



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA



DIAGNÓSTICO DE LA ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA EN
VACAS BROWN SWISS POST PARTO, MEDIANTE LA TÉCNICA
RÁPIDA DE CYTOTAPE

TESIS

PRESENTADA POR:

MIRIAN MIGUELINA GUTIERREZ PACCO

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2023



DEDICATORIA

A DIOS por ser mi fuerza, mi sustento, mi guía por haberme dado la oportunidad de concluir mis estudios y haberme acompañado durante todo el proceso. A Dios porque solo a él debo el éxito de mi vida académica.

Con amor y gratitud para mis padres:

A mi padre Santos Gutiérrez; quien mediante su amplia visión y sabiduría me enseñó a enfrentar el mundo que veía difícil, por ser ese órgano formativo permanente de mi proceso de profesionalización, sacrificando todo para lograr forjarme profesional.

A mi madre María Pacco; por haberme brindado su apoyo incondicional en los momentos más difíciles dejándolo todo por mi formación y la de mis hermanos.

A mis hermanos Judith, Cynthia y Ulises pues cada uno me motivó a seguir siempre adelante y me alertaron.

MIRIAN MIGUELINA



AGRADECIMIENTOS

A Dios por ser mi guía y acompañarme en el transcurso de mi vida, brindándome paciencia y sabiduría para culminar con éxito mi carrera profesional.

A mi Familia por ser un apoyo incondicional y por todo el esfuerzo y sacrificio que hicieron por mí para que pudiera realizar mis sueños, gracias por confiar en mí y darme tanto apoyo.

A mis maestros de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, quienes me brindaron enseñanza y sabiduría.

A la Dra. Nubia Lilian Catacora Flores; por su paciencia, orientación y asesoría para el desarrollo y culminación de este trabajo de investigación. Mi reconocimiento y gratitud, por su apoyo incondicional durante este tiempo.

A los miembros del jurado calificador conformado por: M.Sc. Domingo Alberto Ruelas Calloapaza, MVZ. Daniel Hermilio Ramos Dueñas, M.Sc. Hugo Vilcanqui Mamani, por su tiempo y guía para la elaboración de esta investigación.

Al jefe del programa vacunos del Centro Experimental de Chuquibambilla, por su apoyo y paciencia a la hora de permitir la realización de esta investigación.

A mis Amigos, quienes fueron fuente inagotable de apoyo, confidencialidad y sustento emocional a lo largo de todos estos años.

A todas aquellas personas, colegas y amigos que me apoyaron con sus valiosas sugerencias en el desarrollo del estudio.

MIRIAN MIGUELINA



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

RESUMEN 10

ABSTRACT..... 11

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 12

1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN 14

1.2.1. Objetivo general..... 14

1.2.2. Objetivos específicos 14

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN..... 15

2.1.1. Antecedentes nacionales 15

2.1.2. Antecedentes internacionales..... 15

2.2. MARCO TEÓRICO 18

2.2.1. Anatomía y fisiología del aparato reproductor de la hembra bovina.... 18

2.2.2. Tejido del útero 18

2.2.3. Inmunología uterina..... 21



2.2.4. Infección uterina postparto y patogenia de endometritis	22
2.2.5. Fisiología del puerperio	24
2.2.6. Endometritis subclínica.....	25
2.2.7. Diagnóstico de la endometritis	26
2.2.8. Comparación entre las diferentes técnicas de diagnóstico.....	33

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MEDIO EXPERIMENTAL.....	34
3.1.1. Ubicación.....	34
3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL.....	35
3.2.1. Recurso Biológico.....	35
3.2.2. Material de laboratorio.....	36
3.2.3. Material de campo.	36
3.2.4. Otros Materiales.....	37
3.2.5. Recopilación de datos	37
3.2.6. Examen Clínico.....	37
3.3. METODOLOGÍA.....	38
3.3.1. Preparación del animal.....	38
3.3.2. Preparación del Cytotape	38
3.3.3. Toma de muestra citológica	38
3.3.4. Tinción Wright.....	39
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	40

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. EVALUACIÓN DE LA CITOLOGÍA ENDOMETRIAL.....	41
---	-----------



4.1.1. Identificación de las células polimorfonucleares – neutrófilos (PMN-N).	41
4.1.2. Proporción de células polimorfonucleares-neutrófilos en vacas Brown Swiss	42
4.2. FRECUENCIA DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA	44
V. CONCLUSIONES	47
VI. RECOMENDACIONES	48
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
ANEXOS	58

Área: Salud animal.

Tema: Endometritis subclínica en vacas Brown Swiss post parto.

Fecha de sustentación: 13 de enero de 2023



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Centro Experimental Chuquibambilla a Universidad Nacional del Altiplano Puno, <i>Google Maps</i> , 2023.	35
Figura 2.	Ilustración esquemática del proceso de preparación de muestras (Sadeghi,2022).....	39
Figura 3.	Citología endometrial con la tinción Wright, observada con una microscopía de 400X a) Abundantes células polimorfonucleares – neutrófilos (PMN-N) b) Regular cantidad de PMN-N c y d) Escasa cantidad de PMN-N.....	41
Figura 4.	Procedimiento del armado a). materiales b y c). colocación de la varilla Sani-Shield d). final del armado.....	58
Figura 5.	Fase 1: a). Ecógrafo que se utilizó b). Vaginoscopio con cámara c). evaluación ginecológica empleando ambos equipos. Fase 2: d). análisis laboratorio.....	59
Figura 6.	Citología endometrial en vacas Brown Swiss pos parto.....	60
Figura 7.	Diagnóstico de endometritis subclínica en vacas Brown Swiss	61
Figura 8.	Muestras de citología endometrial en primíparas a). cel. endometriales b). células polimorfo nucleares (PMN-N).	62
Figura 9.	Muestras de citología endometrial de múltiparas a). cel. endometriales b). células polimorfo nucleares (PMN-N).	63
Figura 9.	Análisis estadístico usando Stata.....	66



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Comparación de vacas con endometritis subclínica	16
Tabla 2.	Categorización de patógenos aislados frecuentemente de enfermedades uterinas.....	24
Tabla 3.	Comparación entre las diferentes técnicas de diagnóstico de patologías uterinas.....	33
Tabla 4.	Conteo de células polimorfonucleares-neutrófilos de vacas Brown Swiss (primíparas y multíparas) con 31 a 37 días post parto.....	43
Tabla 5.	Frecuencia general de endometritis subclínica en vacas post parto.....	45
Tabla 6.	Datos de los animales en estudio	64
Tabla 7.	Operacionalización de variables	65
Tabla 8.	Identificación de variables en estudio.....	65
Tabla 9.	Estadística descriptiva células polimorfo nucleares	66



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

%:	Porcentaje
m.s.n.m:	Metros Sobre el Nivel del Mar
PMN:	Polimorfo Nuclear
N:	Neutrófilo
ES:	Endometritis Sub Clínica
CT:	Cytotape
PMN%:	La proporción de leucocitos polimorfo nucleares en relación con todas las células nucleadas
CL:	Cuerpo lúteo
SCE:	Endometritis subclínica
DPP:	Días posparto
US:	Ultrasonido
CC:	Condición corporal
FCV:	Flujo cervicovaginal



RESUMEN

La endometritis subclínica se ha definido como la inflamación del endometrio con ausencia de signos clínicos. El objetivo del presente trabajo fue diagnosticar endometritis subclínica en vacas Brown Swiss post parto mediante la técnica rápida del cytotape. Se utilizaron 12 vacas de raza Brown Swiss del Centro Experimental Chuquibambilla de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, la investigación se desarrolló durante los meses de diciembre del 2021 a febrero del 2022. Las vacas estuvieron clínicamente sanas, con un periodo post parto de 31 a 37 días y con antecedentes de parto normal. Se realizó la evaluación ginecológica mediante vaginoscopía y ecografía para evaluar el estado de salud del aparato reproductivo. Las muestras para la evaluación de la citología uterina fueron tomadas mediante la técnica rápida del cytotape. Las muestras se extendieron en las láminas portaobjetos y se secaron por 5 minutos en el ambiente. La evaluación citológica se realizó en el laboratorio de patología clínica de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano. Las muestras fijadas en las láminas fueron coloreadas mediante la técnica de tinción de Wright para observar la presencia de células polimorfonucleares y el conteo respectivo. Se observó una proporción de células polimorfonucleares del 0 al 63.95% en vacas de 31 a 37 días post parto. La frecuencia de endometritis subclínica encontrada fue de 33.3%. En conclusión, la técnica rápida de Cytotape, como método sencillo y rápido, se puede utilizar como una alternativa en citología uterina permitiendo la identificación de células polimorfonucleares con mínima contaminación de glóbulos rojos.

Palabras clave: Citología, Cytotape, Endometritis, Polimorfo nucleares, Vaca



ABSTRACT

Subclinical endometritis has been defined as inflammation of the endometrium in the absence of clinical signs. The objective of the present work was to diagnose subclinical endometritis in postpartum Brown Swiss cows using the rapid cytotape technique. Twelve Brown Swiss cows from the Chuquibambilla Experimental Center of the Faculty of Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, were used. The research was carried out from December 2021 to February 2022. The cows were clinically healthy, with a postpartum period of 31 to 37 days and a history of normal calving. Gynecological evaluation was performed by vaginoscopy and ultrasonography to evaluate the health status of the reproductive tract. Samples for uterine cytology evaluation were taken by the rapid cytotape technique. The samples were spread on slides and dried for 5 minutes in the environment. The cytological evaluation was performed in the clinical pathology laboratory of the Faculty of Medicina Veterinaria y Zootecnia of the Universidad Nacional del Altiplano. The samples fixed on the slides were stained by Wright's staining technique to observe the presence of polymorphonuclear cells and the respective count. A proportion of polymorphonuclear cells was observed from 0 to 63.95% in cows from 31 to 37 days post parturition. The frequency of subclinical endometritis found was 33.3%. In conclusion, the rapid Cytotape technique, as a simple and fast method, can be used as an alternative in uterine cytology allowing the identification of polymorphonuclear cells with minimal contamination of red blood cells.

Keywords: Cytology, Cow, Cytotape, Endometritis, Polymorpho nuclear.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La población total de vacunos en el Perú es de 5.2 millones de cabezas (CENAGRO, 2012) observándose un incremento de 14.7% y 35.3% en comparación a los años 1994 y 1972, respectivamente. El 63.9% de los vacunos son Criollos, siendo las razas predominantes Brown Swiss (17.6%), Holstein (10.3%) y Cebú (3.4%). El 73% se encuentra en la sierra, 12% en la costa y 15% en la selva (CENAGRO, 2012). En la región Puno, la crianza de vacunos de raza Brown Swiss, representa el 36,4% del total de la población vacunos (IV CENAGRO,2012 y MINAGRI,2017). Esta raza se ha adaptado al medio ambiente del Altiplano Peruano, ubicado sobre los 3830 m.s.n.m. donde destacan en la crianza de vacunos de Brown Swiss en las provincias de Puno, Melgar, Azángaro y otras provincias (CENAGRO, 2012),Así mismo, en la provincia de Melgar el 74 % de los hogares se dedica a actividades agropecuarias y la actividad agrícola se basa en la producción de pastos y forrajes, que sostienen la cadena de producción de leche de manera preponderante y en menor medida el engorde de ganado vacuno, ovino, animales menores, pudiendo así satisfacer la creciente demanda (Ureta, 2019).

En la actualidad, la eficiencia reproductiva del ganado lechero ha disminuido en todo el mundo en los últimos años. por otra parte, la industria láctea se ha enfocado en obtener una alta productividad basada en una combinación y optimización de un mejor manejo, nutrición efectiva y selección genética intensiva (Lucy, 2001). Además, los ganaderos saben que la eficiencia reproductiva de un hato lechero es un componente importante de la rentabilidad en sus establos (Bisinoto *et al.*, 2012).



En adición, el efecto de las enfermedades uterinas en el desempeño reproductivo durante el período posparto es uno de los períodos más importantes en la vida reproductiva de una vaca. La mayoría de los problemas reproductivos en bovinos ocurre durante este período, debido a que durante el parto se causa daño a las células epiteliales de la mucosa del canal de parto, la lesión predispone la contaminación bacteriana del útero en su gran mayoría de las vacas lecheras (Leen, 2022), es más, el período posparto afecta negativamente la producción y reproducción futuras de las vacas lecheras. (Chaco, 2020). La meta final debe ser tener una vaca que tiene un parto normal y avanza a través del período postparto con tan pocos problemas como sea posible (Palmer, 2015).

