

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



**“PREVALENCIA DE LA ENDOMETRITIS SUBCLINICA EN
VACAS POST PARTO DEL CIP CHUQUIBAMBILLA”**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. JHEL SIN DELFOR CALCINA MAMANI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2018

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

TESIS

“PREVALENCIA DE LA ENDOMETRITIS SUBCLINICA EN VACAS POST
PARTO DEL CIP CHUQUIBAMBILLA”

PRESENTADA POR:

Bach. JHEL SIN DELFOR CALCINA MAMANI

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA



APROBADA POR:

PRESIDENTE:



Dr. Manuel Guido Perez Durand

PRIMER MIEMBRO:



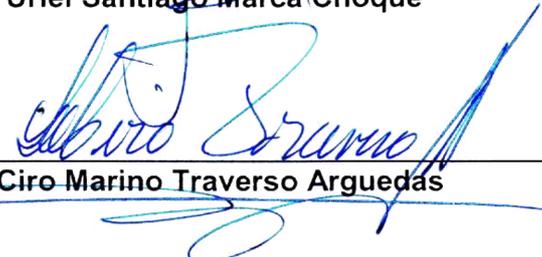
Dr. Alberto Ccama Sullca

SEGUNDO MIEMBRO:



Mg. Uriel Santiago Marca Choque

DIRECTOR / ASESOR:



Dr. Ciro Marino Traverso Arguedas

Área : Sanidad animal

Tema : Prevalencia de la endometritis subclínica en vacas post parto

Fecha de Sustentación: 03/08/2018

DEDICATORIA

A DIOS:

Por haberme acompañado siempre en todos momentos y permitirme llegar con salud y bienestar hasta este punto de mi vida ,por ello y mucho mas le dedico este trabajo al gran padre celestial.

AMIS PADRES:

Alvaro calcina e Irene Mamani, por haberme brindado siempre su apoyo incondicional, comprensión y amor en cada etapa de mi vida , permitiéndome asi cumplir mis anhelos y metas.

AMI GRAM FAMILIA:

Maritza, Jarley, Roswel , Dieguito por el apoyo incondicional que me brindaron y a mi abuelito pablo Mamani que me apoya desde el cielo.

ALA PERSONA MAS ESPECIAL:

Gabriela H. por ese apoyo incondicional que me brindo por las veces que me repetía que tenía que sacar el título, por el gran amor que me brinda que es una gran fuerza para seguir con este camino que recién empieza.

Jhelsin (otis).....

AGRADECIMIENTOS

- ✓ A mi padre Álvaro calcina barreda por inculcarme buenos valores los cuales me ayudaron a ser un buen profesional.
- ✓ A mi madre Irene Mamani por siempre apoyarme en esta carrera profesional y darme el cariño de mama.
- ✓ A mi hermana Maritza calcina y hermano jarly , gracias por estar en ese momento para mi, por los consejos y apoyo condicional.
- ✓ A my baby Gaby gracias por acompañarme y apoyarme en todo momento.
- ✓ Ala UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO ala gloriosa facultada de MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA por haber formado como un buen profesional competente.
- ✓ A mi director de tesis CIRO TRAVERSO ARGUEDAS gracias por haberme apoyado en el proceso de redacción y sustentación de mi tesis.
- ✓ Al gran doctor JUAN ZEBALLOS ARAGON gracias por haberme aceptado como tesista en el CIP CHUQUIBAMBILLA y haber inculcado muchos conocimientos en mi vida como estudiante.
- ✓ A mi abuelito PABLO MAMANI que me apoyo desde el cielo.
- ✓ A los miembros del jurado gracias por haberme inculcado muchos conocimientos en sus correcciones.
- ✓ A los compañeros de la UNIVERSIDAD SAN ANTONIO DE ABAD DEL CUSCO gracias por el apoyo incondicional en la toma de muestras.
- ✓ A los compañeros de TECNOLÓGICO PEDRO VILCAPAZA DE AZANGARO gracias por haber apoyado en la toma de muestras y el armado de bretes.
- ✓ A mi gran tuna veterinaria por acogerme todo este tiempo.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	xiii
I. INTRODUCCIÓN.....	14
1.1.- OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	15
1.1.1 Objetivo General	15
1.1.2 Objetivo Especifico	15
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	16
2.1. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA HEMBRA.....	16
2.1.1. Vulva	16
2.1.2. Vestíbulo.....	16
2.1.3. Vagina	16
2.1.4. Cérvix	17
2.1.5. Útero.....	17
2.1.6. Oviductos	18
2.1.7. Ovario.....	18
2.2. HISTOLOGÍA DEL ÚTERO.....	19
2.2.4. Endometrio	20
2.2.5. Modificaciones histológicas durante el ciclo sexual	21
2.2.6. Miometrio.....	22
2.2.7. Perimetrio	22
2.3. ENDOMETRITIS POST-PARTO	22
2.4. ETIOLOGÍA DE LA ENDOMETRITIS.....	24
2.4.1. Endometritis	28
2.4.2. Proceso inflamatorio.....	31
2.5.- DIAGNÓSTICO DE LA ENDOMETRITIS	32
2.5.1.- Diagnóstico clínico de la endometritis	32
2.5.2. Diagnostico por Cytobrush.....	33
2.5.3-. Diagnostico por lavado uterino	34
2.5.7-.Ultrasonografía	37
2.5.8. Tinción Diff-Quick.....	37
2.6.-ANTECEDENTES DE LA ENDOMETRITIS.....	38
III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	47
3.1.- UBICACIÓN.....	47
3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL	47
3.2.1. Animales en estudio.....	47
3.2.2. Diseño experimental	48

