lecheras en sistemas intensivos, Arequipa-Perú. XV Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas 2014. II Jornada Latinoamericana. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de Rosario. 2014b: pp. 315 - 316.
29. Rinaudo, A. (2012) Endometritis subclínica en vacas lecheras: diagnóstico, tratamiento e incidencia productiva y reproductiva, Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional de Rosario UNR, Tesis Doctoral, Casilda - Argentina.
30. Rinaudo A, Bernardi S., y Marini P. Punto de corte del porcentaje de neutrófilos para el diagnóstico de endometritis subclínica en vacas lecheras. XIII Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas 2012. Universidad Nacional de Rosario. pp. 279-280.
31. 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.
32. Sheldon, I.M., Dobson, H., (2004) postpartum uterine health in cattle. *AnimReprodSci* 82-83, 295-306.
33. Sheldon, I.M., Lewis, G.S., LeBlanc, S., Gilbert, R.O., (2006) Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65, 1516-1530.





ANEXO Nro. 01

PROYECTO DE TESIS

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
ESCUELA DE POSTGRADO
MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN Y SALUD ANIMAL



**“DETERMINACION DEL PUNTO DE CORTE DE POLIMORFOS
NUCLEARES NEUTROFILOS (PMN - N) PARA EL DIAGNOSTICO DE
ENDOMETRITIS SUB CLINICAE IMPACTO SOBRE LA EFECIENCIA
REPRODUCTIVA Y PRODUCTIVA EN VACAS LECHERAS. IRRIGACION
MAJES, AREQUIPA. 2014”**

Proyecto de tesis presentada por la Bachiller:
EDITH MELCHORITA ARENAS OVIEDO

Para optar el Grado Académico de:
**MAGÍSTER EN PRODUCCIÓN Y SALUD
ANIMAL**

AREQUIPA – PERÚ

2014

I.- PREÁMBULO:

La crianza de ganado lechero es una actividad pecuaria que genera trabajo e ingresos económicos a muchas familias del sector rural para quienes el ganado significa un medio de producción e ingresos económicos.

Es importante la ganadería lechera para la economía familiar y la economía del país; sin embargo, como toda actividad, está sujeta a riesgos sociales, económicos, políticos y sanitarios.¹

Para una mejor comprensión de los riesgos sanitarios, diremos que el mayor valor de una vaca lechera está dada por su capacidad reproductiva, ya que gracias a esta función maravillosa, el ganadero recibe los siguientes beneficios: un ternero por vaca por año, con un potencial genético que puede ser superior al de la madre y cantidad de leche producida en la lactancia de 10 meses. Sin embargo en los últimos 20 años, la capacidad reproductiva de las vacas está siendo amenazada por los problemas reproductivos, que paulatinamente se están incrementando y, hoy en día es una de las principales causas de pérdidas económicas, causando frustración y desaliento en los ganaderos.

La endometritis subclínica se define como una inflamación del endometrio en ausencia de signos clínicos. Las enfermedades uterinas postparto comprometen severamente la eficiencia reproductiva. La endometritis es la inflamación del endometrio usualmente debido a la persistencia de una infección moderada o al retraso en la involución uterina. Las pérdidas reproductivas incluyen un incremento del número de días de vacía, aumento de los servicios por concepción y un incremento del riesgo de rechazo debido a fallas reproductivas en vacas lecheras Holstein. Las vacas repetidoras representan un alto porcentaje, aspecto que repercute en la producción y reproducción, se ha estimado un 25% de vacas repetidoras, en las que se realizara este estudio y demostrar una de las causas de esta endometritis.

En los últimos años, varios trabajos publicados han comunicado el impacto negativo en la eficiencia reproductiva que provoca la endometritis subclínica en las vacas lecheras².

Los Polimorfo Nucleares – Neutrófilos (PMN- N) son la primera barrera de defensa ante la invasión bacteriana. Estas células con capacidad fagocítica, son

¹LABVETSUR:Medicina de la producción. Año 1 N° 1- 2002 pág. 4

²Barlund et al, 2008; Gilbert et al, 2005; Kasimanickam et al, 2004; Lenz et al, 2008

reclutadas desde la circulación periférica hacia la luz uterina para fagocitar a las bacterias tratando así de controlar la invasión bacteriana. Sin embargo, la capacidad funcional de los Polimorfos Nucleares – Neutrófilos (PMN- N) se encuentra reducida en el postparto de muchas hembras. Esta disminución puede favorecer y predisponer al hato de afecciones uterinas tanto clínicas como subclínicas³.

La inflamación subclínica del endometrio necesita, para poder ser diagnosticada, de algún método complementario como el análisis citológico, el animal no presenta ningún signo local o general que oriente a pensar en la existencia de una patología uterina⁴.

La citología endometrial es una práctica que recientemente se ha comenzado a utilizar para la evaluación de la salud uterina en bovinos (Gilbert y col., 1998; Palmer, 2006). Se caracteriza por ser rápida, específica, sensible y económica, lo que la hace una herramienta valiosa para la investigación sobre el rol y la importancia de la endometritis (Gilbert, 2005).

Según gran parte de las publicaciones, se podría considerar que en ausencia de endometritis clínica (EC) una vaca es diagnosticada positiva a endometritis subclínica (ES) cuando la citología endometrial presenta >18% PMN para muestras tomadas entre los 21-33 dpp, >10% PMN para muestras entre 34-47 dpp; (Kasimanickam y col., 2004; Sheldon y col., 2006). A pesar de que estos valores de corte son los aceptados por la mayoría de los investigadores, no existe consenso total, variando los valores de corte entre 4 y 25% PMN (Galvão y col., 2009; Hammon y col., 2006);

³Sheldon and Dobson, 2004.

⁴Sheldon y col., 2006

II.- PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1.- Problema de investigación

1.1 Enunciado del problema

Determinación del punto de corte de polimorfo nucleares – neutrófilos (PMN – N) para el diagnóstico de endometritis sub clínica e impacto sobre la eficiencia reproductiva y productiva en vacas lecheras. Irrigación Majes, Arequipa. 2014

1.2 Descripción del problema

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 hatos 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. 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).

El control sanitario, aunque parezca obvio es un aspecto que no puede quedar relegado, ya que la producción de un hato 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).

La gravedad de la enfermedad es que a diferencia de la Endometritis Clínica, en la Endometritis Subclínica sólo se detecta la presencia de Polimorfo Nucleares Neutrófilos (PMN – N) en la luz uterina sin estar acompañada de descargas uterinas (Sheldon et al. 2002). Debido a que la Endometritis Subclínica se presenta en vacas clínicamente sanas, es decir animales con flujo vaginal normal y sin signos clínicos sistémicos evidentes, no es

normalmente diagnosticada. Por lo tanto, aquellas vacas que no muestran ningún indicio de trastorno reproductivo pueden igualmente estar padeciendo de Endometritis Subclínica, y como consecuencia, no se logre la óptima fertilidad al finalizar el período de espera voluntario.

Tanto las metritis como las endometritis, son inflamaciones del útero; las metritis se presentan antes de la finalización del puerperio clínico (21 DPP) y afectan no sólo al endometrio sino a todas las capas que forman la pared uterina. A su vez, las metritis se clasifican en puerperal y clínica variando entre ellas la sintomatología y la gravedad del pronóstico de la hembra afectada. Por otro lado, en el caso de las endometritis, sólo el endometrio es afectado y se presentan a partir de los 21 DPP. Las endometritis se clasifican en clínicas y subclínicas; sólo en el primer caso el animal muestra signos de alteraciones uterinas y según éstas se la divide en tres grados según las características que presenta el flujo uterino que varía desde mucoso levemente purulento a francamente purulento con olor desagradable (Dominguez y col., 2006; Sheldon y col., 2006). Dentro de las afecciones del postparto de las vacas lecheras, las endometritis ocupan un papel preponderante.

A diferencia de la EC, en la ES sólo se detecta la presencia de PMN-N en la luz uterina sin estar acompañada de descargas uterinas (Sheldon y col., 2002). Debido a que la ES se presenta en vacas clínicamente sanas, es decir animales con flujo vaginal normal y sin signos clínicos sistémicos evidentes, no es normalmente diagnosticada. Por lo tanto, aquellas vacas que no muestran ningún indicio de trastorno reproductivo pueden igualmente estar padeciendo de ES, y como consecuencia de esto, no sea la óptima la fertilidad que pueda ser lograda de esa hembra al finalizar el período de espera voluntario.

Está comprobado, que bajo cualquier sistema de producción, la EC y la ES afectan la eficiencia reproductiva de las hembras al aumentar los intervalos parto primer servicio (IP1S), intervalo parto concepción (IPC) e intervalo parto parto (IPP) así como también, la

cantidad de servicios necesarios por preñez (Bondurant, 1999; Gilbert y col., 2005; Kasimanickam y col., 2004; Madoz y col., 2008; Magnasco y col., 2007).

1.2.1 Área del conocimiento al que pertenece

Pertenece al área de ciencias de la salud animal dentro de la producción y sanidad Animal.

1.2.2 Análisis de operación de variables

VARIABLE	INDICADOR	SUB INDICADOR
<u>Variable Independiente</u> % de Poliformo nucleares - neutrófilos (PMN-N)	- Número de parto - Días en leche	- Edad de la vaca - Tendencia de la curva de lactancia
<u>Variable Dependiente</u> % de punto de corte de PMN-N	- Poliformo nucleares: Neutrófilos para determinar endometritis subclínica. - Tasa de preñez	- Servicio por concepción - Tasa de detección de celos - Días abiertos o DPP - Periodo voluntario de espera

1.2.3. Interrogantes de investigación

- ¿Cuál será el porcentaje de PMN-N para diagnosticar Endometritis Subclínica en vacas lecheras?
- Determinar los puntos de corte (% de PMN-N) según los DPP para el diagnóstico de ES por la técnica de Cytobruith (CB).
- ¿Cuál será la tasa preñez como indicador de eficiencia reproductiva en vacas lecheras?

1.2.4 Tipo y nivel de investigación

- a) Tipo observacional.
- b) Nivel de investigación, descriptiva y explicativa

1.3 Justificación del problema

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 hatos 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.

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 estable (Palmer, 2008), esto da cuenta de que cualquier problema reproductivo repercutirá sobre la producción.

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).

Está comprobado, que bajo cualquier sistema de producción, la endometritis clínica (EC) y la endometritis subclínica (ES) afectan la eficiencia reproductiva de las hembras al aumentar los intervalos IP1S, IPC eIPP así como también, la cantidad de servicios necesarios por preñez (Bondurant, 1999; Gilbert y col., 2005; Kasimanickam y col., 2004; Madoz y col., 2008; Magnasco y col., 2007).

Los Polimorfo Nucleares – Neutrófilos (PMN-N) son la primera barrera de defensa ante la invasión bacteriana. Estas células con capacidad fagocítica, son reclutadas desde la circulación periférica hacia la luz uterina para fagocitar a las bacterias tratando así de controlar la invasión bacteriana.

Sin embargo, la capacidad funcional del Polimorfo Nucleares – Neutrófilos (PMN-N) se encuentra reducida en el postparto de muchas hembras. Esta disminución puede favorecer y predisponer al establecimiento de afecciones uterinas tanto clínicas como subclínicas (Sheldon and Dobson, 2004). La inflamación subclínica del endometrio necesita, para poder ser diagnosticada, de algún método complementario como el análisis citológico, ya que como se comentó, el animal no presenta ningún signo local o general que oriente a pensar en la existencia de una patología uterina (Sheldon y col., 2006).

La citología endometrial es una práctica que recientemente se ha comenzado a utilizar para la evaluación de la salud uterina en bovinos (Gilbert y col., 1998; Palmer, 2006). Se caracteriza por ser rápido, específico, sensible y económico, lo que la hace una herramienta valiosa para la investigación sobre el rol y la importancia de la endometritis una enfermedad reproductiva (Gilbert, 2005).

Si bien se han realizado estudios preliminares sobre la prevalencia de ES en hatos comerciales de diferentes países; estos trabajos se realizaron utilizando valores de corte arbitrarios 10% (Feresin y col., 2006) y 5% (Plontzke y col., 2010), o valores de corte del 10% y el 18% obtenidos con análisis de curva ROC de trabajos realizados en Canadá (Madoz y col., 2008). De lo expuesto anteriormente sería necesario realizar un estudio sobre: la prevalencia de ES, en el cual mediante la utilización del análisis de curvas ROC se pueda relacionar el efecto de un aumento del porcentaje de PMN sobre la eficiencia reproductiva de vacas lecheras en la irrigación de Majes.

No existe un punto de corte para el diagnóstico de ES que relacione con una real disminución en la eficiencia reproductiva que pueda ser aplicado directamente al sistema peruano de explotación lechera. Los estudios publicados fueron llevados a cabo en su mayoría en el extranjero y varían en los puntos de corte que aplican y en los DPP de los animales muestreados.

2.- Marco conceptual

2.1 Histología del útero bovino

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 diferenciables: un cuello o cérvix, un cuerpo y cuernos bilaterales.

La pared uterina consta de tres capas al corte transversal, la mucosa-submucosa endometrio, la muscular o miometrio y la serosa o perimetrio.

El endometrio está formado por dos capas, una superficial y otra profunda. La capa superficial posee un epitelio cilíndrico simple y/o cilíndrico pseudoestratificado, pudiendo llegar a ser cúbico en zonas aisladas, estas células de revestimiento se continúan con el epitelio de las glándulas uterinas. Las glándulas son de tipo tubular, se abren en la superficie de la mucosa uterina y se extienden en el espesor del estroma endometrial, terminando en extremos ciegos. Por debajo del epitelio se encuentra la lámina propia o corion formada por tejido conjuntivo laxo altamente vascularizado con fibroblastos, macrófagos y mastocitos. Hacia la profundidad de la capa superficial el tejido conjuntivo se va haciendo menos celular.

Las carúnculas son engrosamientos circunscriptos del endometrio libres de glándulas, que se ubican en cuatro hileras por cuerno de aproximadamente quince carúnculas cada una, y son en forma de cúpula en el caso de la vaca (Dellmann and Brown, 1993).

El miometrio está compuesto por haces de fibras musculares lisas separadas por tejido conectivo. Se describen tres capas, un estrato circular interno de fibras musculares, un estrato vascular de tejido conectivo rico en vasos sanguíneos y un estrato externo de músculo longitudinal. Los vasos ubicados en la capa vascular, irrigan el endometrio y son particularmente grandes en

las cercanías a las regiones carunculares (Claver y col., 1987; Dellmann and Brown, 1993; Hansel, 1959).

La capa más externa del útero es la serosa o perimetrio, compuesta por una capafina de tejido conjuntivo laxo, algunas fibras musculares lisas y un epitelio plano mesotelial el cual se continúa con el mesotelio peritoneal. A su vez, el perímetro se continúa hacia los lados con los ligamentos anchos uterinos (Claver y col., 1987). En la Figura 1 se muestra una representación esquemática de un corte histológicotransversal de útero bovino (Adaptado de (ConstantinandMeissonnier, 1981).Figura 1 Representación esquemática de un corte histológico transversal de útero bovino.

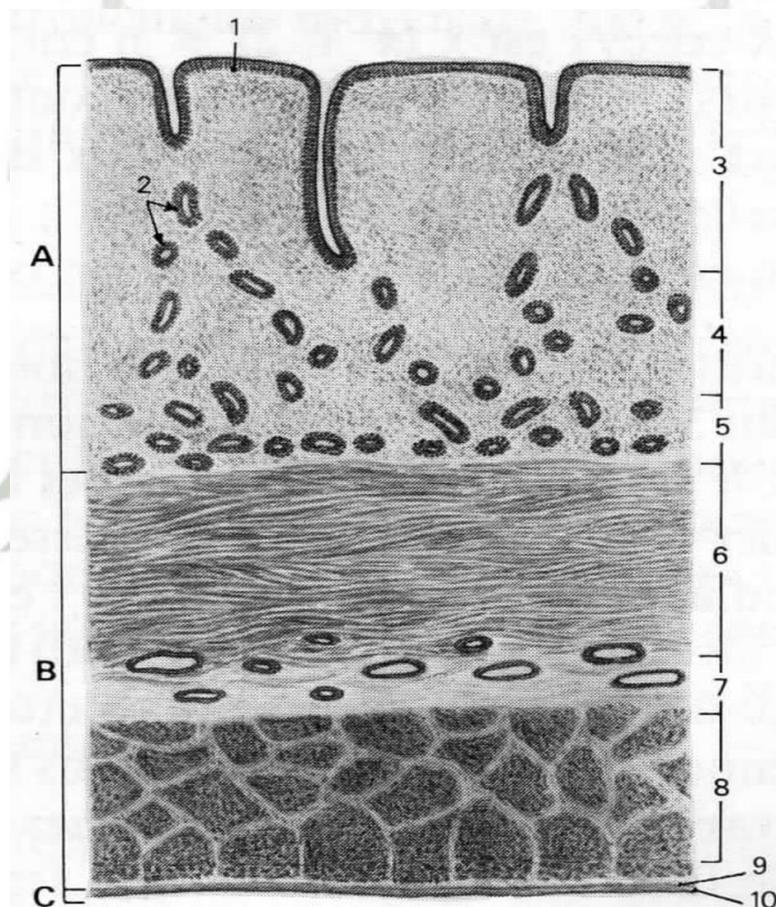


Figura 1. Representación esquemática de un corte histológico transversal de útero Bovino (Adaptado de Constantin and Meissonnier, 1981).