La endometritis es un proceso inflamatorio que afecta a la capa más interna del útero, el endometrio y se define como la inflamación del endometrio sin signos clínicos visibles, de modo que su diagnóstico implica el uso métodos más invasivos, que generalmente se determina por citología endometrial (Sheldon, 2009). Aproximadamente el 50% de los bovinos lecheros desarrollan la enfermedad uterina después del parto (Bogado, 2017). Por esta razón, se considera una de las enfermedades más importantes y desafiantes de la industria láctea moderna (Bogado, 2016).

Existen diferentes técnicas de diagnóstico de endometritis subclínica, de las cuales la citología endometrial es considerada la mejor técnica de diagnóstico debido a su facilidad y buena confianza en sus resultados (Kasimanickam, 2004). Al mismo tiempo, la más utilizada en el ganado lechero tanto en el campo como a nivel investigativo. La evaluación de la proporción de células polimorfonucleares (PMN%) en láminas de citología es el sello distintivo del diagnóstico de la endometritis subclínica (ESC), hasta el punto de que algunos autores se refieren a la ESC bovina como "endometritis citológica". Sin embargo, recientemente se ha desarrollado una técnica novedosa,



Cytotape (CT), que permite tomar muestras del endometrio incluso en el momento de la inseminación artificial (IA) (Bogado, 2017).

1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Por consiguiente, el objetivo de nuestra investigación fue diagnosticar la endometritis subclínica en vacas Brown Swiss postparto utilizando la técnica rápida de Cytotape en el Centro Experimental Chuquibambilla,

1.2.1. Objetivo general

Diagnosticar la endometritis subclínica en vacas Brown Swiss post parto, mediante la técnica rápida de cytotape en el Centro Experimental Chuquibambilla.

1.2.2. Objetivos específicos

- Evaluar la citología endometrial, mediante la técnica de cytotape en vacas Brown Swiss post parto del Centro Experimental Chuquibambilla.

- Evaluar la frecuencia de endometritis subclínica en vacas Brown Swiss primíparas y multíparas post parto del Centro Experimental Chuquibambilla.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1. Antecedentes nacionales

La prevalencia de endometritis subclínica no muestra diferencias estadísticas, así mismo se observa una mayor tendencia a desarrollar la enfermedad en el período entre 57 y 79 días, hecho no menor ya que es el momento en que las vacas están recibiendo las inseminaciones para lograr la preñez y la endometritis subclínica repercute en forma negativa sobre la reproducción (Reategui, 2014).

La prevalencia general de la endometritis subclínica en vacas post parturientas a los 21 a 33 días diagnosticadas mediante la técnica del Cytobrush fue de 28.57%. La prevalencia de endometritis en vacas de primero y de segundo parto fue baja comparado a las de tercero y cuarto parto que se son positivos a endometritis subclínica ($P \leq 0.01$). El grado de inflamación en el tracto reproductivo de las vacas de segundo, tercero y cuarto parto fue mayor al de primer parto ($P \leq 0.01$) (Mamani, 2018).

2.1.2. Antecedentes internacionales

La salud reproductiva constituye el núcleo de estudio de gran parte de las investigaciones por desempeñar un importante rol para alcanzar una correcta performance reproductiva (S.J.,2008). 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, 2010).

Las vacas con endometritis subclínica tuvieron una tasa de preñez relativa de 41 y 51% (razón de riesgo de preñez de 0.59 y 0.49), respectivamente, en comparación con las vacas sin endometritis subclínica. Concluye que la endometritis subclínica, diagnosticada por CE o ecografía. (Kasimanickam, 2004).

Resumen de estudios de endometritis subclínica en todo el mundo, considerando diferentes días postparto, umbrales para el porcentaje de células polimorfo nucleares y prevalencia respectiva.

Tabla 1.

Comparación de vacas con endometritis subclínica

Referencia	País	Días pos parto	PMN (%)	Prevalencia (%)
Kasimnickam et al.(2004)	E.E.U.U.	20-33	>18	45
		34-47	>10	41
Dubuc et al. (2010)	Canadá	35+-3		13.5
		56+-3		9.6
Plontzke et al.(2010)	Argentina	18-38	>5	38
		32-52	>5	19
McDougall et al.(2011)	Nueva	29+-2.4	29	
	Zelanda	43+-2.3	23	
Bogado Pascotini et al. (2016)	Bélgica	>60		27.8

Fuente: Bogado, (2017).



La concordancia entre el porcentaje de PMN en ambos métodos fue buena $r = 0,84$ (0,79; 0,87) con un error estándar menor del 2%. Ambos métodos produjeron una celularidad total similar ($P = 0,62$). Cytotape produjo frotis de mejor calidad con más células intactas ($P < 0,01$), mientras que las muestras que fueron tomadas por CB tenían más probabilidades de ser sanguinolentas ($P < 0,01$). Por lo tanto, los métodos de CT y CB produjeron frotis con un porcentaje de PMN similar y un número total de células, pero la TC proporcionó frotis de mayor calidad y significativamente menos contaminación de la sangre (Bogado, 2016).

En la investigación se trabajó con 1,625 muestras diagnosticadas cytotape que dio como resultado en la IA fue del 1 % de PMN. La prevalencia de SCE en la IA en vacas lecheras fue del 27,87%. La tasa de concepción en las muestras positivas de SCE fue del 32,73% frente al 47,09% en las muestras negativas ($P = 0,0001$). Una IA con SCE negativo tenía 1,79 (IC 1,37-2,32) más posibilidades de quedarse preñada que una positiva (Bogado, 2017).

El cytotape proporcionó la muestra de mayor calidad, más células intactas que el cytobrush. Por lo tanto, el cytotape resultó ser comparativamente la mejor técnica para obtener muestras de citología endometrial (Anchal, 2020).

La endometritis subclínica también se conoce como endometritis citológica sobre la base de células polimorfo nucleares (PMN) elevadas en las muestras de citología endometrial. La endometritis se indica 21-33 d después del parto si los leucocitos superan el 18% y 34-47 días después del parto si el porcentaje supera el 10% (Vinita, 2018).



2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Anatomía y fisiología del aparato reproductor de la hembra bovina

El aparato genital de la vaca es el órgano de reproducción que está capacitado para la producción de ovocitos y facilita su unión con los espermatozoides, así como el posterior alojamiento del embrión y el feto hasta el nacimiento. Para su estudio el aparato reproductivo de la hembra se ha clasificado en órganos genitales externos e internos. (Gázquez A. y Blanco, 2004) El útero constituye uno de los órganos de la porción tubular de los genitales internos del sistema reproductor. Se localiza en la cavidad pelviana, se dispone entre la vagina y el oviducto y se divide en tres regiones anatómicas diferenciadas: un cuello o cérvix, un cuerpo y cuernos bilaterales.

2.2.2. Tejido del útero

2.2.2.1. Endometrio

Histológicamente la pared uterina se organiza en tres capas o tunicas, desde la luz hacia el exterior: la mucosa-submucosa (endometrio), la muscular (miometrio) y la serosa (perimetrio). El endometrio o mucosa- submucosa, 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. (Dellmann, 1993).

En el endometrio se describen dos regiones estructural y fisiológicamente diferentes denominadas zona funcional y zona basal. La primera, más superficial, se degenera y pierde total o parcialmente durante cada ciclo estral. La zona basal, más profunda, persiste a lo largo de todo el ciclo, y regenera a la zona funcional perdida. El epitelio de revestimiento es cilíndrico pseudoestratificado y/o cilíndrico simple, compuesto por células ciliadas y células secretoras. El tejido conectivo subepitelial es laxo, con abundantes células propias del tejido conectivo como fibroblastos, macrófagos, mastocitos; y células migrantes provenientes de la circulación sanguínea como polimorfo nucleares neutrófilos (PMN N), eosinófilos, linfocitos y células plasmáticas (Dellmann, 1994). Es característica de esta túnica la presencia de engrosamientos locales con predominio de fibroblastos y abundante irrigación, denominados carúnculas. Además, distribuidas por todo el endometrio a excepción de las carúnculas, se observan glándulas tubulares ramificadas arrolladas. El miometrio es la túnica media o muscular organizada en dos capas de músculo liso. Una más interna dispuesta circularmente y otra más externa distribuida longitudinalmente. Entre ambas se destaca la presencia de gran cantidad de vasos sanguíneos y linfáticos, región que se conoce como capa o zona vascular. El perimetrio es la túnica serosa, y como tal se compone de un tejido conectivo laxo recubierto por un epitelio plano simple o mesotelio peritoneal (Rinaudo, 2012).

2.2.2.1.1. Citología Uterina Post Parto

Esta metodología nos permite recolectar células que se encuentran en el tracto reproductor de la hembra. La citología uterina consiste en realizar un raspado de las paredes endometriales y visto desde el microscopio se observan diferentes tipos de células



las cuales son clasificadas como células anucleadas, superficiales, intermedias, parabasales y basales (Vallejo, *et al.*, 2014).

2.2.2.1.2. Modificaciones histológicas durante el ciclo sexual

Pueden diferenciarse tres fases:

- a) Fase proliferativa: la secreción de estrógenos se caracteriza por un aumento de grosor en el endometrio debido a la hipertrofia e hiperplasia de las glándulas y al alargamiento de las arterias helicinas (Sternberg, 1997).
- b) Fase secretora: La secreción de progesterona y se caracteriza porque el endometrio alcanza su máximo grosor y hay un desarrollo máximo de las glándulas y un alargamiento máximo de las arterias. En esta fase es en la que aparece el edema endometrial. Esta es la situación óptima para recibir al óvulo fecundado. Si eso no ocurre, se pasa a la siguiente fase (Gázquez, 2004).
- c) Fase de involución: la desaparición de los estímulos hormonales y se caracteriza porque hay una disminución en el grosor del endometrio por una involución de glándulas y arterias, volviendo a la fase de reposo o preproliferativa (Gázquez, 2004).

2.2.2.2. Miometrio

Está constituido por dos capas de músculo liso, una circular interna muy gruesa y otra longitudinal externa más fina, entre ambas se desarrolla una zona con gran cantidad de vasos sanguíneos (Hafez, 2005).



2.2.2.3. Perimetrio

Está constituido por tejido conectivo laxo muy vascularizado con fibras musculares lisas que aparece recubierto por un mesotelio (Azawi, 2008).

2.2.3. Inmunología uterina

Las células inflamatorias polimorfonucleares (PMN), los monocitos sanguíneos y los macrófagos tisulares se consideran los "fagocitos profesionales" de las defensas celulares contra los microorganismos patógenos. La fagocitosis implica quimiotaxis, adherencia y fijación de los PMN a los antígenos de la superficie celular que presenta el organismo antes de que éste sea ingerido por el fagocito y finalmente digerido. En el útero, la defensa celular contra los contaminantes bacterianos corre a cargo de los leucocitos uterinos (Frank *et al.*, 1983).

En la etapa post parto, el sistema inmune innato es el mecanismo predominante encargado de la defensa temprana del útero en involución y es facilitada por los leucocitos polimorfo nucleares (PMN) (Hammon *et al.*, 2006). De los PMN, los neutrófilos son la primera línea de defensa contra los patógenos en los procesos infecciosos (Nathan, 2006). La acción de los neutrófilos, depende de un adecuado reclutamiento y una adecuada activación de los mismos. Estos dos procesos son considerados puntos críticos durante las primeras etapas de la infección (Hill *et al.*, 1984). Ambos procesos están controlados por la acción de quimiocinas como el factor activador de plaquetas (PAF), el complemento 5a (C5a), el leucotrieno B4 (LTB4) y la interleucina (IL-8). Estas quimiocinas ejercen su función a través de receptores acoplados a proteína G en la membrana plasmática (Boulay *et al.*, 1997).



2.2.3.1. Células polimorfonucleares.

Tras la infección intrauterina experimental, la población de población de PMN en el lumen uterino suele aumentar (Watson *et al.*, 1990). En general, se encuentran más PMN en el útero y su lumen durante el Metaestro en comparación con otras fases del ciclo estral (Faundez *et al.*, 1994).