3.5. METODOLOGÍA.....	48
3.5.1. Selección de vacas post parto.....	48
3.5.2. Preparación de las vacas (antes de la evaluación)	49
3.5.3. Técnica de toma de muestra mediante cytobrush	49
3.5.6. Coloración de diff quick	50
3.5.7.- Recuento de neutrófilos	50
3.6.-MÉTODO ESTADÍSTICO:	51
IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
4.1.-PREVALENCIA DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA.....	52
V.- CONCLUSIONES	63
VI.- RECOMENDACIONES	64
VII.-REFERENCIAS.....	65
ANEXOS	70

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Prevalencia de la endometritis subclínica en vacas post parto del CIP Chuquibambilla	52
Tabla 2: Prevalencia de la endometritis subclínica en vacas post parto del CIP chuquibambilla según numero de parto	55
Tabla 3 : Grado de inflamación de la endometritis subclínica en vacas post parto del CIP Chuquibambilla según el grado de inflación	59

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Distribución de los animales para experimentación	48
Cuadro 2: Análisis de varianza de endometritis subclínica según el número de partos.....	73
Cuadro 3: Análisis de varianza de endometritis subclínica según el grado de inflamación (neutrófilos).....	73
Cuadro 4: Prueba De Tukey De Endometritis Subclínica Según El Grado De Inflamación (Neutrófilos)	74

INDICE DE ACRONIMOS

% : Porcentaje

m.s.n.m : Metros Sobre El Nivel Del Mar

P.M.N : Polimorfo Nuclear

N : Neutrofilo

E.S : Endometritis Sub Clínica

RESUMEN

El estudio se realizó durante los meses de diciembre del 2015 ,enero, febrero y marzo del 2016 (época de lluvia), en el Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano, que se encuentra ubicado en el distrito de Umachiri, provincia de Melgar, Región de Puno; con el objetivo de estimar la prevalencia de la endometritis subclínica en vacas post parto de 21 a 33 días mediante la técnica de diagnóstico Cytobrush, y determinar el grado de inflamación uterina . Las vacas fueron examinadas mediante palpación rectal para evaluar el estado de salud del aparato reproductivo, estos animales estuvieron sometidos en condiciones similares de alimentación y manejo. Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Histología y Embriología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Del Altiplano. Los datos fueron analizados mediante la prueba estadística de diseño completamente al azar. Se obtuvo una prevalencia general fue 28.75 % de la endometritis subclínica en vacas post parto a los 21 a 33 días. Las vacas de tercer parto presentaron 16.67 % que fue mayor comparado a las vacas de segundo parto que fue de 7.14 % y las de cuarto parto con 4.76 %, los valores analizados reflejaron diferencias significativas ($P \leq 0.01$), el grado de inflamación con presencia menores de < 2 polimorfonucleares mostraron vacas de primer, segundo, tercero y cuarto parto de 100, 81.3, 46.2 y 0.0 %, respectivamente; y con presencia de 2 a 5 polimorfonucleares mostraron 0.0, 18.7, 53.8 y 100 % para vacas de primer, segundo, tercero y cuarto parto, respectivamente.

Palabras claves: Endometritis, Neutrófilos, Vaca, Cytobrush

I. INTRODUCCIÓN

Gran parte de la región de sierra del país está ubicado entre la cordillera occidental y oriental, cuyas alturas sobre el nivel del mar fluctúan entre los 2500 y 4,000 msnm. Zona de características ecológicas y climáticas adecuadas para el desarrollo de ganadería, que permite la crianza de vacunos. Población de ganado vacuno de la raza Brown swiss, según censo del 2014 el departamento de Puno cuenta con 398 000 cabezas de ganado (INEI, 2014).

Después del parto, la vaca es probable que experimente periodos de altos requerimientos energéticos relacionados con la producción de leche y asociados a una ingestión insuficiente de alimento. Esta situación produce un Balance Energético Negativo (BEN), que lleva a cambios metabólicos y hormonales y alteran el sistema inmune de las vacas durante el periodo de transición. Esta inmunosupresión inicia tres semanas antes del parto, es máxima al parto y continua durante tres a cuatro semana post parto (Ferguson, 1993).

Las enfermedades uterinas post parto comprometen severamente la eficiencia reproductiva. Por lo que la endometritis es la inflamación del endometrio, debido a la persistencia de una infección moderada por causas que involucran el proceso inflamatorio e infeccioso. Las pérdidas reproductivas incluyen un incremento del número de vacas vacías, aumento de los servicios para concepción y un incrementado del riesgo de rechazo a la fertilidad por fallas reproductivas (Ortega, 2012).

Durante los últimos años se han realizado importantes esfuerzos para el control de la endometritis; sin embargo, su prevalencia a nivel de los hatos lecheros, es elevada. Esta enfermedad causa pérdidas económicas, gastos por tratamiento y

deterioro de la eficiencia reproductiva. Los programas actuales de control de la endometritis clínica y subclínica, están basados en prevención y terapia antibiótica, (Herath, 2006).

La técnica de cytobrush, se emplea un pequeño cepillo citológico unido a un mango originalmente diseñado para exámenes de citología cervical. El mango puede cortarse de 3 cm o menos e insertarse dentro de una vaina de acero inoxidable de 65 cm de largo por 4 mm de diámetro, la cual se utilizara para la toma de muestra cervical (Chesta, 2008).