A. Endometrio

B. Miométrio

C. Perimetrio

- | | |
|---|---------------------------------|
| 1. Epitelio superficial | 6. Musculo circular interno |
| 2. Glándulas endometriales | 7. Capa vascular |
| 3. Estrato compacto | 8. Musculo longitudinal externo |
| 4. Estrato esponjoso o porción glandular intermedia | 9. Tejido conjuntivo laxo |
| 5. Porción glandular basal | 10. Mesotelio |

2.2 Biopsia uterina

Las BU fueron inicialmente utilizadas en 1960 como herramienta de investigación de infertilidad en yeguas (Chapwanya y col., 2010). La técnica permite la obtención de una muestra de la mucosa del útero para el examen histopatológico y ha sido utilizada principalmente en reproducción equina debido a que mediante ésta, se logra pronosticar la habilidad de la yegua para concebir y para llevar a término una nueva gestación (Kenney, 1978). Así como en la hembra equina, en la bovina, la BU también permite obtener mayor información acerca del estado del útero, para así poder así decidir mejor acerca del futuro reproductivo de la hembra (Perusia y col., 1998).

En varios estudios en los que se evaluaron BU tomadas de diferentes regiones del útero, se encontró una alta correlación general, en la que la clasificación inflamatoria de una biopsia de un cuerno, podía ser considerada como representativa de la situación del cuerno opuesto (Studer and Morrow, 1978a) (Cobb and Watson, 1995). Similares resultados se encontraron tras un estudio hecho con úteros provenientes de matadero, el que reveló una buena correlación de hallazgos entre secciones de los dos cuernos y del cuerpo del útero. La calificación inflamatoria de los dos cuernos resultó ser de alta concordancia ($P < 0.01$), indicando que una muestra del cuerpo del útero refleja la totalidad del endometrio (Studer and Morrow, 1980).

2.3 Cytobrush

La técnica de cytobrush (CB) se basa en la obtención de células a partir del endometrio, mediante un cepillado de la superficie interna del útero. El cytobrush (CB) ha demostrado ser la mejor técnica para la obtención de citologías uterinas en vacas para el diagnóstico de endometritis sub clínica (ES) (Kasimanickam y col., 2005).

Para la obtención de las muestras, se utilizan pistoletas de acero inoxidable, a las que se le adosan en su extremo anterior cepillos estériles comúnmente usados en ginecología humana. Todo esto es protegido mediante una vaina sanitaria plástica, para evitar la contaminación del cepillo con células del cuello y de la vagina. Si bien la técnica del Cytobrush (CB) ha demostrado ser consistente y eficaz para obtener muestras de las células del endometrio

y realizar el examen citológico postparto en vacas lecheras (Kasimanickam y col., 2005; Raab y col., 2003), la técnica original requiere utilizar una pistola estéril para realizar la muestra de cada vaca, lo que hace la técnica muy poco práctica para su uso fuera del ámbito científico. Por lo tanto, el desarrollo de una técnica que requiera equipamiento más simple y que sea de rápida realización a campo, tal vez permitiría extender el uso del citobrush (CB) a varios usos diagnósticos bajo condiciones de explotación comercial como pueden ser pre IA, pre transferencia embrionaria.

Diagnóstico de vacas repetidoras, etc. Idealmente, en el caso de los trastornos uterinos, no existe tal método, aunque se ha postulado que en el caso de las endometritis, el diagnóstico definitivo debería ser hecho en base al examen histológico de las biopsias endometriales (Sheldon y col., 2006). Por lo que precede, considero que la técnica de CB debe ser validada a través de su comparación con la biopsia endometrial. Existen informes que indican para la endometritis clínica (EC), una mayor correlación entre los hallazgos clínicos e histopatológicos que los observados entre la clínica y los aislamientos bacteriológicos. Como ejemplo se podría nombrar la presencia de fibrosis peri glandular, la cual permite emitir un pronóstico desfavorable, pese a que los resultados bacteriológicos hayan sido negativos. (Campero y col., 1992).

En el caso del diagnóstico de endometritis sub clínica (ES), la correlación entre la clínica, la bacteriología y las alteraciones histopatológicas no es sencilla. En parte porque los animales con ES no manifiestan ningún signo de trastorno local ni sistémico, y además debido a que no existe evidencia de asociación bacteriológica con la misma. La disminución de los índices reproductivos son la única manifestación externa de la endometritis sub clínica endometritis clínica (ES), por lo que mediante la medición de dichos índices, se debería también evaluar la técnica, para luego poder correlacionarlo con los hallazgos citológicos e histopatológicos logrados a través del Citobrush (CB) y de la biopsia endometrial.

La técnica de Citobrush (CB) permite lograr una muestra rápida y con morfología celular preservada para el diagnóstico de inflamación subclínica del endometrio.

2.4 Fisiología del puerperio

El puerperio es el periodo de tiempo que transcurre desde el parto hasta la completa involución uterina y la restauración de la capacidad reproductiva (MassimilianoElli, 2005).

Esta comprende: una involución uterina completa, la regeneración del endometrio, el retorno a la ciclicidad ovárica y la eliminación de la contaminación bacteriana del útero (Senger, 2003).

La restitución fisiológica y física del aparato reproductor del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, se consideran principales aspectos de la fisiología del puerperio que ocurren simultáneamente pero son independientes entre sí (Jainudeen y Hafez, 2002).

Después del parto, el útero retoma la forma, las dimensiones y la estructura que tenía antes de la gestación. El útero es de nuevo capaz de recibir un óvulo fecundado después de tres meses tras el parto (MassimilianoElli, 2005).

El puerperio termina cuando los cambios del útero permite una ovulación acompañada de celo y la formación de un cuerpo lúteo de duración normal (Senger, 2003).

2.4.1 Involución uterina

La regresión uterina comienza en los cuernos, después se extiende al cuerpo, para terminar en el cérvix, que regresa a sus características iniciales solo después de 40- 50 días desde el parto (MassimilianoElli, 2005).

Después del parto, el útero contiene las envolturas fetales junto con residuos de los líquidos fetales y de las células de origen trofoblástico y sanguíneo, las envolturas fetales son expulsadas en las 6 – 12 horas en el transcurso de la secundinización, pero el resto de elementos permanecen más tiempo en el útero, constituyendo los loquios (MassimilianoElli, 2005).

El útero debe contraerse hasta su tamaño normal, en la vaca el peso tisular del útero inmediatamente después del parto es casi de 10 kg y debe ser reducido a casi 0.7-0.8 kg cuando la involución es complementada (Kindahl et al.,1999) los primeros cambios se producen inmediatamente después del parto, el útero disminuye la mitad de su diámetro en 5 días y al mitad de su tamaño en 15 días asociada con esta fase de involución rápida esta la descarga de loquios (Noakes et al.,2001).

El momento más anticipado del término de la involución es casi 3 semanas cuando los cuernos uterinos pueden alcanzar un diámetro de 3-4 cm. Después de este tiempo los cambios son casi imperceptibles (Noakes et al., 2001. Sin embargo la involución no está completa hasta las 4-5 semanas posparto con un diámetro cervical menor de 5 cm. (Kindahl et al., 1999; Sheldon et al., 2006a).

La involución uterina retardada es un factor importante que limita la fertilidad en la vaca. La involución se retarda por enfermedades en el posparto, que incluyen hipocalcemia, retención de placenta e infecciones uterinas (endometritis y metritis) (Senger, 2003, Sheldon et al., 2004a), también puede haber retardo en vacas viejas y en partos gemelares. Quintinela et al. (2003) encontró una duración media de la involución uterina en hembras bovinas de 25.56 días.

La involución puede ser juzgada por palpación rectal (subjetiva) o por ecografía (objetiva) (Kindahl et al., 1999). Aunque el diagnóstico por palpación rectal es subjetivo, la técnica se ha utilizado por muchos años, y aun se considera como una técnica muy efectiva para hacer el seguimiento de involución uterina posparto y para reconocer estructuras ováricas en la vaca (Hanzen et al., 2000, Hujurka et al., 2005).

2.4.2. Regeneración del endometrio

Después del desprendimiento del alantocorion (8-12 horas pospartos) se inicia el proceso de necrosis de las carúnculas y la eliminación del tejido necrótico (Senger, 2003). El principal constituyente de los loquios proviene del desprendimiento de este tejido necrótico, lo que contribuye con la rápida reducción del tamaño del útero los primeros días posparto, porque las carúnculas constituyen la mitad de su peso (Shendolet *al.*, 2004a).

Los loquios son la secreción uterina que se representa durante la etapa del puerperio. Está conformado por moco, sangre, líquidos y restos de membranas fetales y de tejido materno (carúnculas) (Jainudeen y Hafez, 2002). La mayor cantidad de descarga ocurre los primeros 2-3 días, a los 8 días está reducida y ha desaparecido a los 14-18 días pospartos 8 (Arthur *et al.*, 2001). Esta descarga uterina en el curso de la involución cambia, desde un fluido rojizo-marrón a un material amarillo-blancuzco más viscoso (Sheldonet *al.*, 2006).

Después de 10 días del parto la mayor parte del tejido necrótico de las carúnculas se han desprendido y a los 15 días el desprendimiento es completo (Sheldonet *al.*, 2004). La revitalización de las carúnculas se completa a los 25 días. Mientras estos cambios ocurren las carúnculas se vuelven más pequeñas y a los 40 o 60 días solo miden 4 a 8 mm de diámetro y de 4 a 6 mm de ancho, comparadas con los 40 a 70 mm de diámetro y 25 mm de alto durante la preñez (Noakeset *al.* , 2001).

La regeneración del endometrio se inicia inmediatamente después del parto y se completa antes en áreas intercarunculares que no han sido seriamente dañadas y se requiere más tiempo para regenerar las áreas carunculares en el cuerno que ha estado grávido que en el que no lo estuvo (Jainudeen y Hafez, 2002). La regeneración epitelial está completa alrededor de los 25 días posparto, pero las capas más profundas de tejido no están completamente restauradas hasta 6 o 8 semanas pospartos (Shendoletal. 2004a).

2.4.3. Reanudación de la actividad ovárica

La reanudación precoz de la actividad ovárica y la continuación de los ciclos estruales es el prelude de una buena fertilidad tras el parto (MassimilianoElli, 2005).

La primera ovulación posparto es el signo de que se ha superado el bloque producido por la preñez previa, si se produce ovulación se formara un cuerpo lúteo lo que anuncia el retorno de la ciclicidad ovárica (JainudeenyHafez, 2002). El bloqueo se debe a los niveles elevados de progesterona durante la gestación que producen una continua retroalimentación negativa sobre la hipófisis determinado que sea refractaria a GnRH después del parto, lo que se revierte con el tiempo (Noakes *et al.*, 2001).

La emergencia periódica de ondas foliculares anovulatorias, durante la preñez ocurre en respuesta a ondas de FSH, excepto por los últimos 21 días de preñez debido a la alta concentración de progesterona y estrógeno en la sangre (Sheldon., et al 2004). Después del parto la concentración de las hormonas esteroides desciende a niveles basales. Debido a la liberación esporádica y progresiva de GnRH se produce un incremento en la concentración del FSH plasmático, conforme la involución uterina progresa (Noakes *et al.*, 2001). Esto es seguido por la emergencia de varios folículos con diámetro mayor de 4 mm, con la consiguiente selección de un folículo dominante y atresia de los subordinados (Ball y Peters, 2004).

El primer folículo es seleccionado alrededor del día 10-12 posparto. Este evento ocurre en todas las vacas independientes de enfermedad uterina, deficiencia nutricionales y ambientales (Adams *et al.*, 2008). Sin embargo el primer folículo dominante tiene tres posibles destinos: ovulación y formación del primer cuerpo lúteo (retorno a la ciclicidad ovárica), atresia con la emergencia de una o más ondas foliculares sin ovulación (anestro) o la formación de un quiste ovárico. El folículo más grande del grupo adquirirá receptores de LH en las células granulosas resultando en un continuo crecimiento, mientras que los folículos subordinados regresionarán (Ball y Peters, 2004).

El folículo dominante puede ovular tan pronto como a los 10-15 días después del parto, esta ovulación ocurre en un momento cuando el útero no está listo para una nueva concepción (Kindahlet *al.*, 1999). El factor principal que determina el destino de los folículos dominantes es la frecuencia de pulso de LH, la ovulación generalmente ocurre cuando la frecuencia de pulso LH es uno por hora. Por lo tanto, factores que suprimen la frecuencia de pulso en el periodo posparto pueden retardar el retorno a la ciclicidad ovárica. El principal factores que causa anestro en vacas lecheras es el balance energético negativo (Ball y Peters, 2004).

El útero también tiene efectos específicos sobre la actividad ovárica posparto. Los folículos dominantes tienen menos probabilidad de ser seleccionados en el ovario ipsilateral al cuerno previamente grávido, pero si son seleccionados, el intervalo parto concepción se reduce (Shendonet *al.*, 2000). La contaminación uterina después del parto es inevitable y un alto nivel de contaminación puede deprimir la selección folicular, el efecto es mayor en el cuerno uterino previamente grávido (Sheldonet *al.*, 2002)

2.4.4. Contaminación Bacteriana

El lumen uterino se encuentra estéril antes del parto, pero durante y después del parto, las barreras físicas de la cérvix vagina y vulva son comprometidas proporcionando la oportunidad para que las bacterias ascienden al tracto genital provenientes del ambiente, de la piel del animal y de las heces (Sheldon y Dodson, 2004; Foldiet *al.*, 2006). Esta contaminación se produce en el 90% de las vacas y la mayoría de las bacterias contaminantes son removidas normalmente por diversos mecanismos de defensa del útero (Senger, 2003).

Aunque la sangre, restos de tejido caruncular y debris celulares proveen un medio ideal para el crecimiento bacteriano, las bacterias que contaminan el útero no producen enfermedad uterina necesariamente (Konigssonet *al.*, 2002). Que la contaminación se convierta en infección depende de la virulencia de los microorganismos de la condición del útero y de sus mecanismos de defensa (Sheldonet *al.*, 2006a).

La infección que se produce en el útero después del parto es inespecífica porque el inicio de la colonización bacteriana y los signos de la infección causados por bacterias específicas no se conocen (Lewis, 1997), la infección implica adherencia de microorganismos patógenos a la mucosa, colonización o penetración del epitelio y/o liberación de toxinas bacterianas que conducen al establecimiento de enfermedad uterina (Azawi, 2008).

Una vaca con un posparto normal resuelve la infección uterina mediante la descarga del contenido uterino y movilización de las defensas naturales, incluyendo moco, anticuerpos y células fagocíticas (Hussain y Daniel, 1992). El principal mecanismo involucrado en la eliminación de bacterias es la fagocitosis por leucocitos migrantes, en este sentido el retorno temprano a la ciclicidad ovárica es importante porque el ambiente uterino dominado por estrógeno es más resistente a la infección debido a que los niveles elevados de estradiol promueven la leucocitosis en el útero y en general en el tracto reproductivo (Sheldon *et al.*, 2006a).

La presencia de bacterias patógenas en el útero causa inflamación, lesiones histológicas del endometrio y retraso de la involución uterina y puede ser lo suficientemente grave como para sobrepasar los mecanismos de defensa uterina y provocar una infección que ponga en riesgo la vida del animal.

(Sheldon y Dobson, 2004). Además la infección, bacteriana uterina, los productos bacterianos o la inflamación asociada, afectan la secreción de LH por la hipófisis y alteran el desarrollo folicular ovárico posparto, alterando la ovulación en los bovinos (Azawi, 2008).

En el 90% de las vacas se produce desde una leve a severa endometritis durante la segunda y cuarta semana posparto (Leblanc *et al.*, 2002a). Esta endometritis es considerada no patológica y parece ser característica de la involución uterina normal (Lewis, 1997). La resolución de la inflamación se produce en el transcurso del tiempo, siendo restaurado en vacas normales dentro de los 40 – 60 días después del parto (Azawi, 2008).

2.4.5 Bacterias Contaminantes del Útero

En los animales vivos, existe una flora microbiana fluctuante en el útero en las primeras 7 semanas posparto debido a la contaminación espontánea, limpieza y recontaminación (Sheldon *et al.*, 2004a). Una variedad de especies bacterianas, gramnegativas y grampositivas, aerobias y anaerobias, la mayoría de estas contaminantes ambientales pueden ser aisladas y son eliminadas gradualmente del útero en este periodo (Azawi, 2008).