Los neutrófilos son células polimorfonucleares que forman aproximadamente el 20 a 30% de todos los glóbulos blancos que circulan en la sangre de la vaca y oveja. Tienen una vida media corta de horas y se producen en la médula ósea de los huesos largos, su núcleo tiene 3 a 5 lóbulos unidos entre sí por bandas delgadas de cromatina, son células fagocíticas que migran hacia los sitios en donde se encuentra el mayor gradiente de factores quimiotácticos principalmente los fragmentos (C5a) que derivan del quinto componente del sistema de complemento, estas células contienen abundantes enzimas proteolíticas encerradas en vacuolas (lisosomas) citoplasmáticas, en las cuales se lleva a cabo la degradación enzimática de los microorganismos fagocitados. Tienen alrededor de 10 a 20 μm de diámetro, tienen un citosol finamente granular y en el centro un núcleo irregular o en forma de salchicha y en el citosol poseen gránulos azurófilos, secundarios y terciarios (García, 1997; Tizard, 2018).

2.2.4. Infección uterina postparto y patogenia de endometritis

El útero en el peri parto y postparto es infectado por una invasión generalmente ascendente de microorganismos provenientes del cérvix, vagina, vestíbulo y región perineal. Se ha determinado que alrededor del 90 % de las vacas adquieren infección uterina durante las dos primeras semanas posparto (Blanch, 1994). Esta infección se da por una gran variedad de bacterias aeróbicas y anaeróbicas, entre otros microorganismos, siendo los más comunes *Escherichia coli*, *Arcanobacter pyogenes*, *Corynebacterium*



bovis, *Pseudomona spp.*, *Clostridium perfringens*, *Fusubacterium necrophorum*, *Bacterioides melaninogenicus*, *Prevotella spp.*, *Streptococcus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *Staphilococcus epidermidis*, *Micrococcus spp.*, y *Herpesvirus bovino tipo 4* (LeBlanc *et al.*, 2002; Kasimanickam *et al.*, 2004; Alba Gomez *et al.*, 2006; Drillich, 2007; Sheldon *et al.*, 2008; Williams *et al.*, 2008; Sheldon *et al.*, 2009; Rinaudo *et al.*, 2009; Westermann *et al.*, 2010; Bartolomé *et al.*, 2011). La mayor parte de estas infecciones son resueltas, en general, por mecanismos de defensa del útero (Sheldon *et al.*, 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 *et al.*, (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 *et al.*, 2006). Esta resistencia a los mecanismos de defensa ocurre en aproximadamente un 10 % de los animales provocando una infección con la consecuente inflamación del endometrio sin afectar el resto de las tunicas (Bartolomé *et al.*, 2011).

Tabla 2.

Categorización de patógenos aislados frecuentemente de enfermedades uterinas

Categoría Bacteriana		
Patógenos comunes asociados con lesiones endometriales	Patógenos no comunes aislados de endometritis	Patógenos uterinos oportunistas no asociados con endometritis
<i>Trueperella pyogenes</i>	<i>Acinetobacter spp.</i>	<i>Aerococcus viridans</i>
<i>Prevotella spp.</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Clostridium butyricum</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>C. perfringens</i>
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Haemophilus somnus</i>	<i>Corynebacterium spp.</i>
<i>F. nucleatum</i>	<i>Mannheimia haemolytica</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	<i>Peptostreptococcus spp.</i>	<i>Micrococcus spp</i>
	* <i>Staphylococcus aureus</i> C ⁺	<i>Providencia rettgeri</i>
	<i>Streptococcus uberis</i>	<i>P. stuartii, Proteus spp.</i>
		<i>Propionobacterium granulosa</i>
		** <i>Staphylococcus spp. C⁻</i>
		<i>Streptococcus spp. α hemolít.</i>
		<i>Coliformes, Aspergillus spp.</i>
		<i>Hongo, Bacteroides spp.</i>
		<i>Aeromonas spp.</i>

Fuente: Sheldon *et al.*, (2002).

*Coagulasa positivo **Coagulasa negativo

2.2.5. Fisiología del puerperio

El puerperio se define como el tiempo transcurrido entre el parto y la finalización de la involución uterina. Durante este periodo, ocurren simultáneamente cuatro eventos importantes: a) la involución uterina, b) la eliminación de la contaminación bacteriana, c) la regeneración del endometrio y d) el retorno de la actividad cíclica ovárica (Sheldon, 2004). Algunos autores consideran que este proceso tiene una duración de 25 a 30 días (Heppelmann *et al.*, 2013; Morrow *et al.*, 1966). Otros autores sostienen que el periodo



de involución uterina consta de 28- 35 días (Kindahl *et al.*, 1999; Sheldon *et al.*, 2006). Uno de los eventos importantes del puerperio es el retorno temprano de la actividad cíclica, ya que el incremento de los niveles de estrógeno permite que el útero sea más resistente a la infección (Sheldon, 2006).

2.2.6. Endometritis subclínica

El endometrio de la vaca posee poderosos mecanismos de defensa que lo protegen de agentes invasivos inespecíficos, comenzando por la cubierta de células epiteliales pseudoestratificadas, químicamente por el moco secretado por las glándulas endometriales e inmunológicamente por la acción de células polimorfonucleares y anticuerpos humorales; por otro lado, la respuesta hormonal con la PGF produciendo lisis del cuerpo lúteo (CL) incrementa la respuesta inflamatoria incrementando la función de los neutrófilos y los estrógenos favorecen la fagocitosis bacteriana como también la epitelización y vascularización endometrial, induce la formación de moco a nivel cervical y produce contractibilidad uterina; aunque esto a veces se suprime por los niveles de progesterona elevados (Sheldon, 2004).

Los factores de riesgo relacionados con la endometritis son: el grado de contaminación del medio ambiente, el parto gemelar, la retención de placenta y la presentación de partos distócicos (Sheldon *et al.*, 2004; Bell y Roberts, 2007). Así también, alteraciones como el desplazamiento del abomaso a la izquierda, hipocalcemia y cetosis han sido asociadas a la presentación de infecciones uterinas (Sheldon *et al.*, 2004; Bell y Roberts, 2007). En general, cualquier condición que altere la inmunidad post parto, se convierte en un factor predisponente para la presentación de enfermedades uterinas y el deficiente desempeño reproductivo (Sheldon *et al.*, 2004). Esta patología



afecta del 30 al 50% de las vacas dentro de los primeros 60 días en lactación luego del período estimado de involución uterina (LeBlanc, 2008).

2.2.7. Diagnóstico de la endometritis

La citología endometrial es una práctica que recientemente se ha comenzado a utilizar para la evaluación de la salud uterina en bovinos. 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 (Palmer, 2006)

2.2.7.1. Diagnóstico por Cytotape

Es una técnica innovadora para diagnosticar endometritis citológica en vacas lecheras que permite tomar muestras del endometrio en el momento de la inseminación artificial teniendo como resultado células endometriales de buena calidad. La técnica consiste en una cinta adhesiva de papel (1,5 cm) adaptada a la punta de la vaina de un catéter de inseminación normalmente cargado con una pajuela de semen, y cubierto con una funda protectora. Para tomar una muestra citológica endometrio uterino con el cytotape, este es liberado de la funda protectora en el lumen uterino luego de atravesar el cérvix en forma convencional (durante la IA). Luego, se rota el CT en la región dorsal del cuerpo uterino con una leve presión del dedo índice a través del recto. Posteriormente, se realiza la IA, el CT se cubre nuevamente con la funda protectora, y la pistola de inseminación es cuidadosamente removida. Finalmente, el CT (con un alto contenido de material celular adherido) es rotado sobre una lámina porta objetos, secado al aire y teñido en forma convencional (Wright-Giemsa modificado) (Bogado, 2017).



2.2.7.2. Diagnóstico por Cytobrush

Para este diagnóstico se utiliza un pequeño cepillo unido a un mango diseñado originalmente para la citología cervical. El mango puede cortarse a 3 cm o menos y luego insertarse en una vaina de acero inoxidable de 65 cm de largo por 4 mm de diámetro. Se utiliza un tubo de acero inoxidable de 5-6 mm de diámetro y 50 cm de largo protegido por una funda sanitaria de plástico para proteger el paso de los instrumentos a través del cérvix y la vagina, respectivamente. Una vez en el útero, el instrumento se gira para recolectar material celular de la superficie del endometrio, que luego se extiende directamente sobre portaobjetos y se prepara para el análisis microscópico. Las evaluaciones citológicas de la severidad de la inflamación se hacen determinando el porcentaje de neutrófilos contando 10 campos a 40X (Chesta, 2008).

2.2.7.3. Diagnóstico por lavado uterino

Este diagnóstico consiste en la infusión de 20-60 ml de solución salina al 0,9 % dentro del lumen del útero usando una pipeta plástica estéril seguido de un masaje suave del útero antes de la aspiración del fluido a través de la misma pipeta de infusión. Las muestras de fluidos son centrifugadas, se recupera el desecho celular, se realiza un extendido y se analiza en el microscopio después de teñirla con una tinción de Wright-Giemsa modificada. La citología endometrial, basada en la presencia de células de la inflamación, es una forma aceptada de evaluar la enfermedad uterina en bovinos (Miller, 1980).

2.2.7.4. Diagnóstico por biopsia y/o el cultivo.

Este diagnóstico se basa en el estudio bacteriológico uterino, han sido considerados los test diagnósticos de referencia para endometritis, sin embargo, la biopsia



uterina ha sido asociada con una disminución de la tasa de concepción al primer servicio e infecciones de cierta importancia más allá de las tres semanas post parto son invariablemente asociadas con una única bacteria: *Arcanobacterium pyogenes*. Aún en las vacas que tienen un post parto normal, el diámetro de los cuernos uterinos no alcanza el estado anterior a la preñez de 4-5cm de diámetro hasta los 25-30 días y en las vacas anormales este período puede extenderse hasta los 30-35 días (Sanchez, 2011). La reparación histológica del endometrio y la involución cervical requieren 42-50 días y 40-45 días para completarse, respectivamente. Casi todas las vacas tienen infecciones bacterianas hacia el día 3-4 post parto, disminuyendo al 9 % de las vacas hacia el día 45-60. Además, el *A. pyogenes* y otros patógenos comunes, incluyendo *Escherichia coli* y *Streptococcus sp* han sido aislados en casos de endometritis, pero sólo *A. pyogenes* ha sido consistentemente asociado con inflamación uterina y un menor desempeño reproductivo (Christensen, 2009)

2.2.7.5. Diagnóstico por palpación transrectal

Es probablemente la técnica de diagnóstico más empleada por los veterinarios. Además de ser considerado un método de diagnóstico de baja sensibilidad y especificidad (Palmer, 2008). La técnica usualmente involucra alguna evaluación del tamaño de los cuernos uterinos, simetría y textura y puede o no ser palpado el lumen uterino, usualmente indicativo de la presencia de líquido. Muchos casos de endometritis son simplemente mal diagnosticados cuando se emplea la palpación como único método de diagnóstico (Miller, 1980). Esta técnica de diagnóstico ginecológico suele emplearse principalmente para diagnosticar preñes en los 35 a 40 días, para establecer eventos futuros como el secado de la vaca o el próximo parto. Con esta técnica se puede conocer si el estado del hato es normal, si la fisiología de las vacas está adecuada, están preñando de forma regular y si



el útero se está recuperando como debe ser o si posiblemente es un útero patológico y necesita algún tratamiento, mediante la palpación rectal se puede diagnosticar algunos tipos de patologías uterina y patologías ováricas, pero siempre estas deben de ser corroborados con la ecografía (Gauna, 2007).

2.2.7.6. Diagnóstico por vaginoscopía.

La vaginoscopía es una técnica bastante precisa más precisa cuando se compara con la palpación rectal (Barlund *et al.*, 2008), pero a menudo poco utilizada. La evaluación mediante este dispositivo consiste en observación de la mucosa de la vagina y el cérvix, evaluándose su coloración y la presencia de exudado mucoso o purulento (Rinaudo, 2012). la sensibilidad de la vaginoscopía fue reportada como de 59 % vs. 22 % para la palpación transrectal. La presencia de pus o descargas mucopurulentas es muy útil para identificar vacas con endometritis. Usando el vaginoscopio pueden identificarse más vacas con descargas anormales, sin embargo, las exámenes con vaginoscopio realizadas antes de los 26 días post parto pueden resultar en un alto número de falsos positivos (Herath, 2005). Un estudio de 1.865 vacas procedentes de 27 establecimientos examinadas entre los 20 y 33 días post parto, mostró que la presencia de varios signos clínicos asociados con endometritis varió de acuerdo al tiempo de post parto en que fueron detectados. Estos investigadores evaluaron por palpación transrectal el diámetro del cérvix, simetría y diámetro de los cuernos y la presencia de fluido uterino; y la presencia de descargas uterinas, visibles por la vulva o mediante vaginoscopio. Utilizando un intervalo parto-preñez aumentado, sólo las descargas purulentas externamente visibles o el diámetro cervical mayor a 7,5 cm luego de 20 días post parto, o una descarga mucopurulenta visible luego de 26 días post parto usando vaginoscopio, fueron útiles para



identificar vacas con endometritis. Sin vaginoscopio, el 44 % de los casos habrían sido no diagnosticados (Christensen, 2009).