El trabajo de investigación se realizó para el diagnóstico en forma temprana de los cuadros de endometritis subclínica en las vacas post parto, utilizando la técnica de diagnóstico Cytobrush, estos datos han de contribuir para tomar medidas de prevención y control de alteraciones endometriales en vacas de producción que muestren endometritis subclínica, de esta forma se estará mejorando la producción y productividad en el ganado vacuno. Los objetivos que se trazaron fueron:

1.1.- OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.1.1 Objetivo General

Estimar la prevalencia de la endometritis subclínica en vacas post parto de 21 a 33 días mediante la técnica de diagnóstico *Cytobrush*.

1.1.2 Objetivo Especifico

Estimar el porcentaje de células inflamatorias en vacas según número de partos. Hallar el grado de células inflamatorias en vacas post parto de 21 a 33 días mediante la técnica de diagnóstico *Cytobrush*

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA HEMBRA

2.1.1. Vulva

La vulva es el orificio externo del aparato reproductor, está localizada inmediatamente debajo de la abertura externa del recto y de la cola. La vulva está compuesta de pliegues de piel (epitelio estratificado escamoso, keratinizado). La vulva al igual que otros órganos reproductivos durante el celo (tiempo de aceptación del macho) es afectada por los efectos estradiol incrementando la irrigación (luz de color rojo); incrementando la humedad y el tejido se inflama (hinchada). Todas estas características son importantes cuando se evalúan signos secundarios del celo. La vulva y el vestíbulo son las únicas partes que comparten el tracto urinario y el tracto reproductivo (Galina et al., 2000).

2.1.2. Vestíbulo

El vestíbulo es la primera estructura que se encuentra cranealmente a la vulva, mide 3-4 pulgadas de largo, cubierto por tejido escamoso, de epitelio no keratinizado. La abertura externa de la uretra está localizada en el piso del vestíbulo. Caudal a esta estructura podemos encontrar un saco ciego (divertículo suburetral (Hafez, 2002).

2.1.3. Vagina

Se localiza en la zona craneal al vestíbulo y se extiende a 8 pulgadas hasta la entrada cerviz. Cubierta por epitelio estratificado escamoso no queratinizado. La vagina sirve de receptor del semen cuando se realiza la monta natural (Noakes, 2001).

2.1.4. Cérvix

Muestra entre 4 a 5 pulgadas de largo y unas 2 pulgadas de ancho, la cerviz es de suma importancia en la reproducción bovina. En general la cerviz sirve de protección del útero. Hay algunas ramificaciones de estos principales o secundarios anillos que ayudan al transporte y reservorios del semen. Este gran número de anillos a su vez ayuda al cerviz a expandirse durante el parto. Además la cerviz produce unas secreciones mucosas espeso durante el metaestro, diestros y la preñez y unas secreciones mucoso liquida que son abundantes durante el celo que ayudan a facilitar el transporte y la lubricación del semen. Una capa muscular fuerte, le da a la cerviz esa estructura dura que se siente cuando se realiza la palpación rectal y es lo que lo hace muy fácil de identificar por encima de cualquier otra estructura (Hafez, 2002).

2.1.5. Útero

Se localiza en la parte Craneal de la cérvix, que está envuelto por el ligamento ancho del útero. Compuesto por epitelio ciliar columnar, el útero es el lugar donde se lleva a cabo la gestación, es el responsable por brindar protección al feto y mantener una compleja comunicación entre la madre y el feto. Las paredes del útero tienen numerosas funciones durante la gestación. Tiene un tejido secretor que produce la “leche uterina” que sirve de nutriente para el embrión durante las primeras etapas de la gestación. En el útero se pueden encontrar alrededor de 100 a 120 carúnculas del tamaño de un grano de maíz distribuidas uniformemente en le endometrio. Estas carúnculas sirven de

punto de conexión para la placenta durante la preñez (Galina et al., 2000).

2.1.6. Oviductos

Con un tamaño de 7 pulgadas de largo y $\frac{1}{4}$ de pulgada de ancho cada oviducto (derecho e izquierdo) se convierte en la estructura que une los cuernos uterinos con el ovario, además de ser el sitio donde se lleva a cabo la fertilización. El extremo craneal del oviducto presenta una abertura ancha y delgada en forma de embudo llamada infundíbulo la cual abraza el ovario y captura el óvulo durante la ovulación. Una vez que el óvulo entra al oviducto, viaja y se deposita en la ampolla (la parte media del oviducto) esperando por el espermatozoide para llevar a cabo la fertilización. Si la fertilización ocurre el ovulo fertilizado (embrión) viaja en dirección caudal a través del istmo y la unión uterotubal para llegar al cuerno 3 a 4 días después (Noakes, 2001).

2.1.7. Ovario

Los ovarios son las estructuras más importantes y complejas del tracto reproductor de las vacas debido a que interactúa con otras glándulas y estructuras nerviosas en el cuerpo para poder controlar el ciclo reproductivo de la vaca. El complejo ovario hipotálamo hipófisis se encarga de gobernar las funciones ováricas y uterinas que determinan los diferentes eventos del ciclo estral (celo y gestación). Los ovarios de aproximadamente 1.5 pulgadas de largo y $\frac{1}{2}$ de ancho, contiene dos principales estructuras, el cuerpo lúteo (producción de progesterona) y

los folículos que producen el estradiol y producción de óvulos en diferentes estados de maduras (Hafez, 2002).