Una gran variedad de bacterias puede ser aisladas de todas las vacas durante los primeros 10-14 días posparto. La incidencia y especies de bacterias decrecen gradualmente conforme avanzan los días, así la presencia de bacterias es esporádica a los 20-35 días posparto y la cavidad uterina debe retornar a la esterilidad después de eso, aproximadamente a las 4 semanas el útero debe estar estéril en vacas normales (Foldiet *et al.*, 2006; Risco *et al.*, 2007).

En los primeros 10 días después del parto se aislaron mayormente (*Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. y *Bacillus* spp. Del útero de vacas sin signos clínicos visibles. Mientras que *Archanobacterium pyogenes*, *Prevotella melaninogenica*, *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum* y *Bacteroides* spp. Fueron aisladas de vacas clínicamente enfermas y se les asocia usualmente con la infección uterina en bovinos (Kindahl *et al.*, 1999; Sheldon y Dobson, 2004).

2.5 Mecanismos de defensa uterina

Los mecanismos de defensa del útero contra los microorganismos contaminantes son mantenidos de varias maneras; anatómicamente, por el epitelio columnar pseudoestratificado o simple que cubre el endometrio y las barreras anatómicas que son la vulva, el vestíbulo y la cervix; químicamente, a través de las secreciones de moco de las glándulas endometriales, e inmunológicamente por medio de la acción de las células inflamatorias polimorfonucleares y los anticuerpos humorales (Sheldon y Dobson, 2004).

Tanto las barreras anatómicas y funcionales, así como la respuesta inmune específica y no específica son elementos fundamentales del mecanismo de defensa contra la invasión de microorganismos ambientales del tracto reproductivo de la vaca (Bondurand, 1999; Foldiet *al.*, 2006). Cualquier alteración de estos mecanismos de defensa permite a los patógenos oportunistas, mayormente microorganismos del tracto gastrointestinal posterior y que se encuentran alrededor del área perineal colonizador el endometrio y causar enfermedad uterina (Dhaliwalet *al.*, 2001).

Las principales barreras anatómicas entre el ambiente contaminado y el ambiente estéril del útero son la vulva, el esfínter vestibular y la cérvix. La vulva puede parecer de poca importancia como barrera de defensa, pero cumple una función muy importante evitando la contaminación fecal del tracto genital interno (Risco *et al.*, 2007), así también los anillos de la cérvix proporcionan una eficiente barrera que evita el ingreso de los microorganismos a las porciones más profundas del tracto reproductivo (Sheldon y Dobson, 2004). Las capas longitudinales y circulares de musculatura uterina proporcionan una propulsión física del contenido uterino, incluyendo a los microorganismos (Heranthe *al.*, 2006).

Los mecanismos de defensa inmunológicos están conformados por la respuesta celular cuya barrera fagocítica principal es proporcionada por la invasión de neutrófilos en respuesta al desafío bacteriano, y la respuesta humoral, es decir la protección proporcionada por los anticuerpos, pero el grado de interacción entre estas dos respuestas no es claro (Dhaliwal *et al.*, 2001). Las barreras inflamatorias incluyen las moléculas no específicas de defensa tales como la lactoferrina, defensinas y las proteínas de fase aguda (Sheldon y Dobson, 2004).

En la respuesta celular también intervienen monocitos sanguíneos y macrófagos tisulares, su función principal es la de fagocitosis, Alrededor de 48 horas después de un parto normal los leucocitos se encuentran acumulados en el lumen uterino juntamente con las bacterias, esto marca el inicio de un proceso de limpieza y de involución normal en el útero (Dhaliwalet *al.*, 2001).

En la respuesta humoral intervienen las inmunoglobulinas A, G, M, y su rol protector ha sido ampliamente documentado (Herath et al., 2006). Después de la inoculación experimental de patógenos conocidos las inmunoglobulinas aparecen las secreciones cervicales y vaginales en el orden IgM, IgA e IgG y desaparecen en el orden: IgM, IgG e IgA. IgG predomina en el lumen uterino e IgA en la vagina. Los resultados de algunos estudios muestran que las concentraciones de IgG son más altas durante el estro (Dhaliwal et al., 2001).

Las células epiteliales del útero también juegan un papel importante en la defensa uterina al ser las primeras en hacer contacto con los potenciales patógenos que invaden este órgano (Wiraet al., 2005). Se sabe que las interacciones que se producen entre las células epiteliales y del estroma son críticamente importantes para la función endometrial (Wiraet al., 2005) y que estas células detectan y responden a las bacterias, lo cual afecta su función endocrina (herathet al., 2006).

Las células epiteliales lumbales y glandulares del endometrio producen numerosas citoquinas (Wiraet al., 2005). Estas citoquinas son reconocidas como los componentes principales de la comunicación entre células en el útero, que tienen patrones de liberación durante el ciclo estral y podrían estar reguladas por las hormonas sexuales (Robertson, 2000). La liberación de citoquinas por el endometrio y las células del estroma producen el incremento de las secreciones del PGF₂ a y PGE₂. Además las células epiteliales uterinas producen un espectro de antimicrobianos que incluyen lactoferrina, isoenzimas y complemento, que entran al lumen uterino junto con las inmunoglobulinas (Azawi, 2008).

La PGF₂a, que es considerada un molécula proinflamatoria, podría estimular la producción de citoquinas proinflamatorias que mejoran la función de los linfocitos y la fagocitosis (Kelly et al., 2001). Cuando se administra PGF₂a exógena y a esto sigue un incremento uterino de PGF₂a, probablemente se eleva la producción de fosfolipasa A₂ lo que incrementaría la cantidad de ácido araquidónico libre que sería utilizado en la producción de productos de la lipoxigenasa (leucotrienoB₄) y cicloxigenasa (PGF₂ y PGE) (Hoedemaker et al., 1992, Kelly et al., 2001).

La inoculación de bacterias en el útero incrementa las concentraciones de PGF_{2a} en cualquier etapa del ciclo estral y también en vacas después del parto. Este incremento en las secreciones uterinas sería un componente importante del mecanismo de defensa del útero (Azawi, 2008) la PGF_{2a} mejora la quimiotaxis de neutrófilos y su capacidad de fagocitosis, el leucotrieno B₄ mejora la quimiotaxis, la migración al azar y la citotoxicidad independiente mediada por células (Hoedemaker *et al.*, 1992, Kelly *et al.*, 2001).

2.6 Patogenia de endometritis

Esta infección se da por una gran variedad de bacterias aeróbicas y anaeróbicas, entre otros microorganismos, siendo los más comunes *Escherichiacoli*, *Arcanobacte rpyogenes*, *Corynebacterium bovis*, *Pseudomona spp.*, *Clostridium perfringens*, *Fusubacterium necrophorum*, *Bacterioides melaninogenicus*, *Prevotellaspp.*, *Streptococcus spp.*, *Klebsiellaspp.*, *Proteusspp.*, *Staphilococcus epidermidis*, *Micrococcus spp.*, y *Herpesvirus bovino tipo 4* (LeBlanc y col., 2002; Kasimanickam y col., 2004; Alba Gómez 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).

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 Földi y col. (2006).

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).

2.7 Efectos de las enfermedades uterinas sobre el desempeño reproductivo

Las enfermedades uterinas están asociadas con una baja tasa de concepción, incremento de los intervalos parto al primer servicio y más bovinos descartados por fracaso en concebir (Azawi, 2008). No solo reducen la eficiencia reproductiva sino que también tienen impacto en la rentabilidad de un hato lechero porque estas enfermedades elevan los costos de medicinas y frecuentemente reduce el consumo de alimento causando una disminución de la producción lechera (Lewis, 1997; Bell y Roberts, 2007).

Estos problemas en el desempeño reproductivo se explican por qué las infecciones uterinas afectan el útero, ovario, y también el eje hipotálamo hipófisis- ovario (SheldonDobson, 2004; Herath et al., 2006). La infección causa daño al tejido uterino lo que causa incremento de la inflamación en el estrato compacto, presumiblemente este daño estructural al endometrio evita el establecimiento de la preñez e interrumpe el mecanismo de luteólisis que causa la prolongación de la fase luteal después del parto (Opsomer et al 2000).

También existe un efecto directo de la infección uterina sobre el eje hipotálamo-hipofisis-ovario. En el ganado se ha demostrado una relación entre la infección y la ovulación retardada (Opsomer et al., 2000), además que son pocas vacas con endometritis las que ovulan el primer folículo dominante posparto (Herath et al., 2006). Se ha observado además que el primer folículo dominante después del parto tiene una tasa más lenta de crecimiento y secreta menos estradiol cuando existe gran contaminación en el útero después del parto (Sheldon et al., 2006) y el cuerpo lúteo que forma es de mejor tamaño. Y produce menos progesterona. (Williamsetal., 2007).

Otro indicador de que las infecciones uterinas afectan directamente el ovario en los bovinos es la distribución desigual del crecimiento folicular postparto. En el ovario contralateral al cuerno previamente grávido desarrollan más folículos dominantes que en el ovario ipsilateral (Sheldon et al., 2000). Esto podría deberse a que la vasculatura venosa incrementada del útero previamente grávido lleva más productos bacterianos o moléculas pro inflamatorias al ovario ipsilateral (Herath et al., 2006).

2.8 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-PGF₂ α 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 (*cytobrushy* 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 vaginoscopia, 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 descritas 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 histopatología.

El empleo de la citología endometrial consiste en la recolección de células del endometrio a través de dos técnicas diferentes: cepillado o *cytobrushy* 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.

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)

2.9 CURVA DE ROC

La toma de decisiones clínicas es un proceso extremadamente complejo en el que deberá finalmente ser valorada la utilidad para el manejo del paciente de cualquier prueba diagnóstica. En este contexto, es imprescindible conocer detalladamente la exactitud de las distintas pruebas diagnósticas, es decir, su capacidad para clasificar correctamente a los pacientes en categorías o estados en relación con la enfermedad (típicamente dos: estar o no estar enfermo, respuesta positiva o negativa a la terapia).

Sensibilidad y Especificidad

La exactitud diagnóstica se expresa como sensibilidad y especificidad diagnósticas, la **sensibilidad** es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo cuyo estado real sea el definido como **positivo** respecto a la condición que estudia la prueba, La **especificidad** es la probabilidad de clasificar Correctamente a un individuo cuyo estado real sea el definido como **negativo**.

Lo que realmente obtenemos son *estimaciones* de los verdaderos valores de sensibilidad y especificidad para una población teórica de la que suponemos que nuestro grupo de pacientes constituye una muestra aleatoria (López de Ullibarri Galparsoro I, Pita Fernandez, S., 1998)

EFICIENCIA REPRODUCTIVA

Tasa de preñez (TP):

- La TASA de PREÑEZ es el porcentaje de vacas que preñan cada 21 días, del total de vacas aptas (“elegibles”) para preñar en esos 21 días.

- Es un parámetro que mide eficientemente la preñez de las vacas.
- Mide dinámicamente (y no históricamente) la eficiencia reproductiva del hato puesto que se evalúa cada 21 días.
- Refleja rápidamente los cambios que se realizan en el programa de reproducción, de manera que es posible hacer correcciones sobre la marcha y ver sus resultados inmediatos.
- Toma en cuenta a todas las vacas en tiempo de servicio, que han sobrepasado el período voluntario de espera.
- Una buena tasa de preñez es 25%, siendo 35% lo óptimo.

Tasa de preñez = (TDC x TC)

TDC: Tasa de detección de celos

TC: tasa de concepción

a) Tasa de detección de celos (TDC):

Es el porcentaje de las vacas elegibles (aptas) que son inseminadas cada 21 días.

El Dr. Allen Young, especialista en extensión lechera de los EEUU utiliza 2 fórmulas para calcular la tasa de detección de celos:

1. $TDC = (SPC \times 21) / ((DA - PVE) + 10.5)$
2. $TDC = (SPC \times 21) / ((DA - DPS) + 21.0)$

En ambas fórmulas,

- TDC = tasa de detección de celos
- SPC = servicios por concepción
- DA = Días abiertos (intervalo parto-concepción)
- PVE = Período voluntario de espera
- DPS = Días al primer servicio.

Servicios por concepción:

Los servicios por concepción son las inseminaciones que se necesitaron para preñar a una vaca, a un grupo de vacas o a todas las vacas que preñaron, pero solamente las que preñaron. Los servicios por concepción es un indicador del éxito del programa de inseminación artificial.

- **Días abiertos:**

Comúnmente se consideran como días abiertos los días transcurridos desde el parto hasta la siguiente preñez, que, en este caso vendría a ser el “intervalo parto-concepción”. Si se apunta a un intervalo entre partos de 13.6 meses, los días abiertos (intervalo parto-concepción) no deben sobrepasar de 134 a 135, en promedio.

- **Periodo voluntario de Espera (PVE)**

Es el periodo que no debe realizarse la inseminación artificial a las vacas aptos legibles, puede variar de 50 – 70 días pos parto.

- **Días al primer servicio:**

Como su nombre lo indica, los días al primer servicio son los días transcurridos entre el parto de la vaca y su primera inseminación o servicio. El índice *días al primer servicio* está grandemente influenciado por el período voluntario de espera (PVE) de cada hato, de modo que no es un índice “universal”.

Cálculo de la tasa de detección de celos:

Al 15 de marzo de 2010, las 302 vacas preñadas que había ese día en El Olivar insumieron **1.84 servicios por concepción** y, en promedio, tuvieron **125.05 días abiertos** (intervalo parto-concepción) y **85.59 días promedio al primer servicio**. En El Olivar el **período voluntario de espera es de 70 días**.

Resumiendo:

$$\text{SPC} = 1.84$$

$$\text{DA} = 125.05$$

$$\text{PVE} = 70$$

$$\text{DPS} = 85.59$$

$$\text{Cálculo 1: TDC} = (1.84 \times 21) / ((125.05 - 70) + 10.5) = 0.5895 = \mathbf{58.95\%}$$

$$\text{Cálculo 2: TDC} = (1.84 \times 21) / ((125.05 - 85.59) + 21.0) = 0.6391 = \mathbf{63.91\%}$$

La tasa de detección de celos real (63.91%) resulta ser ligeramente mayor que la calculada (58.95%). Significa que algunas vacas fueron inseminadas antes de los 70 días del PVE.

b) Tasa de concepción (TC):

La tasa de concepción es el porcentaje de vacas que quedan preñadas después del servicio.

La Tasa de Concepción (TC) puede ser afectada por muchos factores, tales como, nutrición, sanidad, temperatura, tiempo de inseminación, enfermedades, etc. Usualmente cuando hay un problema de tasa de concepción resulta muy evidente en los registros. La meta es mantener una tasa de concepción de 50% o mejor.

Cálculo de la tasa de concepción es muy fácil: es la inversa de los servicios por concepción, esto es, **TC = (1/SPC) x 100**.

$$TC = (1/1.84) \times 100 = 54.35\%$$

(Olivera, 2010)

3.- Análisis de antecedentes investigativos

3.1 Prevalencia de endometritis subclínica utilizando el citobrush como método de diagnóstico citológico endometrial, en vacas (Bostauros) de la raza Holstein de producción láctea, en la irrigación de san Isidro la joya, departamento de Arequipa 2011. Yuri Juan Miguel Rodríguez Días, tesis PPMVZ – UCSM.

Los datos que se presentan es este estudio, proceden del muestreo citológico endometrial de 40 vacas lecheras de la raza Holstein. El objetivo ha sido evaluar mediante la técnica del Cytobrush la endometritis subclínica en vacas, a los 42 días postparto (DPP) y a los 63 DPP. El instrumento utilizado fue la aplicación de la técnica del Cytobrush, que permite obtener una muestra que mediante la coloración de la muestra obtenida con tinción Wright se puede observar al microscopio, para determinar el porcentaje de neutrófilos presentes en la muestra y pueden brindar información sobre el nivel de inflamación en el que se encuentra el endometrio. El porcentaje de neutrófilos de más de 10 % en las muestras obtenidas a los 42 DPP, son resultado positivo a la endometritis subclínica, mediante el porcentaje de neutrófilos de más del 5% en muestras obtenidas a los 63 DPP, indica el resultado positivo a endometritis subclínica.

Este protocolo fue aplicado a todas las vacas utilizadas para este trabajo. Cuyo resultado del muestreo fue que la prevalencia de endometritis subclínica en vacas lecheras de la raza Holstein muestreadas a los 42 DPP es de 17.5%, la prevalencia de endometritis subclínica en vacas lecheras de la raza Holstein muestreados a los 63 DPP es de 7.5 %, la prevalencia de endometritis subclínicas en vacas con un solo parto a los 42 DPP es de 0%, la prevalencia de endometritis subclínica en vacas con un solo parto a los 63 DPP es de 0%.

3.2 Prevalencia de endometritis clínica y subclínica en vacas lecheras en posparto en un sistema intensivo estabulado 2010. Rinaudo, Agustín, Bernardi, Sandra Fabiana, y Marini, Pablo Roberto. Facultad de Ciencias Veterinarias - UNR. Ovidio Lagos y Ruta 33 (2170) Casilda.