El diagnóstico de endometritis puede verse alterado por la presentación de vaginitis debida a cambios conformacionales del periné y la variación del volumen de flujo encontrado durante la etapa del estro (Kasimanickam *et al.*, 2004). Numerosas vacas experimentan un deterioro de su performance reproductiva debido a endometritis subclínicas. La técnica de diagnóstico óptima debe ser útil para identificar casi todas las vacas con riesgo a tener una performance reproductiva menor debido a endometritis clínica o subclínica y debe ser simple y fácil de hacer (Dobson, 2006).

2.2.7.7. Ultrasonografía

Estudios demostraron el empleo del vaginoscopio y la palpación transrectal como técnicas de diagnóstico que consumen menos tiempo y son más económicas que la ultrasonografía transrectal, sin embargo la ultrasonografía posee mayor sensibilidad y especificidad (Lambertz *et al.*, 2014). Las ultrasonografías son un método de diagnóstico por el cual se realiza la medición del lumen del útero y el engrosamiento del endometrio, a expensas de la especificidad, que las vacas con un diámetro del lumen uterino $<0,293$ cm y un grosor endometrial $<0,813$ cm fueron más propensas a ser negativas a las enfermedades endometriales (Miller, 1980). Sin embargo, esta técnica está muy utilizada, ya que puede verse fácilmente influenciada por la ubicación de la sonda en el cuerno uterino. En consecuencia, se considera que la ecografía no es precisa cuando no se acompañada de una citología endometrial. (Bogado, 2016)



2.2.7.8. Prueba de McDougall

La prueba de McDougall es un método usado en el diagnóstico de endometritis, que se basa en la evaluación macroscópica de la descarga vaginal en la etapa post parto. La muestra se obtiene mediante el empleo de un dispositivo comercial denominado Metrichcek®, el cual colecta el contenido del fondo de la vagina. Diversos estudios en hatos lecheros han demostrado que la prueba de McDougall tiene una buena capacidad diagnóstica de 96.2% sensibilidad y 77.6% de especificidad al ser comparado con el vaginoscopio, el cual tienen una sensibilidad y especificidad de 71.5% y 87% respectivamente. Y es considerada una técnica alternativa económica, no invasiva, efectiva, fácil, y rápida de operar en campo. A diferencia de otros exámenes como vaginoscopía, ultrasonografía o citología; cuyos requerimientos de tiempo y equipos pueden limitar su uso en los hatos lecheros por razones logísticas y económicas (McDougall *et al.* 2007).

2.2.7.9. Tiras colorimétricas de esterasa leucocitaria

La tira de esterasa leucocitaria se ha utilizado para el diagnóstico rápido de la inflamación en fluidos como la orina líquido pleural, líquido peritoneal y líquido cefalorraquídeo. La esterasa leucocitaria es un tipo de enzima producida por los neutrófilos y está asociada a la infección. Se ha utilizado como método indirecto para detectar la inflamación debido a su reacción con la sal diazoniun liberada indoxil que se oxida, dando lugar a un colorante azoico violeta; cuya intensidad está relacionada con el recuento de leucocitos. Con el fin de crear un método de diagnóstico "del lado de la vaca de diagnóstico "del lado de la vaca" para el Endometritis subclínica, Aunque los resultados obtenidos por tira de esterasa leucocitaria están positivamente correlacionados con los resultados de la citología endometrial inicialmente no se correlacionaron con las



probabilidades de embarazo. Sin embargo, en un amplio estudio reciente se encontró una fuerte correlación entre los resultados de la tira de esterasa leucocitaria y las probabilidades de quede preñada. En consecuencia, los autores consideraron la tira de esterasa leucocitaria como una alternativa válida para el diagnóstico del Endometritis subclínica en fincas ganaderas. Sin embargo, para recomendar el uso de reactivos de esterasa leucocitaria como método definitivo para diagnosticar Endometritis subclínica este método necesita ser perfeccionado (Bogado, 2016).

2.2.7.10. Tinción Wright

La Tinción de Wright fue diseñada al principio de la década de los noventas por James Homer Wright. Dicha tinción está compuesta por azul de metileno y eosina. Las estructuras con carácter ácido tales como los ácidos nucleicos o las proteínas ácidas son afines por compuestos básicos como lo es el azul de metileno contenido en la tinción. Por el contrario, las estructuras de carácter básico tales como la hemoglobina y otras proteínas básicas, son afines a compuestos ácidos; tales como la eosina contenida en la tinción por lo que a la vista estas estructuras tendrán un color rojo-rosado. La tinción de Wright, es de gran trascendencia clínica ya que gracias a ella es capaz de identificarse diversas estructuras en una célula, así como la morfología y en su caso patología celular no solo de las células del sistema inmunológico, sino de todas aquellas que componen la sangre ya sea en un paciente sano o con un estado patológico (Quiroga, 2014).

2.2.8. Comparación entre las diferentes técnicas de diagnóstico.

Tabla 3.

Comparación entre las diferentes técnicas de diagnóstico de patologías uterinas.

Técnica	Facilidad de uso	Tiempo al resultado	Sensibilidad relativa	Especificidad relativa
Palpación transrectal	++++	++++	+	+++
Vaginoscopia	+++	++++	+	+++
Biopsia endometrial	++	+	++	++++
Ultrasonografía	+++	++++	+	++++
Citología(lavado)	+	+	+++	++++
Citología (cytobrush)	+++	++++	+++	++++

Fuente: adaptado por palmer (2008).

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



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MEDIO EXPERIMENTAL

3.1.1. Ubicación

La investigación se realizó durante los meses de diciembre del 2021, a febrero del 2022 en el Centro Experimental Chuquibambilla, propiedad de la Universidad Nacional del Altiplano y conducido por la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Ubicado en el distrito de Umachiri, provincia de Melgar, departamento de Puno a 3918 m.s.n.m. a $14^{\circ}47'16.46''$, latitud Sur y a $70^{\circ}43'42.57''$, longitud Oeste; con una precipitación pluvial promedio de 3.94 mm/día; con una humedad relativa 80.65% (enero a mayo) y 1.36 mm/día con una humedad relativa 78.53% (junio a diciembre) y anual de 2.42 mm/día; con una temperatura máxima de 22.20°C en el mes de noviembre y una mínima de $-17.^{\circ}\text{C}$ en el mes de julio, con un promedio anual de 7.98°C , y una humedad relativa de 79.41% y como promedio anual (máximo 87.4 % y mínima de 68 %) (SENAMHI, 2019).

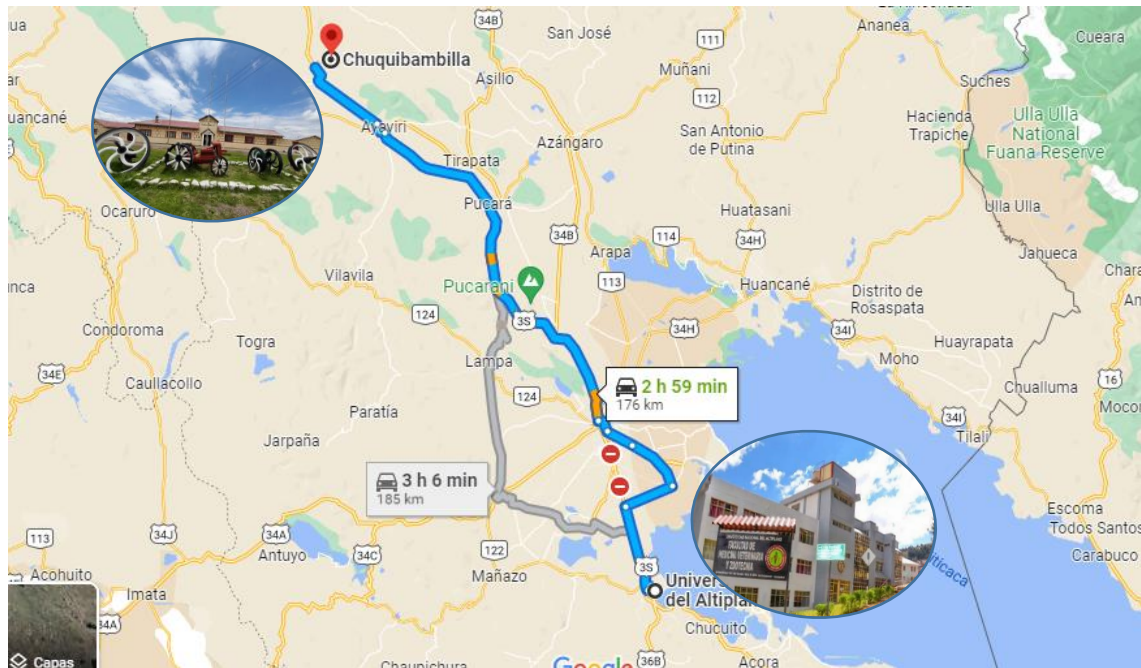


Figura 1. Centro Experimental Chuquibambilla a Universidad Nacional del Altiplano Puno, *Google Maps* ,2023.

3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL

3.2.1. Recurso Biológico

Se utilizaron vacas primíparas y multíparas de raza Brown Swiss del Centro Experimental Chuquibambilla.

3.2.1.1. Población y muestra

El Centro Experimental Chuquibambilla cuenta con un promedio de 70 de vacas Brown Swiss en producción, por lo que el muestreo fue por conveniencia, debido a la cantidad limitada de animales para este estudio. Considerándose 12 vacas, de las cuales 6 fueron primíparas y 6 multíparas bajo una crianza semi extensiva. Además, se consideraron los siguientes criterios de inclusión:



- Criterios de inclusión

En este estudio las vacas primíparas y multíparas de raza Brown Swiss, presentaban un periodo post parto de 31 a 37 días, con antecedentes de un parto normal y condición corporal de 2.75 a 3.75.

3.2.2. Material de laboratorio.

- Alcohol de 90°
- Fundas de inseminación artificial
- Aplicador de Cassou 0.25
- Cinta adhesiva cytotape)
- Varilla Sani-Shield de 8"
- Camisetas sanitarias
- Gel de ecógrafo
- Láminas porta objetos
- Tinción Wright
- Equipos.
- Microscopio óptico.
- Vaginoscopio con cámara
- ecógrafo

3.2.3. Material de campo.

- Cámara fotográfica
- Lapiceros
- Cuaderno de campo
- Marcador indeleble



- Caja de transporte
- Tablero
- Sogas

3.2.4. Otros Materiales.

- Tijeras quirúrgicas
- Pinza simple
- Guantes de látex
- Guantes obstétricos
- Papel toalla

3.2.5. Recopilación de datos

Datos de los registros reproductivos:

- Fecha de parto
- Número de partos

Otros datos

- Tipo de parto
- Sexo de la cría

3.2.6. Examen Clínico

Se realizó la evaluación ginecológica previamente, con un vaginoscopio con cámara seguidamente, de la ecografía para evaluar el estado de salud del aparato reproductivo. Es necesario resaltar, que se evaluó con la siguiente clasificación del flujo vaginal (DV): moco claro (VD-0), moco con motas de pus (VD-1) mucopurulenta (VD-



2) y purulenta (o fétida) (VD-3) fétida (VD-3) y para la ecografía se clasifico como ausencia o presencia de líquido en la luz uterina en el momento del examen.

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1. Preparación del animal

Se realizó la inmovilización del animal por bioseguridad tanto para la vaca, como para quien realiza la práctica. Posteriormente se realizó la evaluación ginecológica (vaginoscopia y ultrasonido), con una limpieza previa de la zona de la vulva de la vaca con un papel toalla y agua destilada para retirar el estiércol y los residuos y así evitar introducir materia fecal, descargas corporales y otros microbios en el útero del animal. Posteriormente se registró el estado de salud del aparato reproductivo.

3.3.2. Preparación del Cytotape

Para la toma de muestras, se armó la pistola de inseminación como si se fuera a inseminar, cubierta por la pipeta de inseminación, a la cual se adhiere un trozo limpio de cinta adhesiva de 1,5 cm (Tesa; Hamburgo, Alemania) y para proteger la pipeta de inseminación (cinta) del contacto con la pared vaginal y cervical durante la toma de muestras se cubrió con una varilla Sani-Shield de 8" de longitud (Agtech, Manhattan, KS, EE.UU.). Por último, se protegió el cytotape y toda la pistola con una camiseta sanitaria de inseminación hasta ser introducida en el canal reproductivo de la hembra.