2.2. HISTOLOGÍA DEL ÚTERO

El cérvix está tapizado por un epitelio escamoso no queratinizado similar al epitelio vaginal. Este epitelio se divide en tres estratos:

2.2.1. El estrato basal / parabasal o estrato germinal, constituido por una sola hilera de células basales que presentan núcleos alargados que se disponen en forma perpendicular a la membrana basal. Las células parabasales constituyen las dos hileras superiores y son células con mayor cantidad de citoplasma y más grandes que las basales. Estas células son las encargadas del crecimiento y la regeneración epitelial (Boya, 2004).

Está formado por una hilera de células cilíndricas mucíparas que revisten la superficie y las estructuras glandulares. Estas estructuras glandulares son invaginaciones tortuosas del epitelio superficial, no son glándulas verdaderas.³ Las glándulas verdaderas presentan diferentes tipos de epitelio en sus partes secretoras y en sus ductos. En el endocérvix el epitelio mucíparo es el mismo. La ramificación y los cortes determinan que estas ramificaciones presenten un aspecto nodular llamado Tunnel clusters. Las células cilíndricas presentan un núcleo basal con su eje perpendicular a la membrana basal y un citoplasma alto, finamente granular lleno de pequeñas vacuolas mucinosas. Estas vacuolas están constituidas por mucopolisacáridos, lo que puede apreciarse con la técnica de azul Alcian. También cabe observar células cilíndricas ciliadas

que se encargan del transporte del moco– y células argentafines, cuya función se desconoce (Geneser, 2003)

2.2.2. El estrato medio o estrato espinoso, formado por células que están madurando, se caracteriza por el aumento del tamaño del citoplasma. Los núcleos son redondos con cromatina finamente granular. Estas células son las llamadas intermedias en la citología. Ellas pueden tener glucógeno en su citoplasma y dar la imagen característica de una vacuola clara en el citoplasma (Sternberg, 1997).

2.2.3. El estrato superficial: es el compartimento más diferenciado del epitelio. Las células son chatas, presentan abundante citoplasma y un núcleo picnótico característico. La función de estas células es de protección y evitar de infecciones. Su descamación se debe a la escasez de desmosomas. Por debajo del epitelio escamoso se encuentra tejido conectivo con una fina vascularización que nutre al epitelio supra yacente (Cocchia et al., 2012).

El estrato superficial: es el compartimento más diferenciado del epitelio. Las células son chatas, presentan abundante citoplasma y un núcleo picnótico característico. La función de estas células es de protección y evitar de infecciones. Su descamación se debe a la escasez de desmosomas (Kurman et al., 2002)

2.2.4. Endometrio

Presenta dos zonas que difieren en su estructura y función:

Zona superficial o funcional: degenera total o parcialmente durante un ciclo reproductor y puede perderse en alguna especie, regenerándose a

partir de la zona basal. Está revestida por un epitelio que varía según las especies. En carnívoros y yegua es simple cilíndrico, en cerda y rumiantes puede ser simple cilíndrico y/o pseudoestratificado. La altura de las células epiteliales está relacionada con el estado hormonal de la hembra a lo largo del ciclo estral. Bajo el epitelio, aparece un tejido conectivo altamente vascularizado con macrófagos y mastocitos, un número variable de neutrófilos y linfocitos según la fase del ciclo estral y melanocitos en la oveja. En los rumiantes, en esta zona y estando el animal en estro, hay un aumento del fluido intercelular constituyendo un edema endometrial (Gasquez, 2004).

Zona profunda o basal: se presenta durante todo el ciclo y está constituida por un tejido conectivo laxo menos celular. En ambas zonas aparecen glándulas tubulares ramificadas arrolladas revestidas por un epitelio simple cilíndrico con células ciliadas y no ciliadas.

Rumiantes: presentan carúnculas, que son engrosamientos circunscritos del endometrio, ricos en fibroblastos, con una gran irrigación sanguínea y donde no aparecen glándulas. Tienen forma de cúpula en vaca y de taza (depresión central) en oveja y constituyen la unión de la placenta materna (endométrio) con la placenta fetal (cotiledones) (Melendez et al., 2004).

2.2.5. Modificaciones histológicas durante el ciclo sexual

Pueden diferenciarse tres fases:

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).

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 (Gasquez, 2004).

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 (Gasquez, 2004).

2.2.6. Miometrio

Está constituido por dos capas de músculo liso, una circular interna muy gruesa y otra longitudinal externa más fina. Ambas aumentan de grosor durante la gestación. Entre ambas o en profundidad a la interna se desarrolla una zona con gran cantidad de vasos sanguíneos (Meléndez et al., 2004).

2.2.7. Perimetrio

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

2.3. ENDOMETRITIS POST-PARTO

El período post-parto, una gran cantidad de bacterias incluyendo algunas potencialmente patógenas, y algunas de estas bacterias aumentan

paulatinamente en el período puerperal. En algún lugar de la parte inferior del útero cesa la colonización bacteriana y la cavidad se vuelve estéril. La localización de la interface colonizada estéril en el útero post parto normal es desconocida hasta la fecha, pero presumiblemente se encuentre próxima a la unión endometrial-cervical (Sheldon et al., 2008). Durante el trabajo de parto, algunos microorganismos cérvico vaginales penetran a la cavidad uterina, lo cual contribuye para la correlación entre endometritis post-parto y la duración del trabajo de parto. En la mayoría de los casos, los microorganismos entran al líquido amniótico cuando las membranas están rotas las cuales producirán infección uterina. Sin embargo, reportes recientes han demostrado la presencia de organismos dentro de la cavidad amniótica cuando las membranas están intactas (Herath et al., 2005).