Los vacas cuyos frotis endometriales obtuvieron % de PMN $N \geq 5$, fueron diagnosticadas como positivas a Endometritis subclínica ES, independientemente del período posparto en que fueron muestreadas.

El 49 % de las vacas observadas independientemente del momento presentaron algún grado de inflamación uterina ya sea clínica como subclínica. Entre los 21-33 DEL el 58,5 % de las vacas poseen EC y ES, siendo los animales con EC (55,4%) los que representan el 94,7% del total de endometritis.

Entre los 34-46 DEL el 32,5% de las vacas poseen EC y ES, disminuyendo la EC a un 25,0% y la ES aumentando a un 7,5%, sin embargo, aún la EC representa el 76,9% de ambas endometritis.

En el período entre los 47-56 DEL el 50,4% de las vacas poseen EC y ES, disminuyendo la EC a un 18,8% y aumentando la ES a un 31,6%, invirtiendo la representación de las endometritis totales con supremacía de las ES (63,1%).

Por lo expuesto se puede observar que el comportamiento es diferente de la EC y ES según los DEL. Existe un marcado descenso del porcentaje de vacas con EC a medida que avanzan los DEL, por el contrario se observa un comportamiento inverso de la ES.

Las vacas sanas mostraron mayor estabilidad presentándose entre el 50 y 68 % en todo el período estudiado.

3.3 Diagnóstico de endometritis subclínica en vacas Holando argentino entre los días 40 al 70 posparto 2012, Ortega Manuel María; Marro Omar; Dra. Catena María.

En este trabajo se propone: -determinar el porcentaje de PMN en el cuerpo del útero de 110 vacas con flujo normal entre los 40 a 70 dpp por el método de cytobrush para coleccionar material celular de la superficie del endometrio, - identificar el porcentaje de vacas con endometritis subclínica, -relacionar las características macroscópicas del flujo (cantidad y viscosidad) con la presencia de endometritis, -determinar la población microbiana, mediante coloración de gram, -observar la asociación entre la presencia de endometritis subclínica y la población microbiana, la condición corporal.-Del total de hembras analizadas 34 vacas (31%) presentaron endometritis subclínica: 6 tuvieron un conteo $>10\%$ (40 – 47 dpp); y 28 animales $\geq 5\%$ (48 dpp en adelante). La condición corporal fue en promedio 3.18 y la mediana 3,25. El flujo uterino fue en su mayoría intermedio (36.35%) del score de cantidad (escaso, intermedio o abundante) y normal (88.2%) del score de viscosidad (liquido, normal o espeso). La población bacteriana predominante fue de bacilos gram positivos, y en algunos casos monoflora. Con los resultados obtenidos no se evidenció asociación entre endometritis subclínica y la condición corporal, ni con las características del flujo. Las diferencia en los conteos de bacterias por campo entre las vacas con y sin endometritis fue estadísticamente significativa ($p<.0001$).

3.4 Endometritis subclínica en vacas lecheras: diagnóstico, tratamiento e incidencia productiva y reproductiva 2012, Agustín Rinaudo.

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 %). ($p < 0,05$).

3.5 Endometritis subclínica en vacas de tambo: diagnóstico, prevalencia e impacto sobre la eficiencia reproductiva 2012, Madoz, Laura Vania, Tesis Doctorado.

Los principales resultados obtenidos en esta tesis fueron que se validó por primera vez en nuestro país la técnica del Cytobrush (CB) para realizar el diagnóstico de endometritis subclínica (ES), y se determinaron los puntos de corte del porcentaje de PMN para diagnosticar a campo la prevalencia de ES. Durante el ciclo estral, el porcentaje de PMN nunca superó el 2% de PMN, mientras que con porcentajes de PMN superiores al 8%, 6%, 4% y 5% a los 21-33, 34 a 47, 48 a 62 y 21 a 62 dpp se comienza a observar una disminución de la eficiencia reproductiva. Este ha sido el primer trabajo en nuestro país en demostrar que las vacas con ES tuvieron 16,2% de reducción en la tasa de concepción al primer servicio, 16,8% de reducción en la cantidad de vacas preñadas a los 100 días de lactancia y 29 días de aumento de días abiertos comparado con vacas sin ES. Otro hallazgo importante de este trabajo fue que no existe relación entre ES y aislamiento bacteriano.

4.- Objetivos

- 4.1 Determinar la prevalencia de endometritis subclínica (ES) en vacas lecheras de la Irrigación de Majes.
- 4.2 Determinar el punto de corte de Polimorfo Nucleares – Neutrófilos (PMN-N) con la técnica de Cytobrush (CB) para el diagnóstico endometritis subclínica.
- 4.3 Determinar el impacto de la endometritis subclínica (ES) sobre la performance productiva y reproductiva en vacas lecheras en establos de la Irrigación de Majes.

5.- Hipótesis

Dado que: La presencia de Polimorfos Nucleares Neutrófilos determinan el proceso inflamatorio endometrial subclínica y afectan sobre la performance productiva en vacas lecheras de establos de la Irrigación de Majes, es probable que:

Se pueda determinar el punto de corte en el conteo de Polimorfos Nucleares Neutrófilos que determinen mediante la citología endometrial el diagnóstico positivo para la endometritis subclínica.

III.- PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. Técnicas e instrumentos de verificación

1.1. Técnicas

Para la recolección de datos se utilizará la técnica de observación de campo y de registros; para la determinación de la eficiencia reproductiva se utilizara la técnica de cálculo, análisis y síntesis descrita por (Rinaudo, 2012. Olivera 2010).

VARIABLE	INDICADORES	TÉCNICAS	INSTRUMENTO
<u>Variable Independiente</u>	Número de partos	Observación	Ficha de observación del hato lechera
% de Poliformo nucleares - neutrófilos (PMN-N)	Días en leche (DEL)	Observación	- Ficha de observación del hato lechera - Cálculo de la formula
<u>Variable Dependiente</u>	- Poliformo nucleares – neutrófilos - Tasa de preñez	- Estimación con la fórmula de punto de corte de PMN - ecuación de la tasa de preñez.	Ecuación de cálculo

1.2. Procedimiento

Población de vacunos en el sistema

Se realizará una RECOPIACIÓN de información de la población de vacunos en base a la información proporcionada por la dirección de desarrollo rural de la Autodema) así como de la Dirección Regional Agraria de Arequipa y estudios previos relacionados a esta investigación. Esta información será sistematizada y permitirá conocer la población de vacunos diferenciada por tipo de sistemas de manejo (intensivo y semi –intensivo) y composición del hato (categorización). En términos de animales en producción, seca o crecimiento.

El punto de corte del porcentaje de PMN será obtenido mediante el análisis de la curva ROC (Dohoo y col., 2003) utilizando el paquete estadístico y de gráficos SAS y SPSS.

Se graficará la sensibilidad y la especificidad para cada porcentaje de PMN posible en un curva ROC con la mediana de 100 días de IPC (días de vaca vacía) para la población en estudio.

Los intervalos de DPP para los que se realizará el análisis de la curva ROC serán los intervalos de 21-33, de 34-47, de 48-62 y de 21-62 DPP.

El análisis estadístico de los datos se realizará con el paquete estadístico de SAS9.1 (Cary, 1990). Los modelos se construirán mediante la técnica de eliminación manual paso a paso. El valor de P de $<0,15$ será utilizado como criterio de inclusión, y el valor de $P>0,15$ será utilizado como criterio de exclusión.

Para verificar la asunción de proporcionalidad del riesgo de preñez de las vacas con y sin ES, los datos serán estratificados mediante la variable ES, y una función de sobrevivencia de Kaplan-Meierserá estimada para cada grupo con el procedimiento LIFETEST de SAS (Allison, 1995). Los estimadores de la función de sobrevivencia de

Kaplan-Meier serán utilizadas para calcular las medianas del IPC y para graficar una función de empalme suave (spline) con el paquete estadístico y de gráficos.

Diagnóstico de Endometritis Subclínica. Técnica del cepillado con cytobrush

Se comenzará con una palpación transrectal de los órganos genitales internos (ovarios, cuernos, cuerpo y cuello del útero) de la vaca, utilizando el brazo izquierdo enguantado y lubricado con vaselina líquida. Al mismo tiempo, dirigido mediante el brazo derecho, se introducirá 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 hará una rosca especialmente diseñada para este fin. Para proteger la pistola de la contaminación vaginal, la misma será cubierta con una funda descartable, para hacerla pasar 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, se realizará la presión del mandril, se expondrá el cepillo de la funda y se girará 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 retraerá el cepillo dentro de la funda y se retirará del útero y vagina la pistola de inseminación.

Una vez fuera del animal, se descarta la funda, se expondrá nuevamente el cepillo y se rodará suavemente sobre un portaobjetos limpio, desengrasado y debidamente rotulado con el número de arete correspondiente al animal y la fecha de toma de la muestras. Inmediatamente los froticessarán rociados con un spray fijador celular (Biopur). Resguardarlos del polvo y así poder trasladarlos y almacenarlos en cajas transportadoras, con una capacidad para 50

portaobjetos, hasta el laboratorio donde se coloreará utilizando una tinción comercial (Diff Quick).

Tinción:

Método: Diff Quick

Es un colorante de inmersión, por lo que cada componente deberá prepararse en un frasco de Coplin o cualquier otro recipiente para tinción de este tipo, se sigue el procedimiento:

1. Se sumerge la lámina en una solución fijadora por 5 veces (5 inmersiones de un segundo cada una). Se deja escurrir el fijador.
2. Se sumerge la laminilla en la solución I por 5 veces (5 inmersiones de 1 segundo cada una). Se deja que escurra el exceso de colorante.
3. Se sumerge la laminilla en la solución II por 5 veces (5 inmersiones de 1 segundo cada una). Se deja que escurra el exceso de colorante.
4. Se enjuaga la laminilla con agua destilada o des ionizada.
5. Se deja secar y se examina.

NOTA:

- Cuando se desea una tinción total más intensa se aumenta el número de inmersiones en las soluciones I y II.
- Si se desea una tinción más pálida, se disminuye el número de inmersiones en las soluciones I y II pero nunca a menos de 3 inmersiones de un segundo cada una.
- Para aumentar la tinción eosinófila se aumenta el número de inmersiones en la solución I.
- Para aumentar la tinción basófila se aumenta el número de inmersiones en solución II.
- Las soluciones deberán renovarse cada semana.

Las preparaciones citológicas logradas se observarán y analizarán con un microscopio binocular a un aumento de 400X y contando un mínimo de 200 células totales (células epiteliales y células inflamatorias), a partir de las cuales se determinará la proporción de

células inflamatorias (polimorfo nucleares neutrófilos.). Para determinar el grado de inflamación de la mucosa uterina, se calculará el porcentaje de polimorfo nucleares neutrófilos (% PMN-N), mediante la siguiente fórmula:

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

Dónde:

% PMN N: Porcentaje de polimorfo nucleares Neutrófilos

n PMN N: Cantidad de Polimorfo nucleares Neutrófilos presentes en la preparación .

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

Eficiencia reproductiva

Se determinará mediante la tasa de preñez:

a) Tasa de preñez:

Se obtiene multiplicando la tasa de detección de celos por la tasa de concepción expresada en porcentaje

Tasa de preñez = (TDC x TC)

TDC: Tasa de detección de celos

TC: tasa de concepción

b) Tasa de detección de celos (TDC):

Se determinará mediante la Ecuación de Allen Young, (Olivera, 2011)

TDC = (SPC x 21) / ((DA – PVE) + 10.5))

En ambas fórmulas:

- TDC = tasa de detección de celos
- SPC = servicios por concepción
- DA = Días abiertos (intervalo parto-concepción)
- PVE = Período voluntario de espera

1.4. Materiales y equipos.

- Microscopio binocular.
- Láminas portaobjetos.
- Porta láminas.
- Kit de tinción:
Diff Quick
 - fijador metanol
 - Solución 1 (Xanténicos).
 - Solución 2 (Tiazínicos)

Materiales para colección de Muestra

- Cytobrush (cepillo endometrial).
- Citofijador (metanol).
- Pistola de inseminación artificial modificada.
- Registros reproductivos.
- Algodón.
- Fundas obstétricas modificadas.
- Guantes obstétricos.
- Guantes de látex.
- Papel toalla.

Materiales de campo

- Sogas.
- Tijeras.
- Botas de jebe.
- Mameluco.

Equipos

- Laptop.
- Cámara fotográfica.
- Impresora.
- Celular.
- Camioneta.

2. Campos de Verificación

2.1. Ubicación espacial

El presente estudio se desarrollará en el ámbito de la Irrigación Majes, Ubicado en el distrito de Majes, provincia de Caylloma, departamento de Arequipa; La irrigación se encuentra a una altitud de 1434 m.s.n.m.,

Climatología

Su temperatura promedio es de 16.1°C, (con una mínima de 8.2°C y máxima de 24°C), con una humedad relativa mayor de 40% y menor de 70% y precipitación 0 mm.

Geográficamente ubicado en:

- 16° 20' 08,35" Latitud Sur
- 72° 09' 09,56" Longitud Oeste

Fuente: SENAMHI, map 805, Irrigación de majes.

2.2. Ubicación temporal

El estudio se desarrollará durante los meses de Diciembre del 2013 a Julio del año 2014.

2.3. Unidades de estudio.

Cada vaca se considerara una unidad de estudio dentro del hatu lechero. Los criterios de inclusión para cada vaca se realizaran de acuerdo a su sistema de alimentación y manejo reproductivo.

3. Estrategia de recolección de datos

3.1 Cálculo de tamaño de muestra

Para la determinación del tamaño de muestra se utilizará como universo la información proporcionada por el Comité Regional de Productividad Lechera (CRPL), de la Dirección Regional de Agricultura de Arequipa, que registra un total de 4191 vacas en producción en 46 unidades productivas bajo el sistema de producción intensivo.

Con esta información se aplicó la fórmula para determinar el tamaño de muestra⁵:

$$n = \frac{N}{Nd^2 + 1}$$

Dónde.

n= tamaño de la muestra.

N= tamaño de la población.

d²= error

Tomando en cuenta las siguientes condiciones: nivel de confianza = 90% y 10% de error o significancia se tiene:

$$n = \frac{4191}{4191(0.1)^2 + 1}$$

$$n = 97.66 = 98 \text{ vacas en producción.}$$

3.2 Selección de la muestra.

Consideramos 46 establos lecheros de sistemas intensivos de producción de leche para el trabajo de investigación, con una muestra de 98 vacas en producción, se seleccionara la muestra mediante la aleatorización simple.

3.3 Organización

La colección de datos se realizará de acuerdo al instrumento diseñado para el presente estudio y comprenderá a 46 hatos lecheros diferenciados llevados en

⁵Luis Castilla (2011). Manual Práctico de Estadística para las Ciencias de la Salud. Pág. 19

un sistema intensivo, elegidos dentro de la Irrigación de Majes. Los hatos serán seleccionados de la sección D, A, C, B, E, en coordinación con los datos proveídos por CRPL de Majes y previa entrevista con los productores.

3.4 Recursos

a) Recursos humanos

Representado por el investigador que aplicará la ficha de observación e instrumento de evaluación a todos los ganaderos de los hatos seleccionados

b) Recursos físicos e institucionales

Se usará la logística de investigador para la toma de muestras para el diagnóstico de Endometritis Subclínica. Además los datos obtenidos en campo serán procesados en el Centro Latinoamericano de estudios de Problemáticas Lecheras (CLEPL) y laboratorio de la UCSM.

3.5 Criterios para el manejo de resultado

Para determinar la normalidad de los datos y la homogeneidad de varianza se utilizará la prueba de Kolmogorov – Smirnovy el estadístico de Levene, utilizando para ello el programa SPSS 19.

El punto de corte del porcentaje de PMN-N será obtenido mediante el análisis de la curva ROC (López y colaboradores, 2011) utilizando el paquete estadístico y de gráficos SAS.

Se graficará la sensibilidad y la especificidad para cada porcentaje de PMN posible en una curva ROC con la mediana de 100 días de IPC (días de vaca vacía) para la población en estudio.

Para verificar la asunción de proporcionalidad del riesgo de preñez de las vacas con y sin ES, los datos serán estratificados mediante la variable ES, y una función de sobrevivencia de Kaplan-Meier será estimada para cada grupo con el procedimiento LIFE TEST de SAS (Allison, 1995). Los estimadores de la función de sobrevivencia de Kaplan-Meier serán utilizadas para calcular las medianas del IPC y para graficar una función de empalme suave (spline) con el paquete estadístico y de gráficos.