3.3.3. Toma de muestra citológica

Con la mano cubierta por un guante obstétrico y adecuadamente lubricado, se insertó la mano suavemente por el recto del animal, realizando la palpación de tracto reproductivo de la hembra, para fijar el cérvix. De manera similar a la inseminación

artificial se introdujo la pistola de inseminación, atravesando la vagina, cérvix, hasta el cuerpo del útero, lugar donde se liberó la pipeta con el cytotape y el instrumento se giró hacia la región dorsal y ventral del cuerpo uterino con una leve presión del dedo índice a través del recto. Posteriormente, se cubrió nuevamente con la funda protectora, y la pistola de inseminación fue cuidadosamente removida. Finalmente, el instrumento Cytotape es extendido directamente sobre un portaobjeto con un alto contenido de material celular adherido. Cada muestra del animal fue identificada con su respectivo rótulo, seguido por el secado al aire libre, se conservó en una caja porta láminas hasta su procesamiento en el en laboratorio de Patología Clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

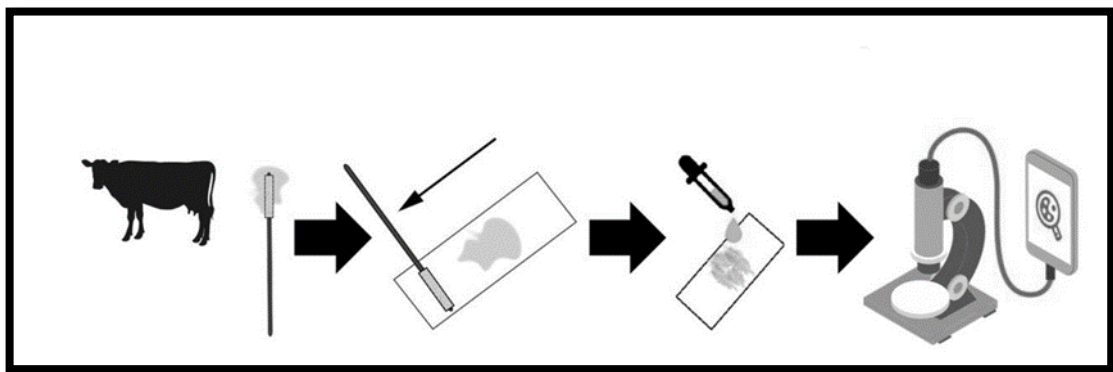


Figura 2. Ilustración esquemática del proceso de preparación de muestras (Sadeghi,2022).

3.3.4. Tinción Wright

Procedimiento: Se cubrió el frotis con solución Wright por 5 minutos; se agregó directamente al colorante un volumen igual de buffer 6,8 y se esperó la formación de brillo metálico. Luego se dejó actuar por 10 minutos; se enjuagó con agua potable y por último se dejó secar en soporte de secado al medio ambiente, la extensión debe presentar una coloración rosada a simple vista (Retamales *et al.*,2018). La lectura fue realizada en

un microscopio óptico a un aumento de 40X. Para la lectura se evaluaron 100 células entre células uterinas y polimorfo nucleares. El porcentaje de polimorfo nucleares se determinó con la siguiente fórmula:

$$\%PMN = \frac{PMN \text{ Contados}}{\text{Numero total de celulas conntadas}} \times 100$$

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Fue evaluada mediante la prueba exacta de Fisher es el método exacto utilizado cuando se quiere estudiar si existe asociación entre dos variables cualitativas, es decir, si las proporciones de una variable son diferentes en función del valor de la otra variable, donde exige que el 20% del total de las frecuencias esperadas presenten valores inferiores a 5. La probabilidad exacta de observar un conjunto concreto de frecuencias a, b, c y d en una tabla 2x2 cuando se asume la independencia. La fórmula que da el estadístico es la siguiente:

	VarA1	VarA2	
VarB1	A	B	a+b
VarB2	C	D	c+d
	a+c	b+d	n

$$P = \frac{(a + b)! (c + d)! (a + c)! (b + d)!}{n! a! b! c! d!}$$

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. EVALUACIÓN DE LA CITOLOGÍA ENDOMETRIAL

4.1.1. Identificación de las células polimorfonucleares – neutrófilos (PMN-N).

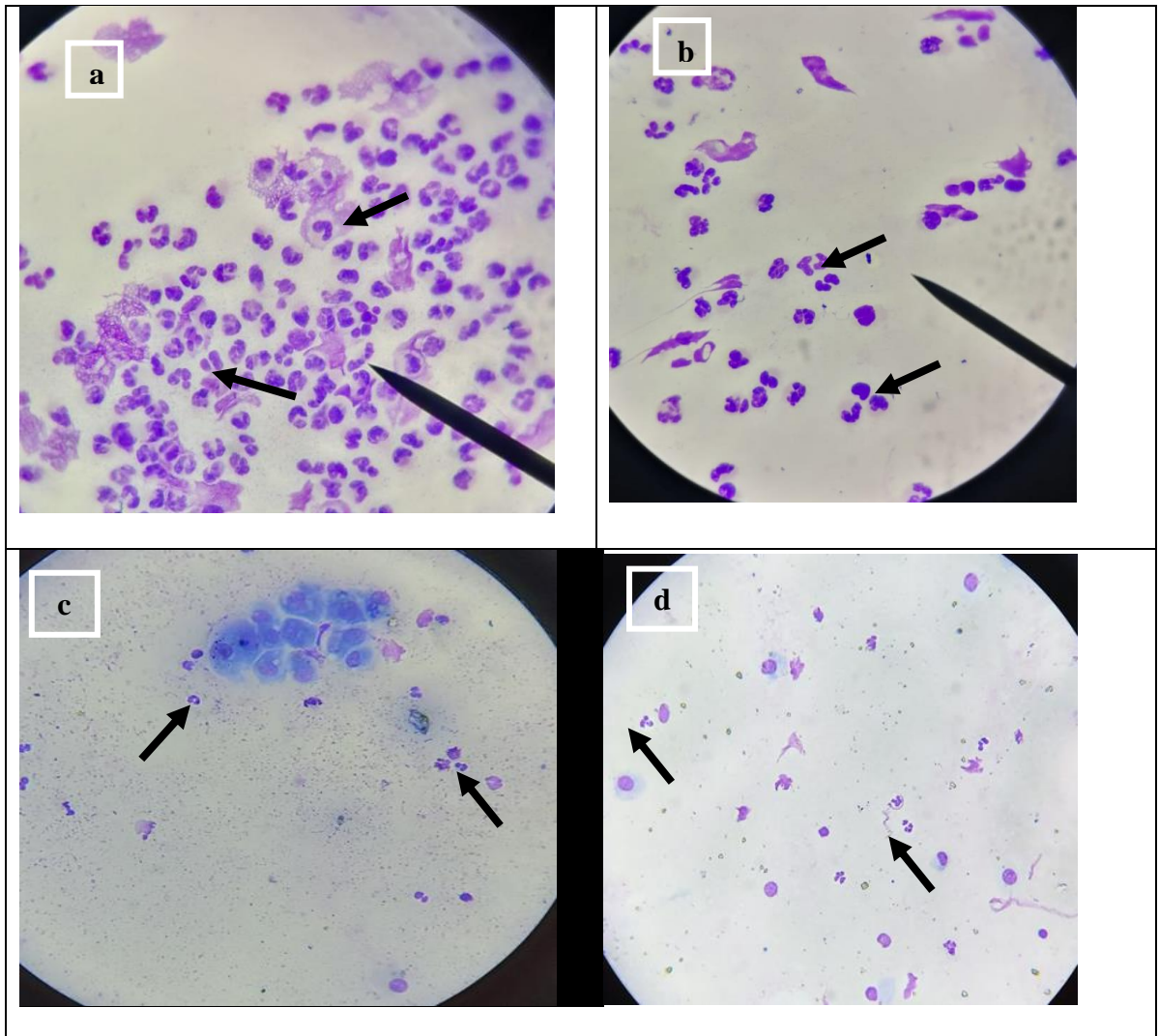


Figura 3. Citología endometrial con la tinción Wright, observada con una microscopía de 400X **a)** Abundantes células polimorfonucleares – neutrófilos (PMN-N) **b)** Regular cantidad de PMN-N **c y d)** Escasa cantidad de PMN-N.



En la Figura 3 se observa a la microscopía la identificación de las células polimorfonucleares- Neutrófilos, en diferentes muestras obtenidas mediante la técnica de rápida Cytotape.

Se conoce que la citología endometrial es considerada la mejor técnica para el diagnóstico de la endometritis subclínica, debido a su facilidad y buena confianza en sus resultados (Kasimanickam, 2004), donde se evalúa la proporción de células polimorfonucleares (PMN%) en láminas de citología. La técnica de citología endometrial utilizada en este estudio fue de Cytotape (CT), que permite tomar muestras del endometrio incluso en el momento de la inseminación artificial (IA) (Pascotini, 2017). Gracias a la identificación de las células polimorfonucleares-neutrófilos, demostramos que es una técnica rápida, sencilla, de fácil aplicación, y rapidez de obtención del resultado.

Resultados similares al nuestro fueron obtenidos por Pascotini (2016), quien comparó esta nueva técnica con el Gold estándar de la citología endometrial llamado Cytobrush, con igual efectividad y sensibilidad, también Vinita *et al.*, (2018), quienes indican, que se indica como Endometritis si los leucocitos exceden el 18% en los 21 a 33 días post parto o sí exceden el 10% en los 34 a 47 días post parto. En nuestros resultados las vacas que excedieron el 6% de células polimorfonucleares-neutrófilos en los 31 a 37 días post parto, se consideraron con endometritis subclínica.

4.1.2. Proporción de células polimorfonucleares-neutrófilos en vacas Brown Swiss

En la tabla 4, se muestran los resultados de la evaluación de células polimorfonucleares en vacas Brown Swiss del Centro Experimental Chuquibambilla.

Tabla 4.

Conteo de células polimorfonucleares-neutrófilos de vacas Brown Swiss (primíparas y multíparas) con 31 a 37 días post parto.

Categoría	Nro Arete	Células PMN-N	Células Endometriales	% Células PMN-N
Primíparas	1413	0	100	0.0
	1437	0	100	0.0
	1481	0	100	0.0
	1475	0	100	0.0
	1489	0	100	0.0
	1443	37	63	58.7
Multíparas	1269	0	100	0.0
	1377	0	100	0.0
	1259	21	79	26.6
	1131	39	61	63.9
	1233	0	100	0.0
	1287	19	81	23.5
TOTAL	12			

Fuente: Elaborado por el autor

La Tabla N° 4, se observa los resultados de evaluación de células polimorfonucleares en vacas Brown Swiss para determinar la presencia de endometritis subclínica, en total se evaluaron a 12 vacas Brown Swiss post parto a 6 primíparas y 6 multíparas. Los valores oscilaron entre 0% a 63.9 % de neutrófilos encontrados mediante la técnica rápida del cytotape en citología endometrial.

La endometritis subclínica es diagnosticada mediante citología midiendo la proporción de neutrófilos en una muestra recogida utilizando un citocepillo o utilizando la técnica de cytotape. En otros estudios de citología endometrial se reportó de 0 a 75%



de células polimorfonucleares Bogado, (2016), lo cual es similar a lo que nosotros encontramos. Además, es concordante con lo reportado por Madoz et al. (2014), quienes indican >6% de neutrófilos en vacas de 21-33 días posparto y de 35 días post parto (Dubuc *et al.*, 2010). También nuestros resultados son concordantes con Sheldon et al. (2006), quienes reportaron >10% de células polimorfonucleares- neutrófilos en muestras colectadas entre los días 34 y 47. Sin embargo, otros estudios concluyeron que el porcentaje de PMN fue >18% en muestras de citología uterina colectadas entre los días 21 y 33 pos parto, esto debido a que en fases tempranas de involución uterina existe mayor cantidad de células polimorfonucleares como los neutrófilos(Vinita,2018).

Sin duda, en condiciones normales, se presume que a medida avanza el intervalo postparto disminuye sustancialmente la inflamación del endometrio junto con el conteo de células PMN. Esto se debe a la estabilización y limpieza de la región uterina del animal reflejando así una involución normal (Baranski et al., 2012). La involución del endometrio ocurre durante el puerperio. No obstante, en vacas que padecen de endometritis subclínica (ES), este proceso ocurre de manera anormal, provocando un retraso en la estabilización del útero y la involución de este órgano(Guzman,2014).