El posparto normal debería ser un evento no infeccioso ya que la involución uterina, el flujo unidireccional de los contenidos uterinos y el cierre gradual de cérvix, deberían evitar la contaminación bacteriana. Y el útero se ve invadido por gran cantidad de microorganismos que dependerán de la susceptibilidad del animal, las condiciones del ambiente y la higiene del parto para que se manifieste la infección. El lumen uterino es un factor clave en el desempeño reproductivo posterior al parto, la persistencia de las bacterias patógenas son causales de enfermedades en el útero, las que son causas de infertilidad en vacas lecheras (Sheldon, 2008).

Previamente se reconoció que la *Listeria* podía causar una amnionitis con membranas íntegras, pero como se mencionó previamente, ahora

es evidente que otras bacterias, incluyendo anaerobios, pueden también infectar la cavidad amniótica intacta. En efecto, la colonización bacteriana en el líquido amniótico durante el trabajo de parto puede ser un evento común recuperaron organismos en el 10 % de vacas. El líquido amniótico tiene un efecto antibacteriano, algo de esta acción antibacteriana se relaciona a un polipéptido unido al zinc, mientras que otros sistemas de lisozimas y de inmunoglobulinas indudablemente también limitan el crecimiento de bacterias en el líquido amniótico (Trigo, 1998).

Aunque el trabajo de parto y la ruptura de membranas contribuyen en la mayoría de casos que hay contaminación endometrial y del líquido amniótico, también existen otros mecanismos de infección los cuales ya fueron expuestos anteriormente. Estos mecanismos explican cómo son introducidas las bacterias en la cavidad amniótica o uterina. Luego del parto, grandes cantidades de organismos virulentos se adhieren a la placenta y causan endometritis. En otros casos, las bacterias también entran a través de los grandes canales vasculares venosos, produciendo parametritis, o en las trompas de falopio produciendo salpingitis (Sheldon et al., 2008).

2.4. ETIOLOGÍA DE LA ENDOMETRITIS

Existen diferentes elementos que han sido asociados a la infección uterina, como factores de riesgo. La involución uterina es un proceso dinámico que se sucede alrededor de los 30 a 50 días post parto, siendo más demorado en vacas multíparas que en novillas de primer parto. El puerperio normal es un proceso indiscutiblemente de carácter séptico

durante el cual el útero está sujeto a sufrir infecciones por la penetración de diversos patógenos, sin embargo las infecciones tienden a ser autolimitantes y su presencia y duración depende de factores tales como estado inmunológico de los animales, virulencia de los organismos involucrados, retención de membranas fetales, infecciones secundarias, partos distócicos y presencia de enfermedades metabólicas (Markusfeld, 2001).

EL principal problema de la endometritis no radica en la infección como tal, sino en el mal diagnóstico que se realiza de la misma, lo que provoca, en la mayoría de los casos un tratamiento errado que conlleva a que las infecciones se tornen crónicas. Esta situación afecta directamente la capacidad reproductiva de los animales (Gilbert, 2008).

El útero de todas las vacas se contamina con bacterias después del parto, pero esto no implica necesariamente infección, ni desarrollo de enfermedad uterina. Las vacas normalmente logran controlar esta contaminación e inclusive las infecciones más severas en el transcurso de la involución del útero, pero si la contaminación se traduce en infección y esta persiste, se desarrollará enfermedad uterina (Lewis, 2007).

Las vacas con problemas en el período peri parto presentan una capacidad reducida para controlar las infecciones uterinas. En general, cualquier condición que altere la inmunidad post parto, como por ejemplo la administración de progesterona o glucocorticoides, se convierte en un factor predisponente. Entre otros factores de riesgo establecidos para

estas infecciones se incluye la higiene en el ambiente, nacimiento (sobre todo de gemelos), cesárea, retención de placenta y traumatismos del tejido genital durante la distocia o manipulación. Algunas condiciones metabólicas tales como la fiebre de la leche, cetosis y desplazamiento de abomaso a la izquierda también han sido asociadas a estos problemas (Dobson, 2006).

La endometritis se caracteriza por la presencia de un aumento en el número de neutrófilos en el útero. En muchos casos, el propio sistema inmunológico celular de la vaca es capaz de eliminar la infección dentro de unos días o semanas post parto, sin embargo en algunos animales, pueden desarrollarse endometritis agudas o subclínicas, que en condiciones desfavorables se transforman en endometritis crónicas con presencia de células polimorfos nucleares en constante destrucción, aunque ya no haya agentes infecciosos presentes (Gilbert, 2008).

La endometritis post parto tiene un efecto negativo en la eficiencia reproductiva, aumentando el número de servicios por concepción, intervalo parto primer servicio y aumentando el intervalo parto concepción, los cuales se combinan para disminuir el porcentaje de preñez general sosteniendo que el 40% de los animales desarrollan endometritis en los primeros 20 días, y que luego de este periodo la sostiene un 20% de las vacas, pero el 40% desarrolla endometritis subclínicas aún en los 60 días posteriores al periodo Post parto (Gilbert, 2005).

La infección uterina bacteriana depende en parte de la situación endócrina; en particular la progesterona actúa como supresor de las defensas inmunitarias uterinas. La formación del primer cuerpo lúteo (CL) luego del parto y el incremento de progesterona (P4) precede al surgimiento de la enfermedad uterina, demostró que la infusión con *Arcanobacterium pyogenes* y *Escherichia coli* durante el post parto en vacas en condiciones experimentales, no se producía ninguna afección uterina siempre y cuando los niveles plasmáticos de progesterona se mantuvieran bajos y tardaran en aumentar. Aun así, muchas infecciones uterinas se establecen en la tercera semana después del parto antes de la ovulación del primer folículo dominante (LeBlanc, 2002).