IV. Cronograma de trabajo

Actividades/ Mes (2014)	DIC.(2013)	ENE.	FEB.	MAR.	ABR.	MAY.	JUN.	JUL.
Revisión Bibliográfica								
Visita a ganaderos								
Análisis de la información								
Informe final								



V. BIBLIOGRAFÍA

1. 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.
2. Bargo, F., Busso, F., Corbellini, C., Grigera, J., Lucas, V., Podetti, V., Tuñón, G., Vidaurreta, I., (2009) Organización y análisis de un sistema de registro de enfermedades del parto en vacas lecheras: su incidencia e impacto económico sobre las empresas.
3. Barlundet, al, (2008); Gilbert et al, (2005) Kasimanickam et al, 2004; Lenz et al, 2008
4. Correa, M.T., Erb, H., Scarlett, J., (1993), Path analysis for seven postpartum disorders of Holstein cows. *J Dairy Sci* 76, 1305-1312.
5. Dijkhuizen, A.A., Stelwagen, J., Renkema, J.A., (1985) Economic aspects of reproductive failure in dairy cattle. I. Financial loss at farm level. *Preventive Veterinary Medicine* 3, 251-263.
6. Domínguez, G., Magnasco, M., Magnasco, R., Hernández, J., Risco, C., de la Sota, R., (2006) Effect of clinical endometritis on reproductive performance in Holstein cows in Argentina. *Theriogenology* 66, 679-680.
7. Domínguez, G., Magnasco, M., Magnasco, R., Hernández, J., Risco, C., de la Sota, R., 2006, Effect of clinical endometritis on reproductive performance in Holstein cows in Argentina. *Theriogenology* 66, 679-680.
8. Domínguez, G., Magnasco, M., Magnasco, R., Hernández, J., Risco, C., de la Sota, R., 2006, Effect of clinical endometritis on reproductive performance in Holstein cows in Argentina. *Theriogenology* 66, 679-680.
9. Domínguez, G., Magnasco, R., Magnasco, M., de la Sota, R., 2003. Diagnóstico, tratamiento y autocura de infecciones uterinas en un rodeo lechero bajo condiciones de explotación comercial. In: V Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina, p. 394.

10. Domínguez, G., Magnasco, R., Magnasco, M., de la Sota, R., 2003. Diagnóstico, tratamiento y autocura de infecciones uterinas en un rodeo lechero bajo condiciones de explotación comercial. In: V Simposio Internacional de Reproducción Animal, Cordoba, Argentina, p. 394.
11. Erb, H.N., Smith, R.D., Hillman, R.B., Powers, P.A., Smith, M.C., White, M.E., Pearson, E.G., 1984, Rates of diagnosis of six diseases of Holstein cows during 15-day and 21-day intervals. American journal of veterinary research 45, 333- 335.
12. Erb, H.N., Smith, R.D., Oltenacu, P.A., Guard, C.L., Hillman, R.B., Powers, P.A., Smith, M.C., White, M.E., (1985) Path model of reproductive disorders and performance, milk fever, mastitis, milk yield, and culling in Holstein cows. J Dairy Sci 68, 3337-3349.
13. Gautam, Gokarna; Nakao, Toshihiko; Yusuf, Muhammad; Koike, Kana (2009). Prevalence of endometritis during the postpartum period and its impact on subsequent reproductive performance in two Japanese dairy herds. Theriogenology 0378-4320. Elsevier.
14. 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.
15. 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. AnimSci, 89(11):3551-3560.
16. Gröhn, Y., Erb, H.N., McCulloch, C.E., Saloniemi, H.S., (1990) Epidemiology of reproductive disorders in dairy cattle: associations among host characteristics, disease and production. Preventive Veterinary Medicine 8, 25-39.
17. 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.

18. Madoz, L., (2012) Tesis Endometritis subclínica en vacas de tambo: diagnóstico, prevalencia e impacto sobre la eficiencia reproductiva, Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional de la plata, Tesis Doctoral, la plata - Argentina.
19. LeBlanc, S.J., Duffield, T.F., Leslie, K.E., Bateman, K.G., Keefe, G.P., Walton, J.S., Johnson, W.H.,(2002) Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci* 85, 2223- 2236.
20. Castilla, L. (2011). Manual Práctico de Estadística para las ciencias de la Salud. Editorial Trillas D.F. México. P. 167
21. López, de U., Pita F.,(2011) curvas ROC Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística, (1998) España *Cad Aten Primaria* 1998; 5 (4): 229-239.
22. Madoz, L., Ploentzke, J., Albarracin, D., Mejia, M., Drillich, M., Heuwisser, W., De la Sota, R., 2008, Prevalence of clinical and subclinical endometritis in dairy cows and the impact on reproductive performance. *Reprod. Domest. Anim. Supplem.* 43 51.
23. 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. 16th International Congresson Animal Reproduction, Budapest, Hungary
24. Magnasco, M., Magnasco, R., DeLaSota, R.L.,(2007). Prevalencia de ndometritis clínica en un tambo comercial y su efecto sobre la eficiencia reproductiva. In: VII Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina, p.302.
25. Medicina de la producción *LABVETSUR* Año 1 N° 1- 2002 pág. 4.
26. Olivera, (2010), *Midiendo y Monitoreando la Reproducción en Vacas Lecheras: La Tasa de Preñez*, Agroindustrias el Olivar, Huara, Lima

27. Ortega Manuel María; Marro Omar; Dra. Catena María, (2012) Diagnóstico de endometritis subclínica en vacas HolandoArgentino entre los días 40 al 70 posparto
28. 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.
29. Palmer, C., (2008). Endometritis en vacas lecheras. *Taurus*, 10 (37):25-32.
30. Plontzke, J., Madoz, L.V., De la Sota, R.L., Drillich, M., Heuwieser, W., 2010, Subclinical endometritis and its impact on reproductive performance in grazing dairy cattle in Argentina. *AnimReprodSci* 122, 52-57.
31. 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 ReprodSci*, 122 (1-2):52-7.
32. Rinaudo, A. (2012) Endometritis subclínica en vacas lecheras: diagnóstico, tratamiento e incidencia productiva y reproductiva, Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional de Rosario UNR, Tesis Doctoral, Casilda - Argentina.
33. Rinaudo, Agustín, Bernardi, Sandra Fabiana, y Marini, Pablo Roberto, 2010 Prevalencia de endometritis clínica y subclínica en vacas lecheras en posparto en un sistema intensivo estabulado, facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional de Rosario. Ovidio Lagos y Ruta 33 (2170) Casilda - Argentina.
34. Rodríguez, D. Y (2011) Prevalencia de endometritis subclínica utilizando el cytobrush como método de diagnóstico citológico endometrial, en vacas (Bostauros) de la raza hosteins de producción láctea, en la Irrigación de San isidro la Joya, departamento de Arequipa, Tesis PP MVZ – UCSM., Arequipa – Perú.
35. 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.

36. Sheldon, I.M., Dobson, H., (2004) postpartum uterine health in cattle. *AnimReprodSci* 82-83, 295-306.
37. Sheldon, I.M., Lewis, G.S., LeBlanc, S., Gilbert, R.O., (2006) Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65, 1516-1530.





ANEXO Nro. 02

MATRICES DE SISTEMATIZACIÓN

PORCENTAJE DE PMN-N E INTERVALO PARTO CONCEPCIÓN

N°	Ident	% N	IPC.	N°	Ident	% N	IPC.	N°	Ident	% N	IPC.	N°	Ident	% N	IPC.	N°	Ident	% N	IPC.
1	581	1,8	112	30	961	5,7	107	59	ALEJA	8,2	129	88	SANDRA	1,4	101	117	9062	0	108
2	833	1,1	61	31	859	1	111	60	GINA	13	119	89	ALMENDRA	15,5	111	118	4334	0	245
3	602	5,3	114	32	954	0	67	61	BELEN	0	110	90	JADE	19,8	142	119	10056	1	124
4	847	2,6	83	33	929	7	72	62	LUCIA	1,7	132	91	53	43	73	120	12114	2	62
5	919	1,2	58	34	881	3,6	121	63	VANESSA	46	136	92	195	5	91	121	11170	0	76
6	915	0,4	114	35	867	0	68	64	MAGDA	5,4	132	93	226	0	146	122	7150	0	243
7	937	0,8	96	36	872	0	82	65	JULIANA	0,6	66	94	513	22	83	123	8246	1,3	68
8	601	35,8	122	37	522	0	103	66	DALMA	1,9	111	95	614	1	79	124	12108	0	65
9	881	0,4	60	38	2072	0	121	67	ROCIO	7,4	81	96	510	0	85	125	10126	0	144
10	604	0,9	56	39	40361	0,2	66	68	VANESA	8,3	101	97	671	4	91	126	12110	1	67
11	585	1,4	81	40	386	0,2	88	69	MARIA	0,5	107	98	670	2	105	127	10278	14	97
12	821	14,8	125	41	3981	0	121	70	MARIBEL	49,1	78	99	660	0,4	137	128	10194	0	124
13	603	0	116	42	40398	15,7	88	71	CAROL	0,9	112	100	641	17	117	129	11126	0	221
14	869	0	117	43	40055	0	106	72	SABINA	4,7	89	101	512	0	85	130	8060	0	55
15	824	0	97	44	3618	0	54	73	CRISTEL	0,8	59	102	668	0	101	131	12140	0	114
16	844	1,8	49	45	3602	0,4	86	74	BETY	0,9	66	103	656	0	66	132	12074	2	137
17	2157	0	107	46	519	158,5	99	75	JULISA	1,9	68	104	253	0	80	133	12098	19	85
18	602	4,9	110	47	3325	0,4	131	76	KENIA	2,8	116	105	248	0,3	64	134	5170	89	204
19	801	0	68	48	957	5,3	128	77	ANY	1,6	179	106	130	0	76				
20	829	1,3	82	49	3410	0	104	78	LUCIANA	2	60	107	242	0,2	94				
21	858	4,5	109	50	11	11,1	120	79	DELIA	4,4	104	108	517	63	90				
22	6036	1,8	120	51	RUBY	0	163	80	LINA	1,8	107	109	552	95	63				
23	790	5,1	99	52	MILY	7,2	152	81	MILENA	25	100	110	522	29	62				
24	934	0,9	100	53	MIREYA	0,4	156	82	LINDA	3,5	105	111	8014	0	216				
25	822	3,1	59	54	NELY	9,9	150	83	PAULA	3,5	123	112	11082	0,4	88				
26	830	3,3	108	55	VICTORIA	18,8	125	84	MELISA	69,7	93	113	11100	0	110				
27	794	7,3	67	56	709	4,6	111	85	MARI	12	125	114	11102	1	63				
28	846	0	58	57	LINDA	0	131	86	FANY	0,2	96	115	12150	5	59				
29	880	0,6	107	58	ESTRELLA	7,8	145	87	EVA	10	89	116	9032	0	140				

RESULTADOS REPRODUCTIVOS DE VACAS POSITIVAS A ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA

N°	N° LAMINA	N° DE ARETE	N° PARTOS	N° SERVICIOS	FECHA DE PARTO	DEL	FECHA DE SERVICIO	I.P.C.	Producción Leche (lt.)	Vacas Positivas.	I.P.P.S.
1	196	602	2	2	07/09/2014	46	30/12/2014	114	28	P	93
2	201	601	2	3	29/08/2014	55	29/12/2014	122	26	P	80
3	205	821	2	3	28/08/2014	56	31/12/2014	125	27	P	83
4	220	794	2	1	27/08/2014	57	02/11/2014	67	28	P	67
5	226	929	3	1	09/09/2014	44	20/11/2014	72	24	P	72
6	235	40398	1	1	10/09/2014	43	07/12/2014	88	28	P	88
7	239	519	5	2	12/09/2014	43	20/12/2014	99	26	P	78
8	241	957	4	3	02/09/2014	51	08/01/2015	128	25	P	86
9	243	11	5	3	11/09/2014	42	09/01/2015	120	24	P	78
10	MILY		2	3	12/07/2014	55	11/12/2014	152	34	P	110
11	NELY		2	2	18/07/2014	49	15/12/2014	150	28	P	129
12	VICTORIA LIMA		3	2	21/07/2014	46	23/11/2014	125	37	P	104
13	ESTRELLA		2	3	28/07/2014	39	20/12/2014	145	28	P	103
14	ALEJA		1	2	06/08/2014	30	13/12/2014	129	35	P	108
15	GINA		3	2	08/08/2014	28	05/12/2014	119	38	P	98
16	VANESSA		1	3	17/07/2014	50	30/11/2014	136	24	P	94
17	MAGDA	308	5	3	16/07/2014	54	25/11/2014	132	48	P	90
18	VANESA	205	8	2	11/08/2014	28	20/11/2014	101	28	P	80
19	MARIBEL	331	1	1	31/07/2014	39	17/10/2014	78	44	P	78
20	MILENA	166	2	1	26/07/2014	46	03/11/2014	100	45	P	100
21	MELISA	182	1	2	27/07/2014	45	28/10/2014	93	32	P	72
22	MARI	168	2	2	20/07/2014	52	22/11/2014	125	42	P	104
23	EVA		2	2	17/07/2014	55	14/10/2014	89	28	P	68
24	ALMENDRA		2	2	15/08/2014	27	04/12/2014	111	17	P	90
25	JADE		3	2	02/08/2014	40	22/12/2014	142	24	P	121
26		53	6	1	13/05/2014	59	25/07/2014	73	25	P	73
27		195	1	2	30/05/2014	42	29/08/2014	91	22	P	70
28		513	2	2	03/06/2014	38	25/08/2014	83	26	P	62
29		641	1	3	01/06/2014	40	26/09/2014	117	28	P	96
30		517	2	2	23/05/2014	49	21/08/2014	90	27	P	69
31		552	1	1	28/05/2014	44	30/07/2014	63	25	P	63
32		522	2	1	27/05/2014	45	28/07/2014	62	22	P	62
33	KENIA 2	12150	1	1	21/04/2014	45	19/06/2014	59	30	P	59
34	CHAPLIN	10278	2	2	06/05/2014	30	11/08/2014	97	27	P	76
35	DORIS	12098	1	2	11/05/2014	25	04/08/2014	85	32	P	64
36	LOBITA	5170	7	4	11/05/2014	25	01/12/2014	204	35	P	141

DEL: Días en leche I.P.C.: Intervalo Parto Concepción I.P.P.S.: Intervalo Parto Primer Servicio

RESULTADOS REPRODUCTIVOS DE VACAS NEGATIVAS A ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA (1)

N°	N° LAMINA	N° DE ARETE	N° PARTOS	N° SERVICIOS	FECHA DE PARTO	DEL	FECHA DE SERVICIO	I.P.C.	Producción Leche (lt.)	VacasNegativas.	I.P.P.S.
1	194	581	2	3	11/09/2014	42	01/01/2015	112	30	N	70
2	195	833	2	1	23/08/2014	61	23/10/2014	61	33	N	61
3	197	847	2	1	27/08/2014	57	18/11/2014	83	30	N	83
4	198	919	2	1	03/09/2014	50	31/10/2014	58	33	N	58
5	199	915	2	2	23/08/2014	61	15/12/2014	114	30	N	93
6	200	937	2	2	06/09/2014	47	11/12/2014	96	28	N	75
7	202	881	3	1	01/09/2014	52	31/10/2014	60	32	N	60
8	203	604	2	1	08/09/2014	45	03/11/2014	56	27	N	56
9	204	585	2	1	24/08/2014	60	13/11/2014	81	32	N	81
10	206	603	2	2	02/09/2014	51	27/12/2014	116	31	N	95
11	207	869	2	2	25/08/2014	59	20/12/2014	117	32	N	96
12	208	824	2	2	28/08/2014	56	03/12/2014	97	30	N	76
13	209	844	2	1	25/09/2014	28	13/11/2014	49	28	N	49
14	210	2157	1	2	04/09/2014	49	20/12/2014	107	30	N	86
15	211	602	3	2	08/09/2014	45	27/12/2014	110	27	N	89
16	212	801	2	1	05/09/2014	48	12/11/2014	68	26	N	68
17	213	829	2	1	23/08/2014	61	13/11/2014	82	28	N	82
18	214	858	2	2	29/08/2014	55	16/12/2014	109	26	N	88
19	215	6036	3	3	04/09/2014	49	02/01/2015	120	29	N	78
20	216	790	2	2	26/08/2014	58	03/12/2014	99	27	N	78
21	217	934	3	2	03/09/2014	50	12/12/2014	100	28	N	79
22	218	822	2	1	27/08/2014	57	25/10/2014	59	29	N	59
23	219	830	2	1	03/09/2014	50	20/12/2014	108	25	N	108
24	221	846	3	1	06/09/2014	47	03/11/2014	58	25	N	58
25	222	880	3	2	31/08/2014	53	16/12/2014	107	26	N	86
26	223	961	3	1	04/09/2014	49	20/12/2014	107	23	N	107
27	224	859	2	1	31/08/2014	53	20/12/2014	111	22	N	111
28	225	954	3	1	06/09/2014	47	12/11/2014	67	26	N	67
29	227	881	4	3	31/08/2014	53	30/12/2014	121	28	N	79
30	228	867	4	1	07/09/2014	46	07/11/2014	68	25	N	68
31	229	872	4	2	28/08/2014	56	18/11/2014	82	28	N	61
32	230	522	4	1	09/08/2014	75	29/10/2014	103	26	N	103
33	231	2072	2	2	24/08/2014	60	23/12/2014	121	26	N	100
34	232	40361	1	1	17/09/2014	36	22/11/2014	66	30	N	66
35	233	386	4	1	10/09/2014	43	07/12/2014	88	28	N	88
36	234	3981	1	3	19/08/2014	65	18/12/2014	121	27	N	79