4.2. FRECUENCIA DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA

Los resultados de la frecuencia general de endometritis subclínica en vacunos del Centro Experimental Chuquibambilla, distrito de Umachiri, provincia de Melgar de la región Puno, se muestra en la tabla 5.



Tabla 5.

Frecuencia general de endometritis subclínica en vacas post parto.

Número de animales muestreados	Frecuencia	(%)
12	4	33.3

Fuente: Elaborado por el autor

La frecuencia de endometritis subclínica es de 33.3%, apreciándose que, de las 12 vacas en el estudio, 8 (66.7%) vacas no presentaron afección de endometritis subclínica en muestras citológicas de vacas Brown Swiss posparto del Centro Experimental Chuquibambilla diagnosticados mediante la técnica rápida del cytotape.

Con respecto a los valores de frecuencia del estudio, el valor de 33.3% representado como endometritis subclínica a nivel de vacas posparto se encuentra entre los rangos de 30 a 60% reportado por LeBlanc, (2008) y Bogado, (2017).

Dentro de los factores de riesgo para la presentación de endometritis subclínica, en la etapa que ocurre de los 31-37 días posparto y puede experimentar periodos de alta demanda energética asociada a la producción de leche y a la mala ingesta de alimento. Esta condición crea un balance energético negativo (BEN), que provoca cambios metabólicos y hormonales y altera el sistema inmunológico de la vaca durante el periodo de transición. Esta inmunosupresión comienza tres semanas antes del parto, alcanza su punto máximo en el parto y continúa hasta tres o cuatro semanas después del parto (Ferguson, 1993). los requerimientos de energía y proteína son altos y que confluyen con procesos fisiológicos que acontecen en las vacas en este periodo que la hacen muy importante. Esencialmente nos referimos a los procesos que son el parto, lactación, la



involución uterina, todos estos procesos implican requerimientos altos, sin embargo, la dieta a pesar de estar en época de lluvia no logra cubrir estas necesidades afectando varias funciones en el organismo.

Por lo tanto, esto puede deberse a un mayor riesgo de distocia en vacas primíparas en comparación con vacas múltiparas (Bruun *et al.*, 2002), lo que también se considera un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad uterina (Sheldon *et al.*, 2002); Bell *et al.*, 2007, Adnane *et al.*, 2017). Por el contrario, en vacas múltiparas, pueden tener algún grado de resistencia inmunológica a la infección uterina debido a su mayor exposición previa a la contaminación bacteriana (Adnane *et al.*, 2017). Además, la exposición previa limitada de las vacas primíparas puede retrasar la respuesta inmunitaria, lo que lleva a la persistencia de la contaminación y al posterior establecimiento de la endometritis.



V. CONCLUSIONES

PRIMERA: La técnica rápida de Cytotape, se puede utilizar como una alternativa en citología uterina permitiendo la identificación de células polimorfonucleares con mínima contaminación de glóbulos rojos, es más, es un método sencillo y rápido.

SEGUNDA: La frecuencia de endometritis subclínica en vacas Brown Swiss del Centro Experimental Chuquibambilla fue del 33.3%.



VI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda emplear la técnica de citología endometrial como método de alta confiabilidad para el análisis de endometritis subclínica en vacas Brown Swiss entre los 31 a 37 días post parto. inclusive al momento de realizar la inseminación artificial.
2. Establecer el análisis de otros factores que pueden tener injerencia sobre la presentación de endometritis subclínica en vacas Brown Swiss.
3. Continuar con más estudios, aumentando el número de vacas y establecimientos para la confirmación de las consecuencias reproductivas y productivas.
4. Muestreo repetido y de diferentes sitios de la luz uterina.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adnane M, Kaidi R, Hanzen Ch, England G. (2017). Risk factors of clinical and subclinical endometritis in cattle: A review. *Turk J Vet Anim Sci* 41: 1-11
- Anchal Rana, M. S. (2020). Comparison of the cytobrush, cytotape and uterine lavage techniques in healthy. *Indian Journal of Animal Sciences*, 55–58.
- Azawi, O. (2008). Infección uterina post parto en el ganado. *Reproducción Animal Ciencia* ,187.208.
- Barajas Merchan, J. L., Hernández Cerón, J., García Alfonso, A., Martínez Bárcenas, E., Juárez López, N. O., Bedolla Alva, M. A., Luzbel de la Sota, R., Merchan, J. L. B., Cerón, J. H., de la Sota, R. L. (2018). Subclinical endometritis and pregnancy rate in dairy cows in Mexico. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 9(1), 135-146. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85040343128&doi=10.22319%2Frmcp.v9i1.4324&partnerID=40&md5=50b822538e7010eede48ecc454959513>
- Barlund C, Carruthers T, Waldner C, Palmer C. (2008). A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology* 69:714–723.
- Bell M, Roberts D. (2007). The impact of uterine infection on a dairy cow's performance. *Theriogenology* 68: 1074-1079.
- Bisinotto R, Greco L, Ribeiro E, Martinez N, Lima F, Staples C, Thatcher W, Santos J. (2012). Influences of nutrition and metabolism on fertility of dairy cows. *Anim Reprod*. 9(3): 260-272.



- Bogado Pascottini O, O. G. (2017). Diagnóstico y Tratamiento de las Enfermedades del Postparto Uterino en Vacas Lecheras: Una Revisión Con Énfasis En La Endometritis Subclínica. *Compendio de Ciencias Veterinarias*, 29.40.
- Boulay F, Naik N, Giannini E, Tardif M, Bouchon L. (1997). Phagocyte chemoattractant receptors. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 832, 69–84.
- Bruun J, Ersboll A, Alban L. (2002). Risk factors for metritis in Danish dairy cows. *Prev Vet Med* 2002; 54: 179-190.
- Chesta, P. (2008). Diagnostico e incidencia de endometritis en vacas lecheras. Segundas jornadas de discusión en biotecnologías reproductivas.
- Christensen BW, M. D. (2009). *Disease of the Reproductive System En: Smith BP. USA: Large animal internal medicine.*
- Christensen, B. D. (2009). *Disease of the Reproductive System. USA: Largo animal internal medicine.*
- Comité Ejecutivo Nacional de la MCLCP. (3 de agosto de 2020). Obtenido de https://www.mesadeconcertacion.org.pe/storage/documentos/2020.08.17/report_seguridad_alimentaria.y_nutricional.3107.final.
- De Buen, N. (2001). *Citología diagnóstica veterinaria. Editorial. Manual Moderno. México, D. F. p. 1- 6.*
- Dellmann, D. B. (1993). *Histología Veterinaria. Acribia.*



- Denis-Robichaud, J., y Dubuc, J. (2015). Determination of optimal diagnostic criteria for purulent vaginal discharge and cytological endometritis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98(10), 6848-6855. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9120>
- Dobson, H. (2006). Utilice de la vaca como un modelo animal grande de la infección uterina y la inmunidad. *Diario de Inmunología Reproductiva*, 13.22.
- Eduardo Retamales Castelletto y Vanessa Manzo Garay (2018). recomendaciones para la tinción de frotis. Instituto de Salud Pública de Chile, 8-9.
- Faundez, R., Duszewska, A. M., Klucinski, W., Spohr, I., Sitarska, E., & Trenti, F. (1994). Occurrence of leukocytes and epithelial cells in the lumen of the reproductive tract during the ovarian cycle. In *Proceedings of the 18th World Buiatr. Congress. Bologna, Italy* (pp. 305-308).
- Frank, T., Anderson, K. L., Smith, A. R., Whitmore, H. L., & Gustafsson, B. K. (1983). Phagocytosis in the uterus: a review. *Theriogenology*, 20(1), 103-110.
- García Tamayo Fernando. 1994. *Fundamentos de inmunobiología*. Universidad Nacional Autónoma de Mexico
- Gauna, C. (2007). *Obstetricia y Fisiopatología de la Reproducción*. México.: Facultad de Ciencias Veterinarias, UNL.
- Gázquez A. y Blanco, A. (2004). *Tratado de Histología Veterinaria*. España: Barcelona.
- Guzmán, E. J. (2014). Prevalencia de endometritis subclínica postparto en tres hatos lecheros de Puerto Rico. *Universidad de Puerto Rico*, 125-134.



- Hafez, B. E. (2005). Reproducción e inseminación artificial en animales. Mexico: McGraw Hill.
- Hammon D, Evjen I, Dhiman T, Goff J, Walters J. (2006). Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Vet Immunol Immunopathol.* 113(1-2): 21-9
- Heppelmann M, Weinert M, Brömming A, Piechotta M, Hoedemaker M, Bollwein H. (2013). The effect of puerperal uterine disease on uterine involution in cows assessed by Doppler sonography of the uterine arteries. *Anim Reprod Sci* 2013; 143:1–7.
- Herath S, H. D. (2005). Estudio de la patología endometrial y enfermedades intrauterinas. Mexico.
- Hill A, Frost A, Brooker B. (1984). Progressive pathology of severe *Escherichia coli* mastitis in dairy cows. *Res. Vet. Sci.* 37, 179–187.
- Kasimanickam R, Duffield T, Foster R, Gartley C, Leslie K, Walton J. (2004). Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*; 62:9–23.
- Kasimanickam, R. (2004). Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 9.23.
- Kaufmann T.B., D. M. (2010). Correlations between periparturient serum concentrations of non-esterified fatty acids, betahydroxybutyric acid, bilirubin, and urea and the occurrence of clinical and subclinical postpartum bovine endometritis. *BMC Veterinary Research*, 6.47.



- Kindahl H, Bekana M, Kask K, Königsson K, Gustafsson H, Odensvik K. (1999). Endocrine aspects of uterine involution in the cow. *Reprod Dom Anim* 34: 261-268
- Lambertz C, Völker D, Janowitz U, Gauly M. (2014). Evaluation of vaginal discharge with the Metricheck device and the relationship to reproductive performance in postpartum dairy cows. *Anim Sci.* 85(9):848852.
- LeBlanc, S. 2008. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *The Veterinary Journal*, 176(1), pag. 102-114.
- Lucy M. C. (2001). Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *Journal of dairy science*, 84(6), 1277–1293. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70158-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70158-0)
- luis Angel, Q. A. (2018). Subclinical Endometritis in Dairy Cattle. *intechopen New Insights into Theriogenology*, 79.97.
- Madoz, L. V., Giuliadori, M. J., Migliorisi, A. L., Jaureguiberry, M., y De la Sota, R. L. (2014). Endometrial cytology, biopsy, and bacteriology for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 195-201. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6836>
- Mamani, J. C. (2018). Prevalencia de la Endometritis subclinica en vacas post parto del CPI. Chuquibambilla.
- McDougall S, Macaulay R, Compton C. (2007). Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 99: 923



- Melcher, Y., Prunner, I., y Drillich, M. (2014). Degree of variation and reproducibility of different methods for the diagnosis of subclinical endometritis. *Theriogenology*, 82(1), 57-63. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.03.003>
- Miller, H. (1980). Endometritis of dairy cattle: diagnosis, treatment, and fertility. *The Bovine Practitioner*, 13.23.
- Ministerio de Agricultura y Riego (2017). Plan Nacional de Desarrollo Ganadero, <https://www.midagri.gob.pe/portal/download/pdf/especiales/plan-nacional-ganadero.pdf>
- Morris, J. Y Dobson, J. (2002). *Oncología en pequeños animales*. Editorial. Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina. p. 5-59, 203-212.
- Morrow D, Roberts S, Mcentee K, Gray H. (1966). Postpartum ovarian activity and uterine involution in dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 1966; 149: 1596–1609.
- Nathan C. (2006). Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nat. Rev. Immunol.* 6, 173–182.
- Nuñez, O. (2008). *Patología Clínica Veterinaria*. U.N.A.M. Facultad de Medicina.
- O. Bogado Pascottini, *. M. (2017). Cytological endometritis at artificial insemination in dairy cows: Prevalence and effect on pregnancy outcome. *American Dairy Science Association*, 588–597.
- OB Pascottini OB, P. D. (2016). Una nueva técnica de muestreo citológico para diagnosticar endometritis subclínica y comparación de métodos de tinción para muestras de citología endometrial en vacas lecheras.



<https://en.engormix.com/dairy.cattle/articles/novel.cytologic448sampling.technique.t36597.htm>.