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 (F1, F2 y F3) que varía desde mucoso levemente purulento a francamente purulento con olor desagradable (Dominguez, 2006).

Los PMN 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 de los PMN se encuentra reducida en el post parto de muchas hembras. Esta disminución puede favorecer y predisponer al establecimiento de afecciones uterinas tanto clínicas como subclínicas. 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 (Barlund *et al*, 2008).

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 (Ortega *et al*, 2012).

La inmunidad innata de los neutrófilos es la respuesta primaria en el útero y es la principal afectada. La inflamación y la infección del endometrio retrasan la involución uterina normal; esta es la causa principal de alteraciones en los índices reproductivos (Palmer, 2006).

2.4.1. Endometritis

La endometritis es una condición patológica común, principalmente en el ganado lechero, que impide significativamente la función reproductiva de

los animales provocando pérdidas económicas de variable magnitud y que disminuye en gran medida la eficiencia reproductiva del hato en general. La inflamación del endometrio se inicia comúnmente al momento del parto. En condiciones normales, los animales son resistentes a las infecciones uterinas durante el estro en razón al incremento del flujo sanguíneo y aumento de defensas celulares y humorales, propiciada por altos niveles de estrógenos circulantes (Jiménez, 2005).

Las enfermedades uterinas que se pueden presentar en el post parto están las endometritis, metritis y piometra, que se presentan por factores que son propios del proceso infeccioso o bien por alteraciones inmunológicas tanto celulares como humorales. El criterio de diagnóstico varía de acuerdo a la evaluación clínica, que está relacionado al tratamiento de acuerdo a la etiología (Sheldon, 2008).

Es la inflamación superficial del endometrio, que no se extiende más allá del estrato esponjoso y los tejidos glandulares subyacentes, con evidencia histológica de inflamación. Este proceso es caracterizado por cambios degenerativos en el epitelio superficial, congestión vascular con edema en el estroma y migración de neutrófilos y otras células inflamatorias al área afectada (Foldi, 2006).

Se define como una inflamación del endometrio del útero que se diagnostica a través de la citología, en ausencia de material purulento en vagina. Se define como la presencia del más del 18 % de neutrófilos en citología uterina colectada entre el día 21 – 33 post parto, o más de 10

% de neutrófilos entre los días 34 – 47 post parto en ausencia de signos clínicos. No se altera la ciclicidad, sin trastornos generales; mayor flujo durante el estro, la viscosidad se ve disminuida. A la Palpación del útero y ovarios no tienen particularidades. A la vaginoscopía: durante el estro puede haber prolapso del primer anillo de Burdi, con aumento de flujo mucoso (Kasimanickam et al., 2005).

Durante el período puerperal el 90% de las vacas desarrollan una endometritis moderada. En la mayoría de las vacas los mecanismos de defensa locales logran eliminar la infección y el problema se resuelve en unos días, pero cuando la infección persiste por más de 21 días por ejemplo, como consecuencia de una metritis aguda, y se mantiene la infección, puede desencadenarse un cuadro de endometritis clínica. Los patógenos más comunes en este tipo de cuadros son: *Arcanobacterium pyogenes* y bacterias gram negativas anaerobias obligadas (*Fusobacterium necrophorum*, *Prevotella* y *Bacteroides* ssp.) (Foldi, 2006).

Si la fertilización ocurre satisfactoriamente sin presencia de agentes patógenos durante la gestación, el proceso de infección uterina se inicia una vez desencadenado el parto. Por tales razones, la metritis está asociada directamente con la higiene y el estrés sufrido por el animal al momento de parir (Ferguson, 1993).

Clínicamente la endometritis está caracterizada por la presencia de exudado purulento o mucopurulento en la vagina 21 días o más después del parto. Se le asocia frecuentemente con retardo en la involución

uterina y no está acompañada de signos clínicos sistémicos (Bondurant, 2005).

2.4.2. Proceso inflamatorio

La inflamación es un proceso tisular constituido por una serie de fenómenos moleculares, celulares y vasculares de finalidad defensiva frente a agresiones físicas, químicas o biológicas. Los aspectos básicos que se destacan en el proceso inflamatorio son en primer lugar, la focalización de la respuesta, que tiende a circunscribir la zona de lucha contra el agente agresor. Clásicamente la inflamación se ha considerado integrada por los cuatros signos de Celso: Calor, Rubor, Tumor y Dolor (Larsen et al., 2015).

Fases De La Inflamación

De forma esquemática podemos dividir la inflamación en cinco etapas:

- Liberación de mediadores. Son moléculas, la mayor parte de ellas, de estructura elemental que son liberadas o sintetizadas por el mastocito bajo la actuación de determinados estímulos.
- Efecto de los mediadores. Una vez liberadas, estas moléculas producen alteraciones vasculares y efectos quimiotácticos que favorecen la llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio.
- Llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio. Proceden en su mayor parte de la sangre, pero también de las zonas circundantes al foco.

- Regulación del proceso inflamatorio. Como la mayor parte de las respuestas inmunes, el fenómeno inflamatorio también integra una serie de mecanismos inhibidores tendentes a finalizar o equilibrar el proceso.
- Reparación. Fase constituida por fenómenos que van a determinar la reparación total o parcial de los tejidos dañados por el agente agresor o por la propia respuesta inflamatoria.