RESULTADOS REPRODUCTIVOS DE VACAS NEGATIVAS A ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA (2)

N°	N° LAMINA	N° DE ARETE	N° PARTOS	N° SERVICIOS	FECHA DE PARTO	DEL	FECHA DE SERVICIO	I.P.C.	Producción Leche (lt.)	Vacas Negativas.	I.P.P.S.
37	236	40055	1	2	02/09/2014	51	17/12/2014	106	25	N	85
38	237	3618	3	1	19/09/2014	34	12/11/2014	54	27	N	54
39	238	3602	3	2	05/09/2014	48	30/11/2014	86	26	N	65
40	240	3325	2	4	27/08/2014	57	05/01/2015	131	26	N	68
41	242	3410	2	3	25/08/2014	59	07/12/2014	104	26	N	62
42	RUBY		2	3	10/07/2014	57	20/12/2014	163	35	N	121
43	MIREYA		2	3	13/07/2014	54	16/12/2014	156	42	N	114
44	709	709	2	2	24/07/2014	43	12/11/2014	111	33	N	90
45	LINDA		2	2	25/07/2014	42	03/12/2014	131	32	N	110
46	BELEN		1	2	10/07/2014	57	28/10/2014	110	22	N	89
47	LUCIA		1	3	18/07/2014	49	27/11/2014	132	25	N	90
48	JULIANA	422	4	1	24/07/2014	46	28/09/2014	66	34	N	66
49	DALMA	254	2	2	29/07/2014	41	17/11/2014	111	42	N	90
50	ROCIO	321	2	1	17/08/2014	22	06/11/2014	81	35	N	81
51	PANDA	203	9	2	13/08/2014	26	28/11/2014	107	23	N	86
52	CAROL	347	1	3	22/07/2014	48	11/11/2014	112	27	N	70
53	SABINA	380	1	2	08/08/2014	31	05/11/2014	89	33	N	68
54	CRISTEL	341	1	1	28/07/2014	42	25/09/2014	59	27	N	59
55	BETY	338	1	1	28/07/2014	42	02/10/2014	66	33	N	66
56	JULISA	333	1	1	25/07/2014	45	01/10/2014	68	22	N	68
57	KENIA	342	1	2	10/07/2014	60	03/11/2014	116	31	N	95
58	ANY	511	1	4	14/07/2014	58	09/01/2015	179	30	N	116
59	LUCIANA	517	1	1	15/07/2014	57	13/09/2014	60	32	N	60
60	DELIA	510	1	3	16/07/2014	56	28/10/2014	104	33	N	62
61	LINA	158	2	2	27/07/2014	45	11/11/2014	107	42	N	86
62	LINDA	436	2	3	30/07/2014	42	12/11/2014	105	43	N	63
63	PAULA	126	3	2	18/07/2014	54	18/11/2014	123	40	N	102
64	FANY		2	2	14/08/2014	27	18/11/2014	96	22	N	75
65	SANDRA		3	3	17/07/2014	55	26/10/2014	101	18	N	59
66		226	4	4	15/05/2014	57	08/10/2014	146	28	N	83
67		614	1	1	03/06/2014	38	21/08/2014	79	21	N	79
68		510	3	2	20/05/2014	52	13/08/2014	85	35	N	64
69		671	1	2	19/05/2014	53	18/08/2014	91	28	N	70
70		670	1	3	07/05/2014	65	20/08/2014	105	30	N	63
71		660	1	3	17/05/2014	55	01/10/2014	137	29	N	95
72		512	2	1	13/05/2014	59	06/08/2014	85	25	N	85

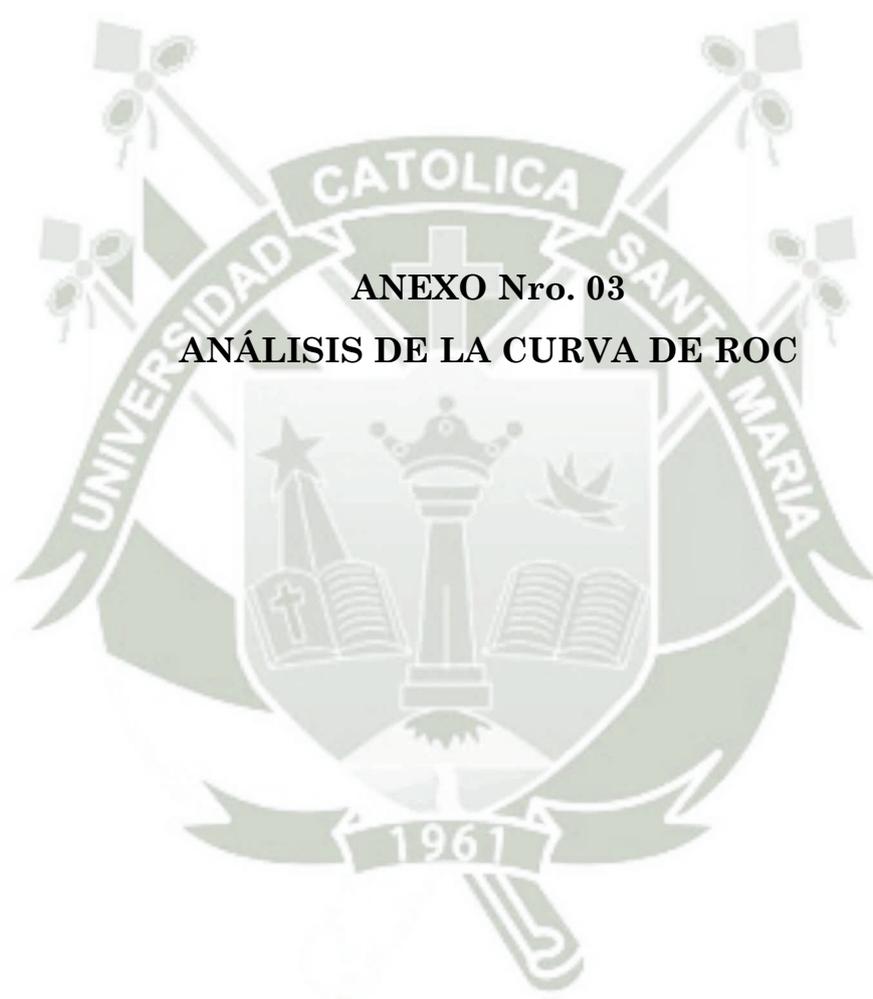
RESULTADOS REPRODUCTIVOS DE VACAS NEGATIVAS A ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA (3)

N°	N° LAMINA	N° DE ARETE	N° PARTOS	N° SERVICIOS	FECHA DE PARTO	DEL	FECHA DE SERVICIO	I.P.C.	Producción Leche (lt.)	Vacas Negativas.	I.P.P.S.
73		668	2	2	06/05/2014	66	15/08/2014	101	22	N	80
74		656	1	1	09/05/2014	63	14/07/2014	66	27	N	66
75		253	4	2	18/05/2014	54	06/08/2014	80	25	N	59
76		248	4	1	19/05/2014	53	22/07/2014	64	26	N	64
77		130	4	1	15/05/2014	57	30/07/2014	76	23	N	76
78		242	2	2	10/05/2014	62	12/08/2014	94	28	N	73
79	LA VEGA	8014	5	5	16/04/2014	50	18/11/2014	216	28	N	132
80	ARROZAL	11082	2	2	17/04/2014	49	14/07/2014	88	25	N	67
81	CINARUCO	11100	2	2	17/04/2014	49	05/08/2014	110	263	N	89
82	TISNADO	11102	2	1	21/04/2014	45	23/06/2014	63	29	N	63
83	PERSICA	9032	4	3	22/04/2014	44	09/09/2014	140	25	N	98
84	GABELA	9062	4	2	23/04/2014	43	09/08/2014	108	32	N	87
85	ODEMIRA	9334	3	5	25/04/2014	41	26/12/2014	245	35	N	161
86	HARUKA	10096	3	1	27/04/2014	39	29/08/2014	124	28	N	124
87	CORDELIA	12114	1	1	28/04/2014	38	29/06/2014	62	27	N	62
88	CONSUELO	11170	2	2	28/04/2014	38	13/07/2014	76	32	N	55
89	SUAZI	7150	5	5	29/04/2014	37	28/12/2014	243	32	N	159
90	MENDOZA	8246	4	1	30/04/2014	36	07/07/2014	68	33	N	68
91	GRISEL	12108	1	1	30/04/2014	36	04/07/2014	65	32	N	65
92	MELANY	10126	3	2	03/05/2014	33	24/09/2014	144	30	N	123
93	ZULMA	12110	1	1	04/05/2014	32	10/07/2014	67	29	N	67
94	MILKITA	10194	3	2	07/05/2014	29	08/09/2014	124	30	N	103
95	LIMA	11126	2	5	07/05/2014	29	14/12/2014	221	32	N	137
96	JELENIA	8060	5	1	08/05/2014	28	02/07/2014	55	35	N	55
97	PIA	12140	1	2	10/05/2014	26	01/09/2014	114	33	N	93
98	QUEQUEÑA	12074	1	3	10/05/2014	26	24/09/2014	137	30	N	95

DEL: Días en leche

I.P.C.: Intervalo Parto Concepción

I.P.P.S.: Intervalo Parto Primer Servicio



ROC curve

Variable	%Neutrófilos
Classification variable	IPC
Sample size	134
Positive group ^a	36(26,87%)
Negative group ^b	98(73,13%)

^a IPC = 1 (IPC = 120 días)

^b IPC = 0 (IPC = 120 días)

Area under the ROC curve (AUC)

Area under the ROC curve (AUC)	0,523
Standard Error^a	0,0598
95% Confidence interval^b	0,435 to 0,610
z statistic	0,379
Significance level P (Area=0.5)	0,7044

^a DeLong et al., 1988

^b Binomial exact

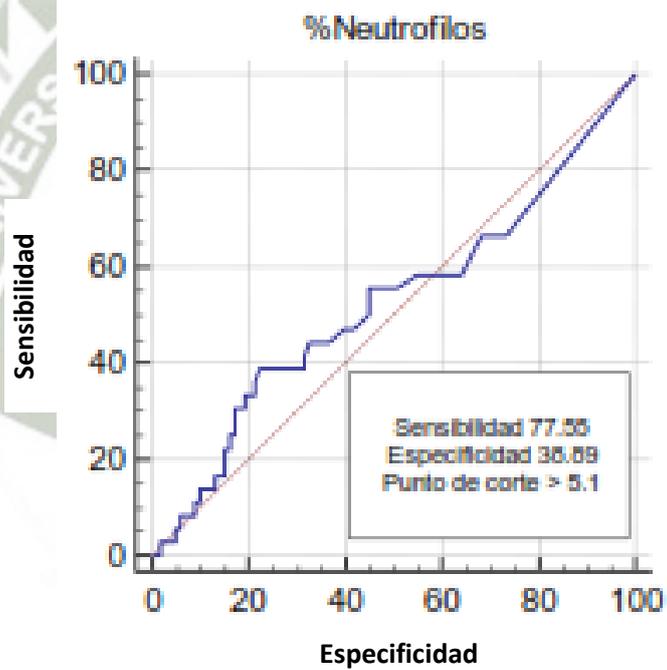
Youden index

Youden index J	0,1644
Associated criterion	>5,1
Sensitivity	38,89
Specificity	77,55

Criterion values and coordinates of the ROC curve

Criterion	Sensitivity	95% CI	Specificity	95% CI	+LR	-LR
≥0	100,00	90,3 - 100,0	0,00	0,0 - 3,7	1,00	
>0	66,67	49,0 - 81,4	26,53	18,1 - 36,4	0,91	1,26
>0,3	66,67	49,0 - 81,4	31,63	22,6 - 41,8	0,98	1,05
>0,4	58,33	40,8 - 74,5	35,71	26,3 - 46,0	0,91	1,17
>0,9	58,33	40,8 - 74,5	44,90	34,8 - 55,3	1,06	0,93
>1	55,56	38,1 - 72,1	48,98	38,7 - 59,3	1,09	0,91
>1,4	55,56	38,1 - 72,1	55,10	44,7 - 65,2	1,24	0,81
>1,7	50,00	32,9 - 67,1	55,10	44,7 - 65,2	1,11	0,91
>1,8	47,22	30,4 - 64,5	58,16	47,8 - 68,1	1,13	0,91
>1,9	47,22	30,4 - 64,5	60,20	49,8 - 70,0	1,19	0,88
>2	44,44	27,9 - 61,9	63,27	52,9 - 72,8	1,21	0,88
>3,3	44,44	27,9 - 61,9	67,35	57,1 - 76,5	1,36	0,82
>3,5	41,67	25,5 - 59,2	68,37	58,2 - 77,4	1,32	0,85
>3,6	38,89	23,1 - 56,5	68,37	58,2 - 77,4	1,23	0,89
>5,1	38,89	23,1 - 56,5	77,55	68,0 - 85,4	1,73	0,79
>5,3	36,11	20,8 - 53,8	78,57	69,1 - 86,2	1,69	0,81
>5,4	33,33	18,6 - 51,0	78,57	69,1 - 86,2	1,56	0,85
>7	33,33	18,6 - 51,0	80,61	71,4 - 87,9	1,72	0,83
>7,2	30,56	16,3 - 48,1	80,61	71,4 - 87,9	1,58	0,86
>7,4	30,56	16,3 - 48,1	82,65	73,7 - 89,6	1,76	0,84
>8,2	25,00	12,1 - 42,2	82,65	73,7 - 89,6	1,44	0,91
>8,3	25,00	12,1 - 42,2	83,67	74,8 - 90,4	1,53	0,90
>9,9	22,22	10,1 - 39,2	83,67	74,8 - 90,4	1,36	0,93
>10	22,22	10,1 - 39,2	84,69	76,0 - 91,2	1,45	0,92
>12	16,67	6,4 - 32,8	84,69	76,0 - 91,2	1,09	0,98
>14	16,67	6,4 - 32,8	86,73	78,4 - 92,7	1,26	0,96
>14,8	13,89	4,7 - 29,5	86,73	78,4 - 92,7	1,05	0,99
>17	13,89	4,7 - 29,5	89,80	82,0 - 95,0	1,36	0,96
>18,8	11,11	3,1 - 26,1	89,80	82,0 - 95,0	1,09	0,99
>19	11,11	3,1 - 26,1	90,82	83,3 - 95,7	1,21	0,98
>19,8	8,33	1,8 - 22,5	90,82	83,3 - 95,7	0,91	1,01
>29	8,33	1,8 - 22,5	93,88	87,1 - 97,7	1,36	0,98
>35,8	5,56	0,7 - 18,7	93,88	87,1 - 97,7	0,91	1,01
>43	5,56	0,7 - 18,7	94,90	88,5 - 98,3	1,09	1,00
>46	2,78	0,07 - 14,5	94,90	88,5 - 98,3	0,54	1,02
>69,7	2,78	0,07 - 14,5	97,96	92,8 - 99,8	1,36	0,99
>89	0,00	0,0 - 9,7	97,96	92,8 - 99,8	0,00	1,02
>158,5	0,00	0,0 - 9,7	100,00	96,3 - 100,0		1,00

Gráfica Nro. 01
Punto de corte para PMN-N en hatos lecheros de la
Irrigación de Majes





ROC curve

Variable	%Neutrófilos
Classification variable	IPC
Sample size	134
Positive group ^a	36(26,87%)
Negative group ^b	98(73,13%)

^a IPC = 1 (IPC = 120 días)

^b IPC = 0 (IPC = 120 días)

Area under the ROC curve (AUC)

Area under the ROC curve (AUC)	0,523
Standard Error^a	0,0598
95% Confidence interval^b	0,435 to 0,610
z statistic	0,379
Significance level P (Area=0.5)	0,7044

^a DeLong et al., 1988

^b Binomial exact

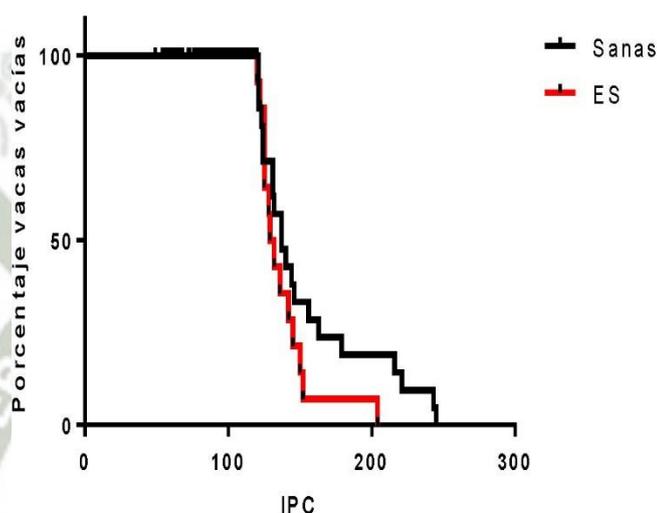
Youden index

Youden index J	0,1644
Associated criterion	>5,1
Sensitivity	38,89
Specificity	77,55

Gráfico Nro. 01

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

Curva de Supervivencia de Kaplan-Meier



Se tomó para este trabajo como tolerancia para lograr la preñez el IPC de 120 días.