Ogilvie, G. y Moore A. (2008). Manejo del paciente canino oncológico. Editorial. Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina. p. 123, 126-131, 418-446, 668-671, 813-828.

Overbeck W, Witte T, Heuwieser W. (2011). Comparison of three diagnostic methods to identify subclinical endometritis in mares. *Theriogenology*; 15;75(7):1311-8.

Palmer, C. (2006). Endometritis en vacas de leche. Jornadas de Actualización en Biotecnologías de la Reproducción en Bovinos.

Pascottini OB, P. D. (2016). Una nueva técnica de muestreo citológico para diagnosticar endometritis subclínica y comparación de métodos de tinción para muestras de citología endometrial en vacas lecheras. Elsevier Inc.

Pascottini, O. B. (2016). *Subclinical Endometritis in Dairy Cattle : A practical approach*. 229.

Plöntzke J, M. L. (2010). Subclinical endometritis and its impact on reproductive performance in grazing dairy cattle in Argentina. *Anim Reprod Sci*, 122: 52.57.

Quiroga, G. (2014). Química-acti blogspot. México, En línea (<http://quimicaacti.blogspot.com/2014/10/tincion-de-wright.html>)

Rana, A., Singh, M., Kumar, P. y Sharma, A. (2020). Comparación de las técnicas de citocepillo, citocinta y lavado uterino en vacas sanas posparto. *Revista india de ciencias animales*, 90 (3), 55-58.



- Reategui, J. a. (2014). Endometritis Subclínica en el Postparto de Vacas Lecheras en Sistemas Intensivos de Producción de Leche, Arequipa. *spermova*, 74.76.
- Rinaudo A. (2012). Endometritis Subclínica en vacas lecheras: Diagnóstico, tratamiento e incidencia productiva y reproductiva. Tesis para optar el grado de doctor en Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de Rosario, Argentina.
- Roberts T, Chapinal N, LeBlanc S, KELton D, Dubuc J, Diffield T. (2012). Metabolic parameters in transition cows as indicators for early-lactation culling risk. *J Dairy Sci.*; 95(6):3057-63.
- S.J., L. (2008). Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance. *The Veterinary Journal*, 102.114.
- Sadeghi H, Braun HS, Panti B, Opsomer G, Bogado Pascottini O (2022) Validación de un sistema de análisis de imágenes basado en aprendizaje profundo para diagnosticar endometritis subclínica en vacas lecheras. *PLoS ONE* 17(1): e0263409. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0263409>
- Sanchez S, G. D. (2011). Subclinical endometritis and its impact on reproductive performance in grazing dairy cattle in Argentina. *Animal Reproduction Science*.
- SENAMHI. (2019). Dirección regional de puno, Servicio nacional de meteorología e hidrología, ubicado en la página web: <http://puno@senamhi.gob.pe/>.
- Sheldon I, Dobson H. (2004). Postpartum uterine health in cattle. *Animal Reproduction Science* 82-83: 295-306.
- Sheldon I, Lewis G, LeBlanc S, Gilbert R. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65, 1516–1530.



Sheldon I. (2004). The postpartum uterus. *Vet Clin Food Anim* 20: 569–591

Sheldon I.M., L. S. (2004). Defining postpartum uterine disease in cattle.

Tizard Ian. 2018. *Inmunología Veterinaria*. Décima edición. Editorial Elsevier. España.

Vinita, M. S. (2018). Endometrial Cytology to Diagnose Subclinical Endometritis in. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*, 623.631.

Watson, E. D., Diehl, N. K., & Evans, J. F. (1990). Antibody response in the bovine genital tract to intrauterine infusion of *Actinomyces pyogenes*. *Research in Veterinary Science*, 48(1), 70-75.

ANEXOS

ANEXO 1. La metodología del armado del cytotape para la obtención de la muestra de citología uterina.



Figura 4. Procedimiento del armado a). materiales b y c). colocación de la varilla Sani-Shield d). final del armado.

ANEXO 2. Procedimiento fase 1: trabajo de campo, fase 2: laboratorio.

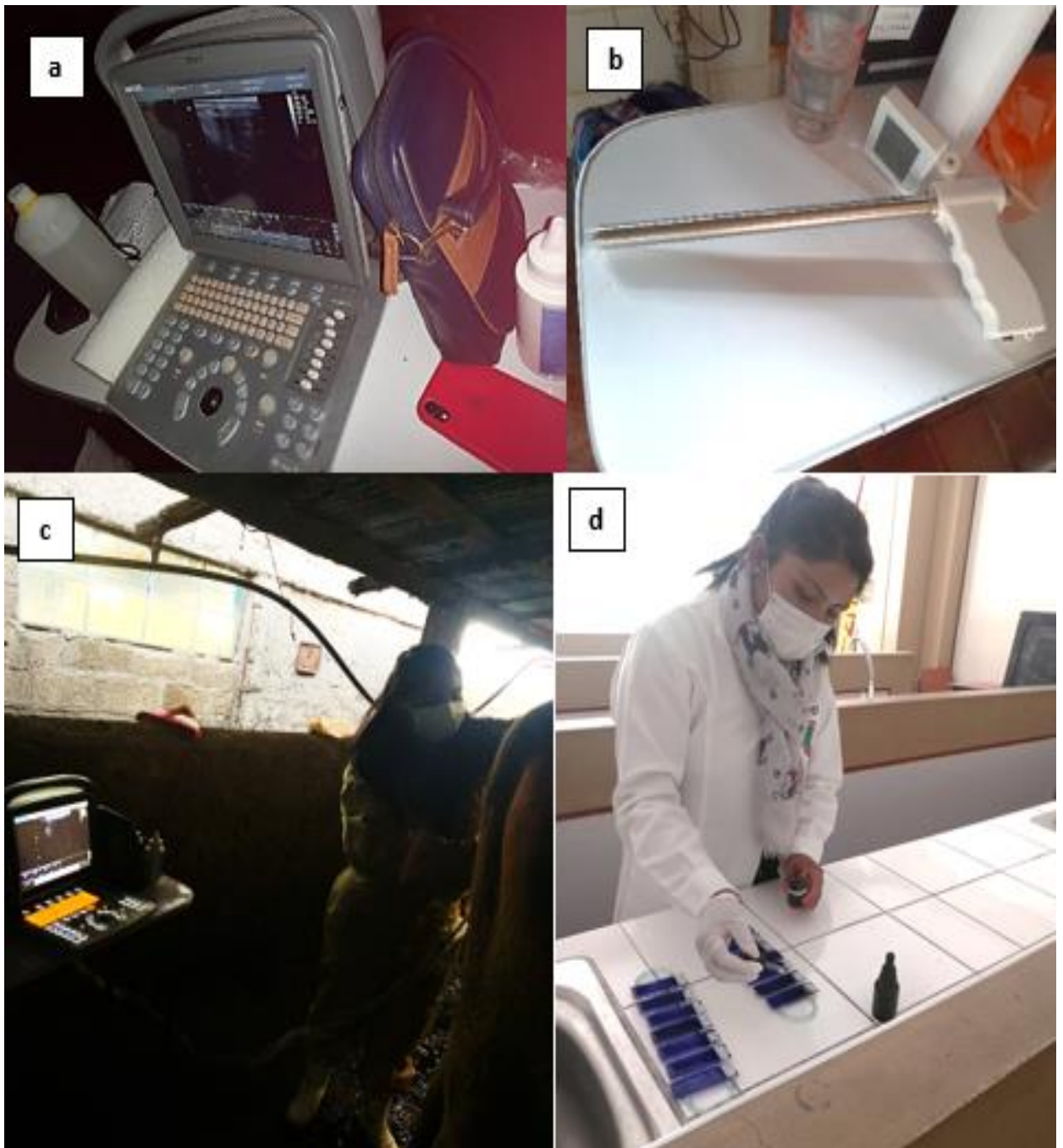


Figura 5. Fase 1: a). Ecógrafo que se utilizó b). Vaginoscopio con cámara c). evaluación ginecológica empleando ambos equipos. Fase 2: d). análisis laboratorio.

ANEXO 3. Citología endometrial

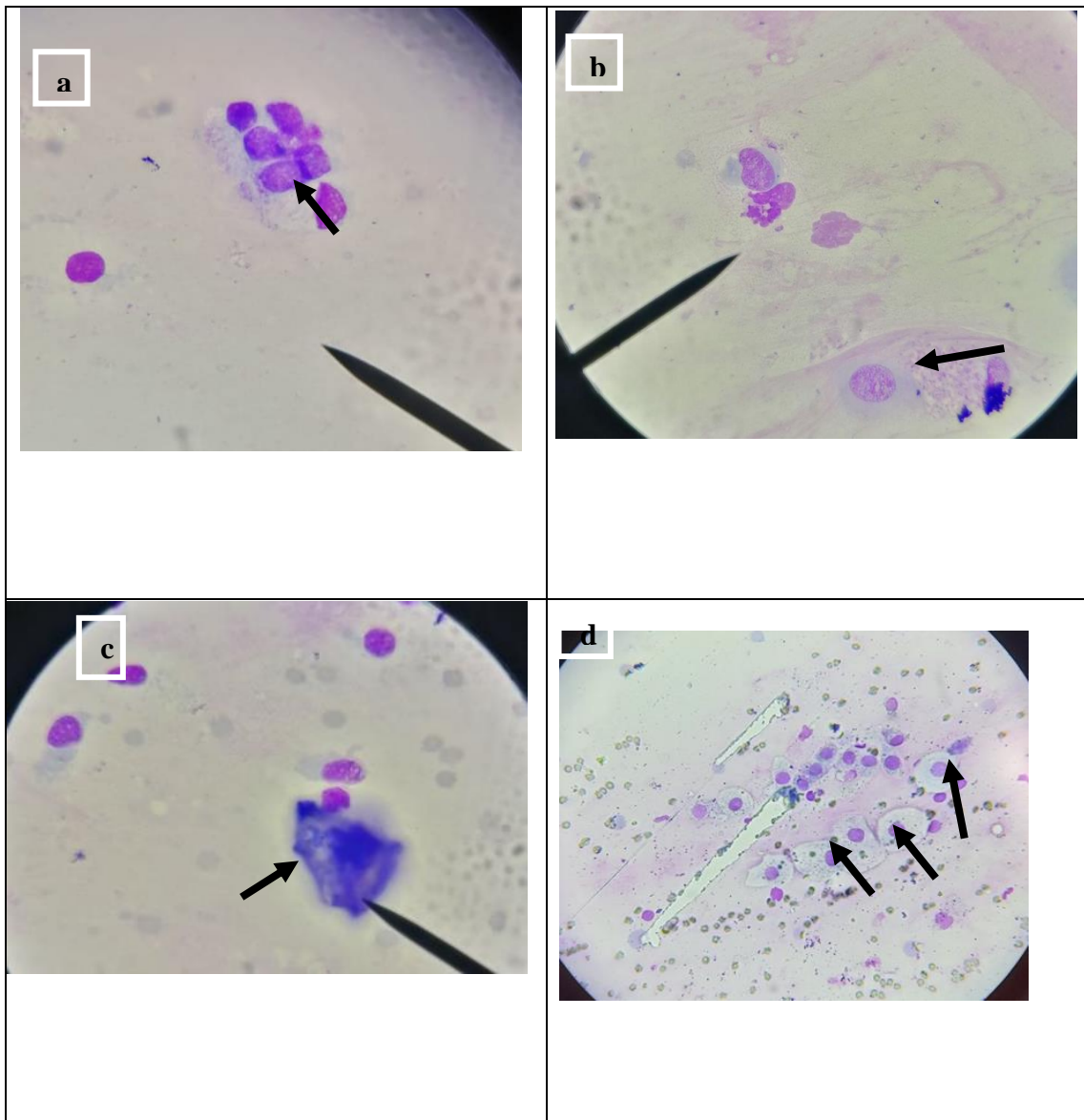


Figura 6. Citología endometrial en vacas Brown Swiss pos parto

En la fig.6 se muestra Frotis de citología uterina obtenidos por la técnica del cytotape, coloreadas por tinción de Wright y observados al microscopio óptico (40x).se observa a) células basales b) células superficiales c) células cornificadas d) células intermedias.