Llegada De Moléculas Y Células Inmunes Al Foco Inflamatorio

Desde el punto de vista cronológico, los mediadores de la inflamación van a producir básicamente dos efectos. En una primera fase inicial, alteraciones vasculares que facilitan el trasvase de moléculas desde la sangre al foco inflamatorio, así como la producción de edema. En una segunda fase, más tardía, las propias alteraciones vasculares, así como la liberación en el foco de factores quimio tácticos, determinan la llegada de células inmunes procedentes de la sangre y de los tejidos circundantes (Koo et al., 2009).

2.5-. DIAGNÓSTICO DE LA ENDOMETRITIS

2.5.1-. Diagnóstico clínico 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).

El criterio diagnóstico para endometritis en el período post parto de vacas lecheras ha sido validado examinando los factores asociados con el incremento del intervalo parto concepción. Entre los signos más significativos se encuentran: la presencia de descarga vaginal purulenta o un diámetro cervical mayor de 7.5 centímetros y la presencia de contenido mucopurulento en la vagina, luego de 21 días post parto o más. El diagnóstico definitivo se hace en base a la evaluación histológica de biopsias endometriales (Agurto 2006).

El diagnóstico citológico de endometritis se basa en la proporción de neutrófilos encontrados al realizar un lavado del lumen uterino mediante el uso de Cytobrush. Un caso de endometritis subclínica está definido como el hallazgo de una cantidad de neutrófilos mayor al 18% en muestras citológicas colectadas del útero entre los 21 y 33 días post parto o una proporción de neutrófilos mayor a 10% en muestras colectadas entre los 34 y 47 días post parto, en la ausencia de endometritis clínica (Gilbert, 2008).

2.5.2. Diagnóstico por Cytobrush

Para este diagnóstico se emplea un pequeño cepillo unido a un mango originalmente diseñado para exámenes de citología cervical. El mango puede cortarse de 3 cm o menos e insertarse dentro de una vaina de acero inoxidable de 65 cm de largo por 4 mm de diámetro. Un tubo de acero inoxidable de 5-6 mm de diámetro y 50 cm de largo protegido por una vaina sanitaria plástica, se usa para proteger el instrumento para el pasaje a través del cérvix y vagina, respectivamente. Una vez en el útero, el instrumento es rotado para coleccionar el material celular de la

superficie del endometrio que luego es extendido directamente sobre un portaobjeto y preparado para el análisis microscópico como se describió antes. Las evaluaciones citológicas de la severidad de la inflamación se hacen determinando el porcentaje de neutrófilos contando 10 campos a 40X (Chesta, 2008).

2.5.3-. Diagnostico 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).

2.5.4-. Diagnostico 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 4-5 cm de diámetro hasta los

25-30 días y en las vacas anormales este período puede extenderse hasta los 30-35 días (Sanchez et al., 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 et al., 2009).

2.5.5-. Diagnostico por palpación transrectal

Es probablemente la técnica de diagnóstico más empleada por los veterinarios. 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. Se ha demostrado que la palpación transrectal es un método insensible de diagnóstico. 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 y están preñando de forma

regular. El objetivo es diagnosticar cómo fue la recuperación uterina en esas vacas que acaban de parir, 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).

2.5.6-.Diagnostico por vaginoscopía.

Es considerablemente más sensible, pero a menudo poco utilizada. Comparada con el cultivo uterino, 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 et al., 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 et al., 2009).

El diagnóstico por vaginoscopía falla en identificar todas las vacas con riesgo de tener un bajo desempeño reproductivo debido a endometritis. 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).

2.5.7.-Ultrasonografía

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).

2.5.8. Tinción Diff-Quick

Es una de las tinciones empleadas en citología, que por su rapidez, se emplea como técnica de control para verificar si la prueba de extracción de la muestra ha sido satisfactoria. Esta tinción destaca en que la fijación se lleva a cabo por medio de dejar la muestra secar al aire, aunque también podemos ayudarnos de otros medios para aumentar, aún más

su rapidez, como utilizar un secador. Además de técnica de control nos ayudará, en algunas ocasiones, a visualizar el citoplasma celular, ya que el núcleo celular se ve muy teñido y no se aprecia muy bien las características nucleares. Los resultados que vamos a obtener con esta técnica son los siguientes: Núcleos azules violáceos; Citoplasma azul claro-rosa; Eritrocitos maduros los veremos de un color naranja rosado; Nucléolo de color rosa (Nuñez, 2008).

2.6.-ANTECEDENTES DE LA ENDOMETRITIS

Se tomaron muestras citológicas de la mucosa endometrial de 94 vacas lecheras, las cuales se agruparon por características genotípicas, Grupo 1: 47 vacas Holstein Friesian; Grupo 2: 47 vacas Jersey, entre los 21 y 56 días post parto. Las muestras citológicas de la mucosa endometrial fueron obtenidas utilizando cepillos endocervicales adaptados y los frotices fueron secados al aire y fijados, llevados a laboratorio para ser coloreados mediante la tinción Diff-Quick, luego se procedió a la lectura celular por campos, de las cuales los neutrófilos fueron utilizados para determinar el grado de inflamación de la mucosa uterina, obteniendo un % PMN-N, en relación a las células totales. Se observó que el 59,57% de las vacas Holstein Friesian en estudio son positivas a endometritis subclínica frente al 27,66% de las vacas Jersey existiendo una marcada diferencia porcentual de presentación de endometritis subclínica, asimismo se motro que el 53,8% de las vacas Holstein con 2 lactancias son positivas a endometritis subclínica frente al 11,1% de las vacas Jersey. De la misma manera se observó que el 75,0% de las vacas Holstein Friesian con 4 lactancias son positivas a endometritis subclínica

frente a ningún caso en las vacas Jersey y el 64,0% de vacas Holstein Friesian con 34 a 46 días de lactación, son positivas a endometritis subclínica frente al 23,1% de las vacas Jersey (Reátegui et al., 2016).