Comparación de Curvas de Supervivencia

Valor de P 0,1408

Hay diferencias estadísticas entre curvas? No

Gehan- Breslow-Wilcoxon test

Chi cuadrado 0,8391

Valor de P 0,3597

Hay diferencias estadísticas entre curvas? No

Mediana de supervivencia

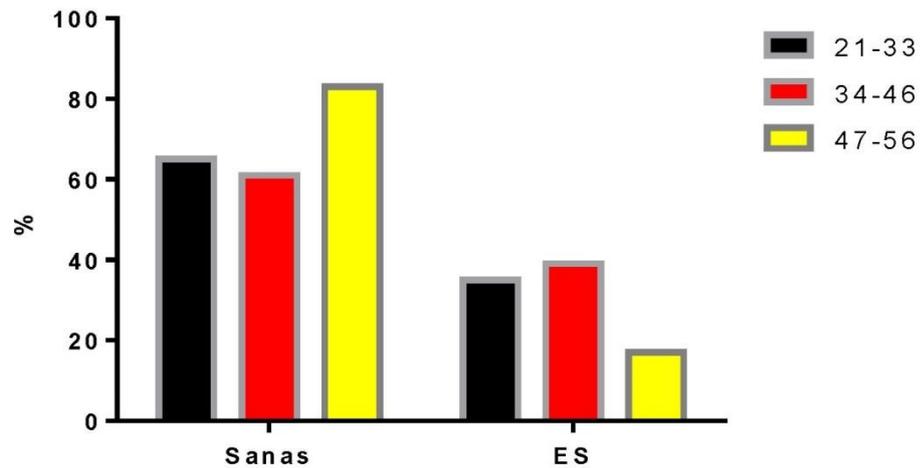
Sanas 137,0

ES 130,5

Gráfico Nro. 02

Chi cuadrado para lactancias

Prevalencia de ES según días en lactancia



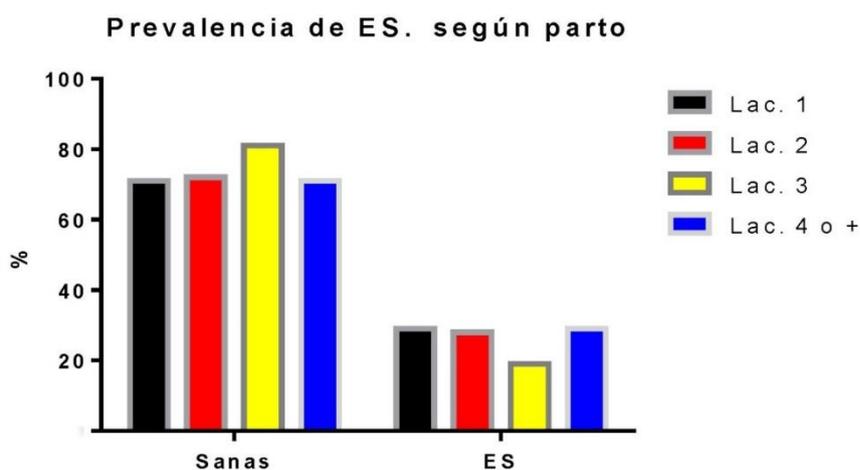
Prevalencia de ES según días en lactancia

Chi cuadrado
Valor de P
Estadísticamente significativo? ($\alpha < 0.05$)

0,0015
SI

Gráfico Nro. 03

Chi cuadrado para días en leche



Prevalencia de ES. según parto

Chi cuadrado
Valor de P

Estadísticamente significativo? ($\alpha < 0.05$)

0,3013

No

Gráfico Nro. 04
Porcentaje de preñez primer servicio (%PPS)

Table Analyzed	Data 1		
Chi-square			
Chi-square, df	4,504, 1		
z	2,122		
P value	0,0338		
P value summary	*		
One- or two-sided	Two-sided		
Statistically significant? (alpha<0.05)	Yes		
Data analyzed	PPS	No PPS	Total
Sanas	39	61	100
Es	25	75	100
Total	64	136	200

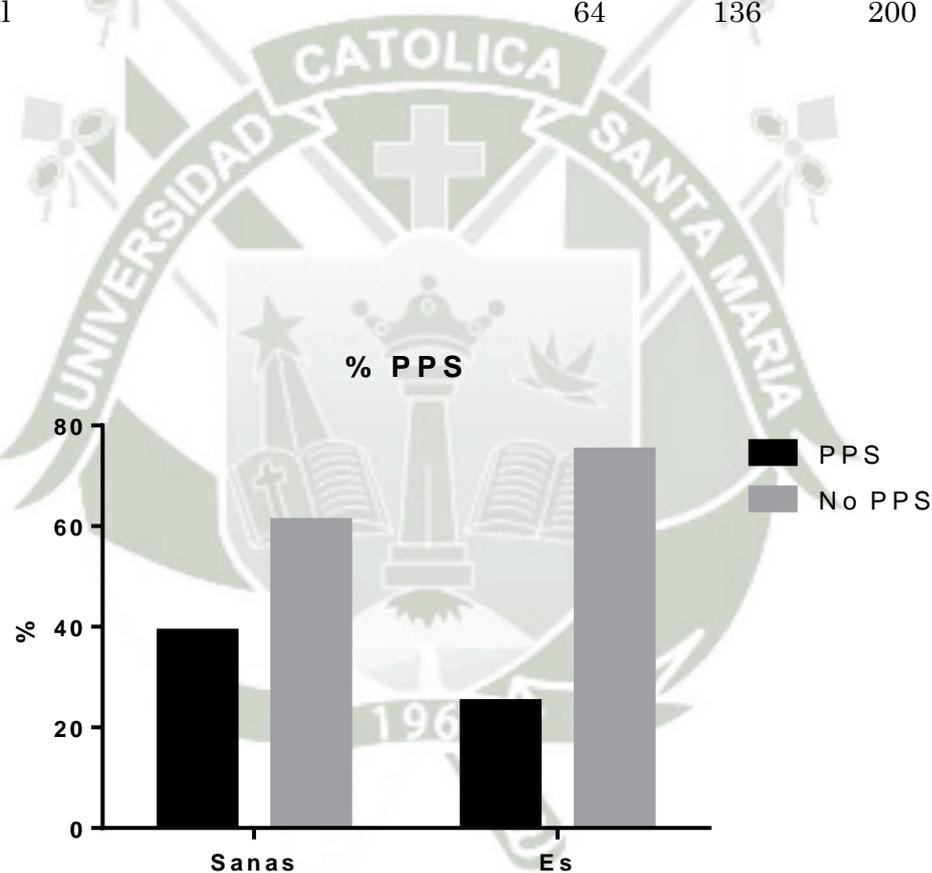


Gráfico Nro. 05 Intervalo parto concepción (IPC)

Table Analyzed	Data 1
Column B	ES
vs.	vs,
Column A	Sanas
Mann Whitney test	
P value	0,1264
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	ns
Significantly different? (P < 0.05)	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,B	6310 , 2735
Mann-Whitney U	1459
Difference between medians	
Median of column A	102,0
Median of column B	106,0
Difference: Actual	4,000
Difference: Hodges-Lehmann	9,000

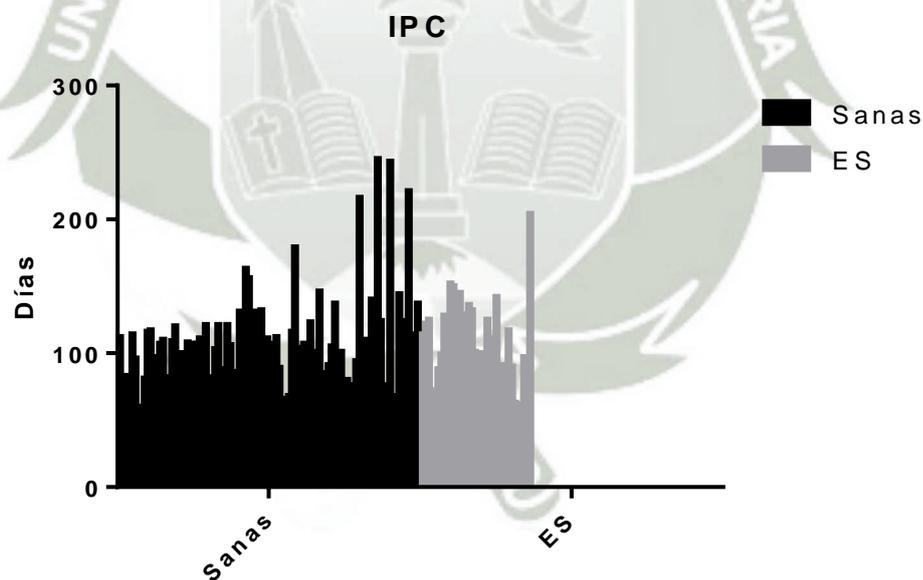


Gráfico Nro. 06 Intervalo parto primer servicio (IPPS)

Table Analyzed	Data 1
Column B	ES
vs.	vs,
Column A	Sanas
Mann Whitney test	
P value	0,1264
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	ns
Significantly different? (P < 0.05)	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,B	6310 , 2735
Mann-Whitney U	1459
Difference between medians	
Median of column A	79,00
Median of column B	81,50
Difference: Actual	2,500
Difference: Hodges-Lehmann	5,000

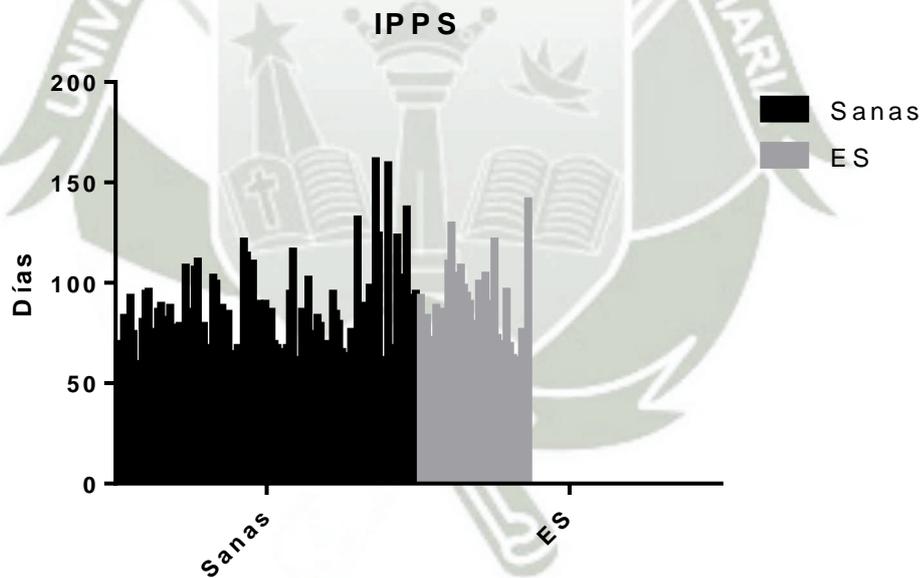


Gráfico Nro. 08
Producción diario de leche (PDL)

Table Analyzed	Data 1
Column B	ES
vs.	vs.
Column A	Sanas
Mann Whitney test	
P value	0,6854
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	ns
Significantly different? (P < 0.05)	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,B	6696 , 2349
Mann-Whitney U	1683
Difference between medians	
Median of column A	28,00
Median of column B	28,00
Difference: Actual	0,0
Difference: Hodges-Lehmann	0,0

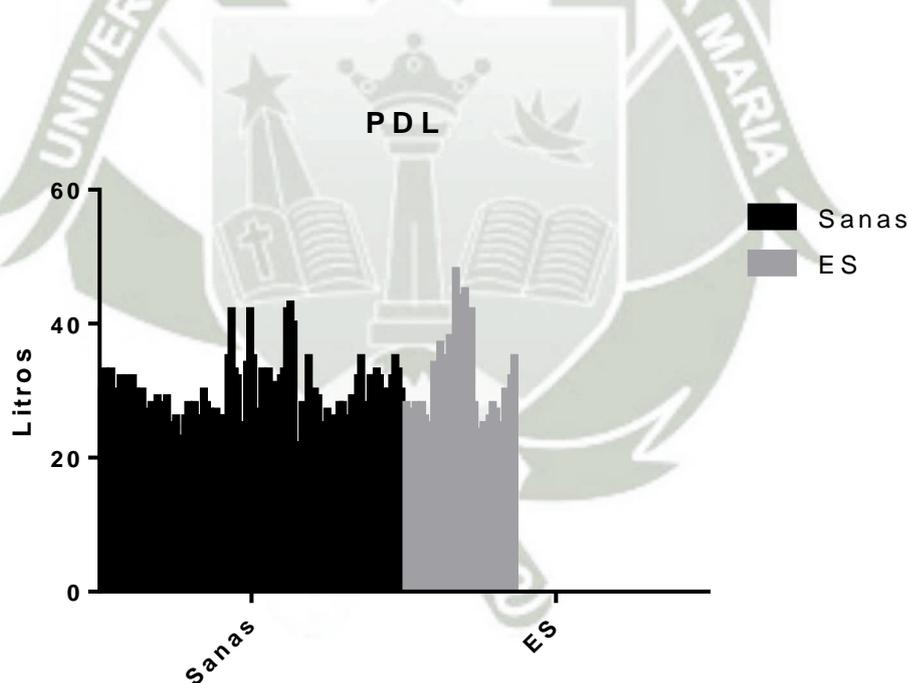


Gráfico Nro. 09
Tasa de preñez general (TP)

Table Analyzed	Data 1		
Chi-square			
Chi-square, df	0,0800, 1		
z	0,2828		
P value	0,7773		
P value summary	ns		
One- or two-sided	Two-sided		
Statistically significant? (alpha<0.05)	No		
Data analyzed	TP	TNP	Total
Sanas	51	49	100
ES	49	51	100
Total	100	100	200

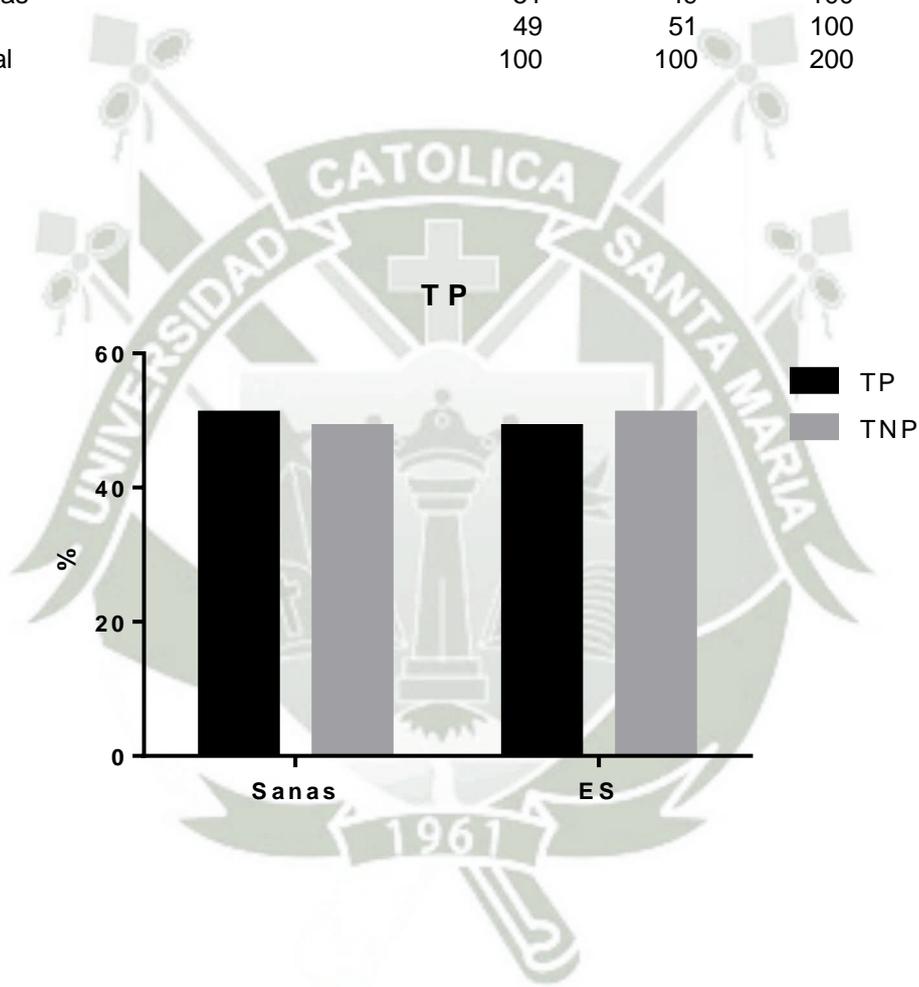


Gráfico N° 10
Tasa de preñez (TP) Lac. 1

Table Analyzed	Data 1		
Chi-square			
Chi-square, df	4,117, 1		
z	2,029		
P value	0,0425		
P value summary	*		
One- or two-sided	Two-sided		
Statistically significant? (alpha<0.05)	Yes		
Data analyzed	TP	TNP	Total
Sanas	51	49	100
ES	59	31	90
Total	110	80	190