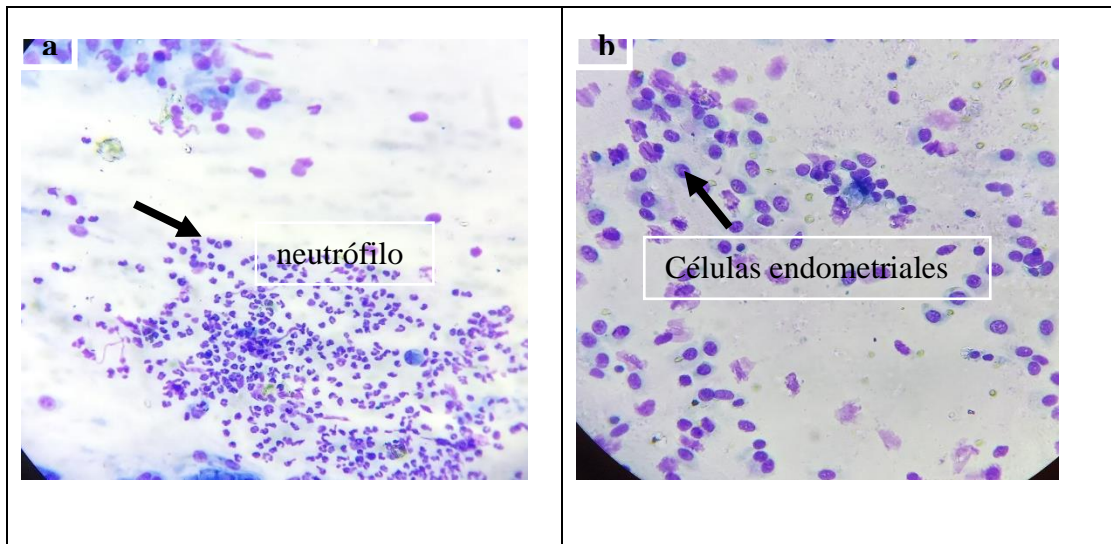


Figura 7. Diagnóstico de endometritis subclínica en vacas Brown Swiss

Muestra citológica endometrial a) muestra citológica positiva b) muestra citológica negativa.

ANEXO 4. Campos visuales en microscopio a (40x)

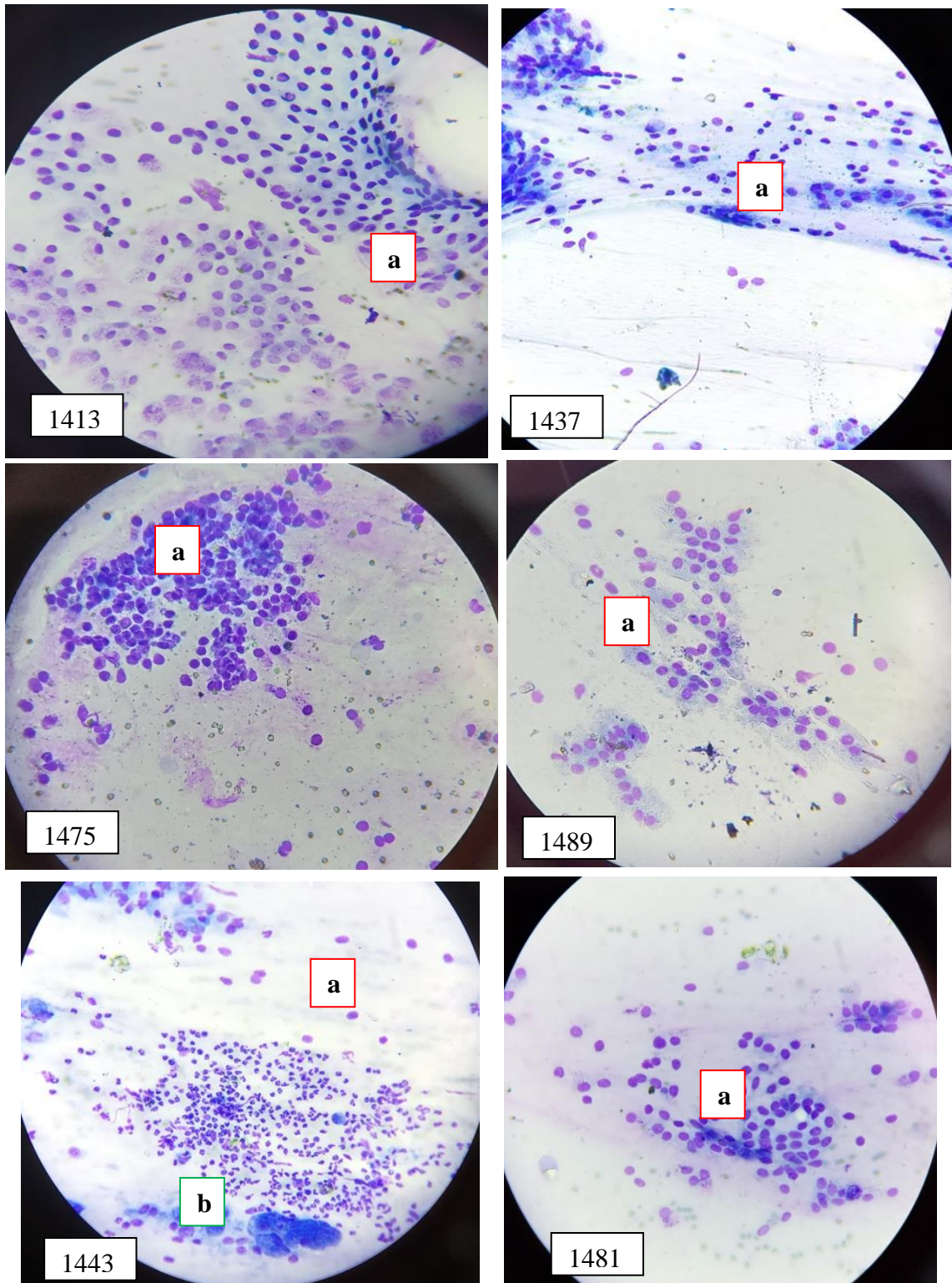


Figura 8. Muestras de citología endometrial en primíparas a). cel. endometriales b). células polimorfo nucleares (PMN-N).

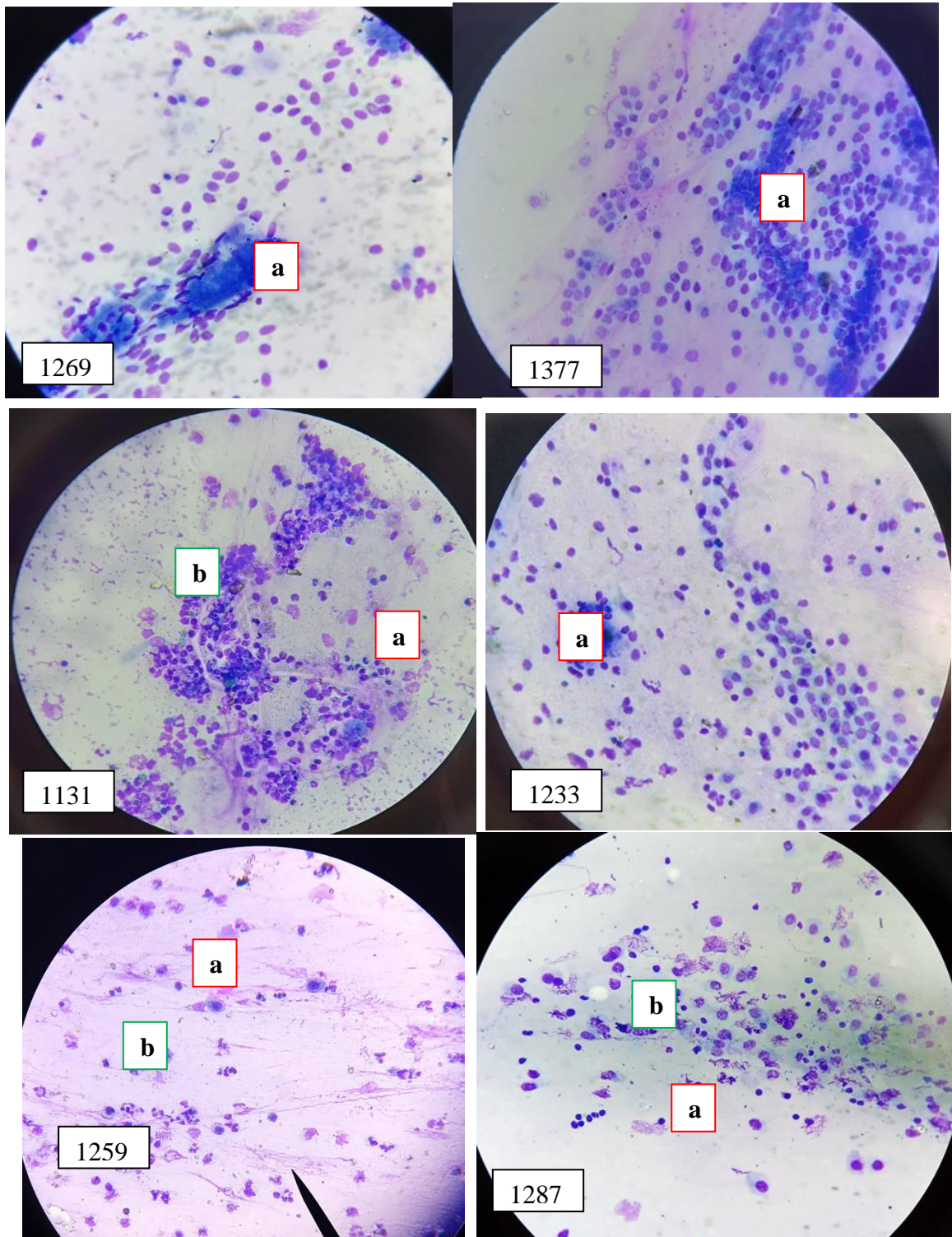


Figura 9. Muestras de citología endometrial de multíparas a). cel. endometriales b). células polimorfo nucleares (PMN-N).



ANEXO 5. Datos de los animales que fueron sometidos a estudio.

Tabla 6.

Datos de los animales en estudio

PARIDAD	N° ARETE	FECHA DE PARTO	Diagnostico	CEL PMN-N	CEL. ENDM	% CEL PMN-N
Primíparas	1413	11/11/2021	NEGATIVO	0	100	0.0
	1437	16/11/2021	NEGATIVO	0	100	0.0
	1481	17/11/2021	NEGATIVO	0	100	0.0
	1475	12/12/2021	NEGATIVO	0	100	0.0
	1489	2/01/2022	NEGATIVO	0	100	0.0
	1443	6/01/2022	POSITIVO	37	63	58.7
Múltiparas	1269	11/11/2021	NEGATIVO	0	100	0.0
	1377	16/11/2021	NEGATIVO	0	100	0.0
	1259	22/11/2021	POSITIVO	21	79	26.6
	1131	23/11/2021	POSITIVO	45	55	63.9
	1233	25/11/2021	NEGATIVO	0	100	0.0
	1287	25/11/2021	POSITIVO	19	81	23.5
TOTAL	12					

Fuente: Elaborado por el autor



Tabla 7.

Operacionalización de variables

Variables	Tipo de variable	Unidad de medida
Porcentaje de neutrófilos – PMN	Cuantitativa discreta	%

Fuente: Elaborado por el autor

Tabla 8. Identificación de variables en estudio

Variables	Tipo de variable	Definición conceptual	Dimensión	Indicador	Instrumento	Escala de medida
Porcentaje de polimorfo nucleares PMN - N	Cuantitativa Discreta	Cantidad de neutrófilos presentes en muestras citológicas fijadas y determinadas en porcentaje	Campos visuales en microscopio (40x)	Número de células polimorfo nucleares	Campos visuales en microscopio	%

Fuente: Elaborado por el autor

Tabla 9.

Estadística descriptiva células polimorfo nucleares

	<i>CEL PMN-N</i>	<i>Porcentaje (%)</i>
N		12
Media		14.4
Mediana		0
Moda		0
Desviación estándar		23.9
Mínimo		0
Máximo		63.9

Fuente: Elaborado por el autor

row	col		Total
	1	2	
1 Primíparas	1 2.0	5 4.0	6 6.0
2 Multíparas	3 2.0	3 4.0	6 6.0
Total	4 4.0	8 8.0	12 12.0

Pearson chi2(1) = 1.5000 Pr = 0.221
Fisher's exact = 0.545
1-sided Fisher's exact = 0.273

Figura 10. Análisis estadístico usando Stata

Muestra la prueba exacta de Fisher donde las frecuencias esperadas presentan valores inferiores a 5, datos que fueron procesados en Stata 16, destaca que las muestras



son independientes esto significa que no existe asociación estadística entre primíparas y multíparas. No se hallaron diferencias ($P=0.221$) entre estos dos grupos.