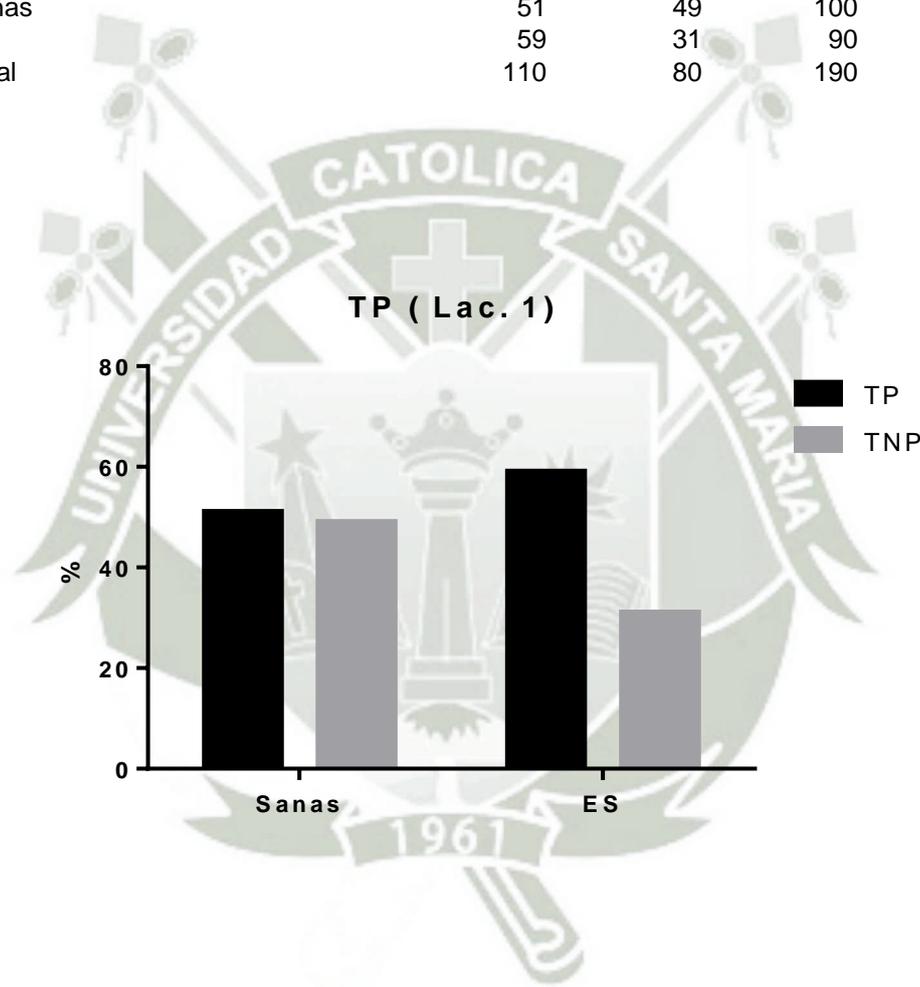
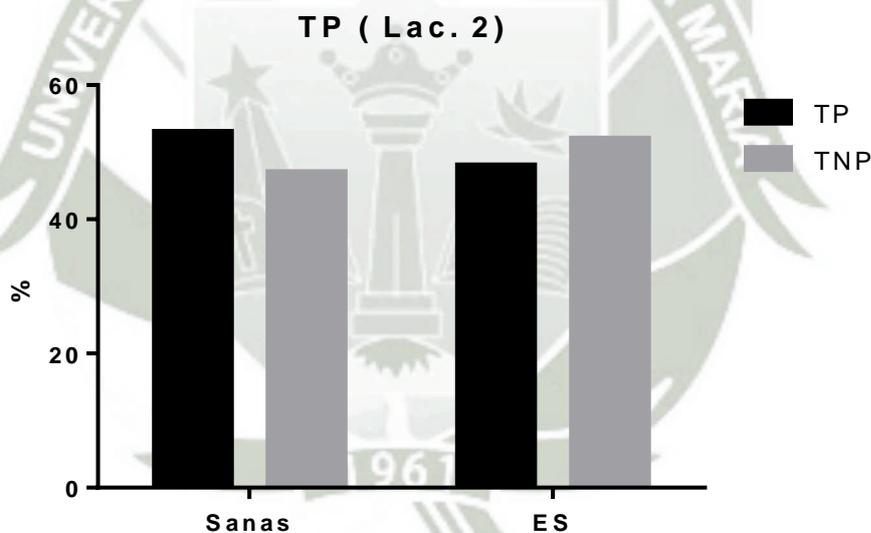


Gráfico N°11
Tasa de preñez (TP) Lac. 2

Table Analyzed	Data 1
Chi-square	
Chi-square, df	0,5001, 1
z	0,7071
P value	0,4795
P value summary	ns
One- or two-sided	Two-sided

Statistically significant? (alpha<0.05)	No		
Data analyzed	TP	TNP	Total
Sanas	53	47	100
ES	48	52	100
Total	101	99	200



Gráfica N° 12
Tasa de preñez (TP) Lac. 3

Table Analyzed	Data 1		
Chi-square			
Chi-square, df	0,5041, 1		
z	0,7100		
P value	0,4777		
P value summary	ns		
One- or two-sided	Two-sided		
Statistically significant? (alpha<0.05)	No		
Data analyzed	TP	TNP	Total
Sanas	52	48	100
ES	57	43	100
Total	109	91	200

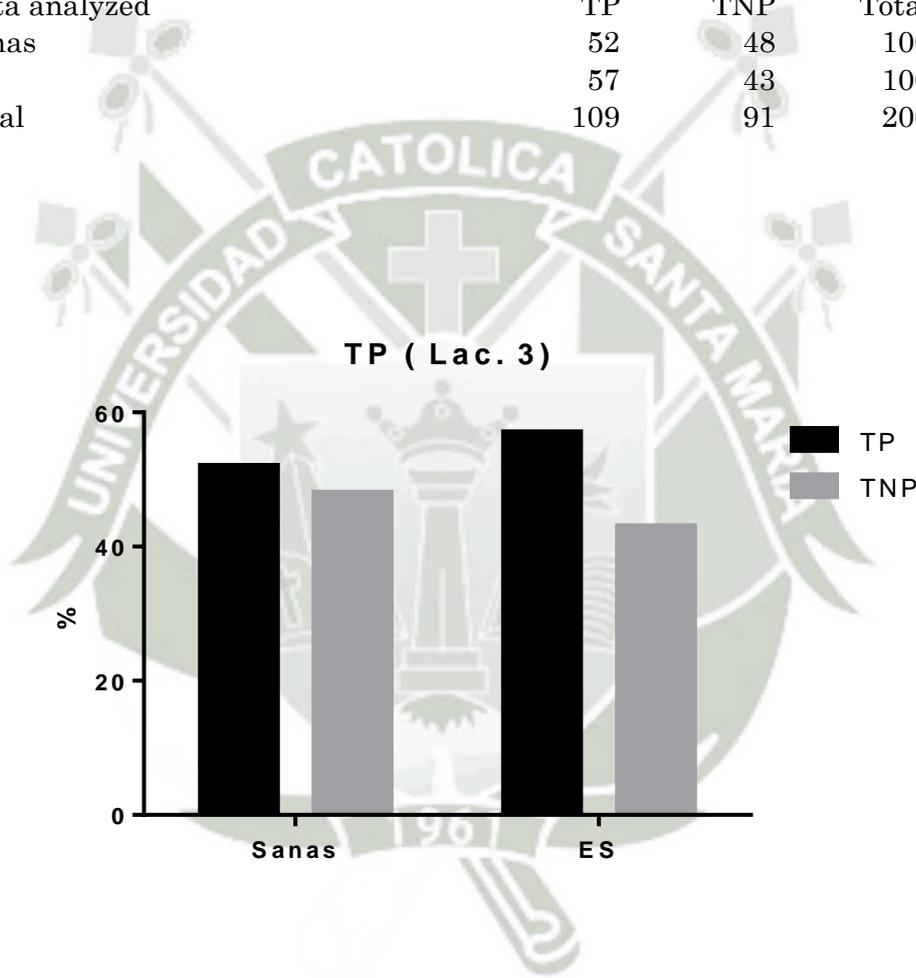


Gráfico N° 13
Tasa de preñez (TP) Lac. 4 o +

Table Analyzed	Data 1		
Chi-square			
Chi-square, df	1,306, 1		
z	1,143		
P value	0,2532		
P value summary	ns		
One- or two-sided	Two-sided		
Statistically significant? (alpha<0.05)	No		
Data analyzed	TP	TNP	Total
Sanas	47	53	100
ES	39	61	100
Total	86	114	200

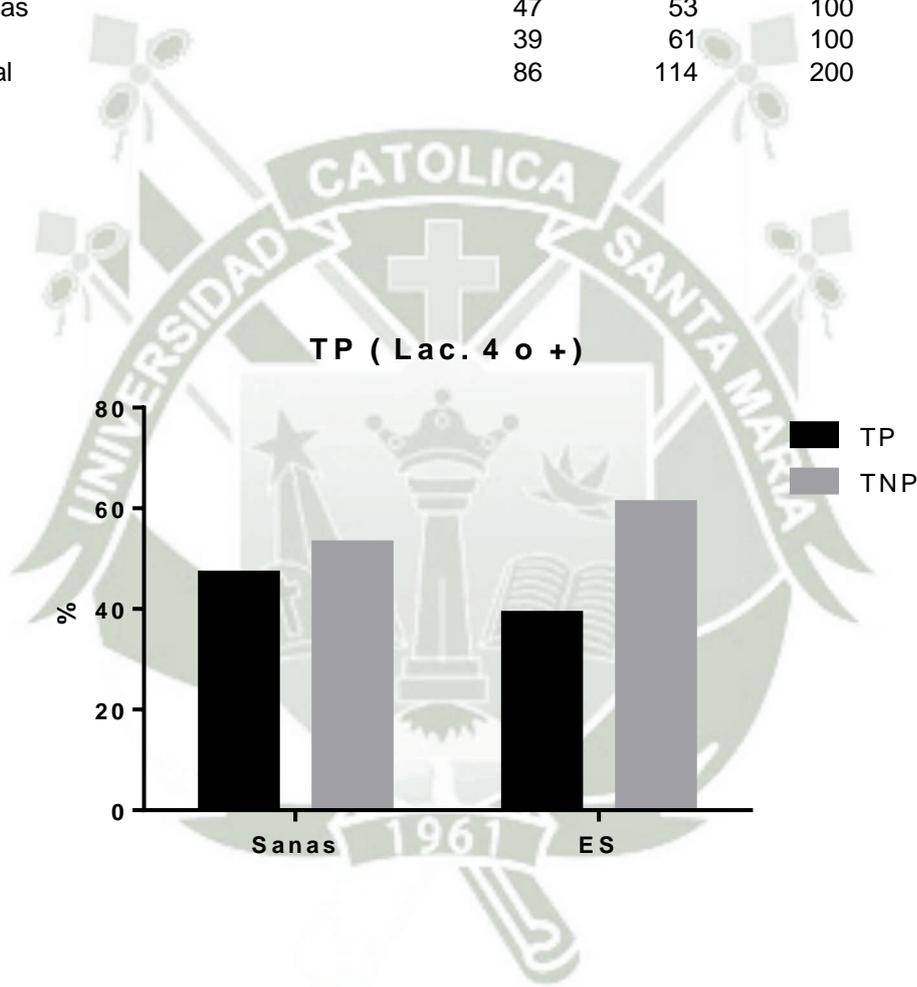






Foto Nro. 01
Preparacion del material:
Armando la pistola modificada con el cepillo para la obtención de la muestra ciltologica.



Foto Nro. 02
Preparacion del material:
Colocando la funda para la obtencion de la nuestra.



Foto Nro. 03
Colección de muestra:
Realizando la palpación rectal



Foto Nro. 04

Toma de muestra
citologica del endometrio.



Foto Nro. 05

Realizando el frotis:
rotando el cepillo con la
muestra citologica sobre
un porta objeto.



Foto Nro. 06

Realizando el frotis:
rotando el cepillo con la
muestra citologica sobre
un porta objeto limpio.



Foto Nro. 07
Grupo de profesionales
en el trabajo de campo



Foto Nro. 08
Trabajo en
laboratorio: realizando
la tinción de Diff Quick,
observación y análisis en
un microscopio de 400 X.

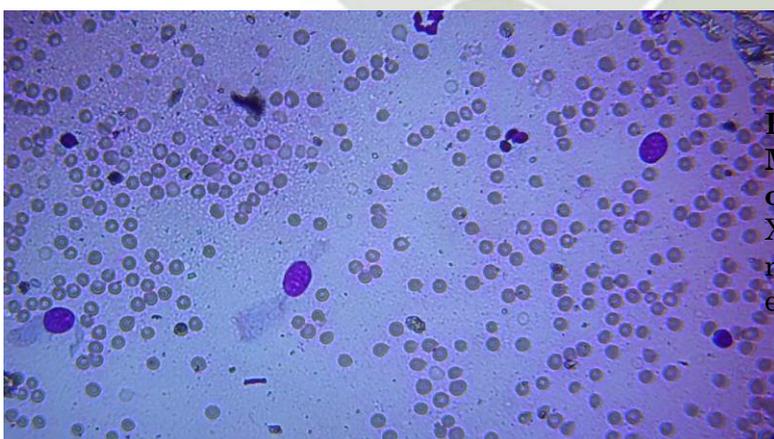
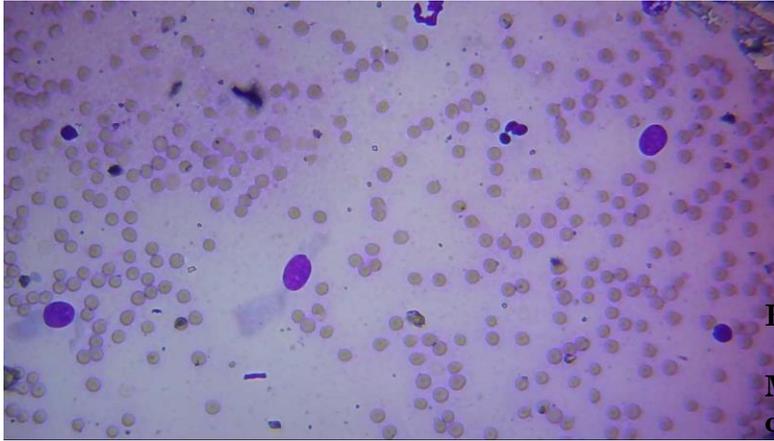


Foto Nro. 09
Microfotografía
optica, útero bovino 400
X se observa células y
neutrófilos
endometriales



Fotos Nro. 10

Microfotografía
óptica, útero bovino
400 X se observa
células y neutrófilos
endometriales y
polimorfo nucleares
neutrófilos.

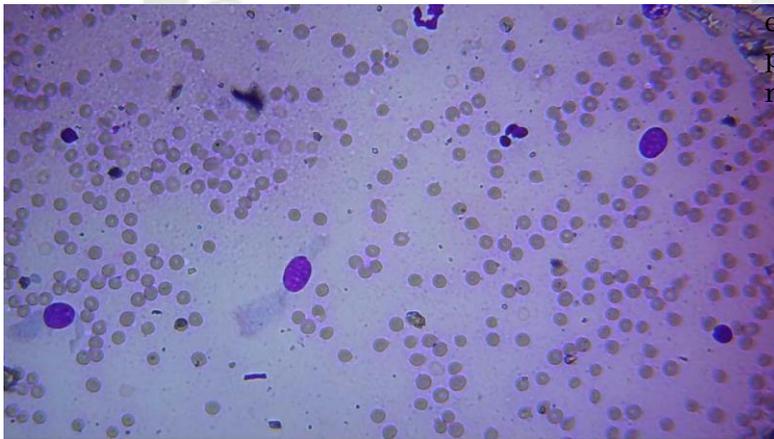


Foto Nro. 11

Establos
muestreados