Observó que entre los distintos grupos genéticos en vacas primíparas, de las variables estudiadas, el % PMN-N alcanzó un rango entre 0,4% y 4,4%, con una media de 2,2%, reporta que los % PMN-N por grupo genético tanto de vacas primíparas como multíparas no mostraron diferencias significativas entre ellos (Garofolo et al., 2013).

Se utilizaron 134 vacas primíparas y multíparas de raza Holstein Friesian, en posparto comprendido entre 21 a 56 días de leche en diferentes establos lecheros de Arequipa. En cada vaca se tomó una muestra citológica de la mucosa endometrial utilizando cepillos endocervicales adaptados. Los frotis realizados sobre porta objetos limpios fueron fijados al aire, luego se remitieron a laboratorio donde se colorearon mediante la tinción Diff-Quick y se realizó la lectura de los mismos obteniéndose el porcentaje de Polimorfonucleares Neutrófilos (% PMN N), en relación a las células totales (epiteliales + neutrófilos) con una sensibilidad de 77,55 y una especificidad de 38,89 (Reátegui et al., 2015).

Se evaluaron 134 vacas de raza Holstein Friesian de establecimientos lecheros perteneciente a la cuenca de la Irrigación de Majes - Arequipa De cada vaca se tomó una muestra citológica de la mucosa endometrial utilizando cepillos endocervicales adaptados. Los frotices realizados sobre porta objetos limpios fueron fijados al aire, luego se remitieron a

laboratorio donde se colorearon mediante la tinción Diff-Quick y se realizó la lectura de los mismos obteniéndose el porcentaje de Polimorfo nucleares Neutrófilos (% PMN-N). La frecuencia más alta para endometritis subclínica (ES) fue para vacas de cuarta lactancia con un 29,17%, vacas de primera lactancia 28,57%, segunda lactancia 27,78%, y vacas de tercera lactancia 19,05%. De acuerdo el desarrollo de la lactancia se observó un 38,64% de vacas con ES en el rango de 34 – 46, seguido de 35,00 % en el rango de 21- 33 y 17,14% en el rango de 47 – 56 días de lactación (DEL). Se concluye que la frecuencia de ES en los sistemas semi-intensivos estudiados es 26,87% (Arenas et al., 2015).

Se muestrearon y evaluaron 487 vacas con flujo vaginal normal entre 21 y 62 días post parto (dpp). Las curvas ROC (acrónimo de Característica Operativa del Receptor) obtenidas arrojaron valores de corte de 8, 6, 4 y 5 PMN para los intervalos 21-33, 34-47, 48-62 y 21-62 dpp respectivamente (Madoz et al., 2015).

Trabajos de investigación realizados en Perú, reportan valores de prevalencia de 9,09% de ES en post parto de vacas lecheras en sistemas intensivos de la ciudad de Arequipa (Reátegui et al., 2014b), en un segundo trabajo de investigación para la cuenca ganadera de Arequipa reportan una prevalencia de 13,27% (Reátegui et al., 2014a), estos resultados muestran importante dispersión de los valores de frecuencia de la enfermedad estudiada por la menor cantidad de animales muestreados por investigación nacional.

Se utilizaron 274 vacas Holstein clínicamente sanas entre 21 y 56 días post parto, de 4 establecimientos lecheros del sur de la provincia de Santa Fe. Se obtuvieron muestras endometriales por la técnica de Cytobrush, y se determinó el % PMN N para cada vaca, donde el punto o valor de corte para el % PMN N fue de 6.18 % con una sensibilidad del 72.0 % y una especificidad del 88.0 % (Rinaudo et al., 2012).

La prevalencia de la endometritis subclínica en relación a los días de producción de leche, de la vaca lechera Holando Argentino en un sistema intensivo estabulado durante los meses del marzo abril en 177 vacas con 21 a 56 días de leche, mediante cytobrush los resultados fueron los siguientes el 49 % de las vacas observadas independiente presentaron algún grado de inflamación uterina, ya sea clínica como subclínica. Entre los 21 a 33 días de leche el 58,5% las vacas presentaron EC Y ES siendo animales con EC 55,4% los que representaron el 94.7 del total de endometritis (Rinaudo et al., 2010).

En estudios realizados en hatos ganaderos en un sistema semintensivo en los Tambos Argentinos, La prevalencia de la endometritis subclínica oscila entre 35 y 50 % a los 35 - 60 post parto según diferentes informes (Sheldon et al., 2008).

En un estudio reciente, vacas diagnosticadas con metritis durante los primeros 14 días post parto tuvieron una menor tendencia a estar preñadas a los 38 (40.0 vs. 45.3 %) y 180 (34.7 vs. 39.0 %; AOR = 0.70) días posteriores a la IA y un incrementado intervalo entre parto y gestación intervalo medio ente 80 y 84 (Galvão et al., 2009).

En un estudio de causas de infección reproductiva en camélidos indicaron que el grado de inflamación se determinó mediante la evaluación de la cantidad y morfología de los leucocitos (PMN). La presencia de 3 -5 PMN por campo de alta potencia es generalmente relevante en el diagnóstico de endometritis (Tibary *et al.*, 2006).

En citología uterina de vacas Holstein, el 46.9% de las hembras presento citología uterina normal, 8.2% inflamación moderada y 44.9% inflamación severa. El 73,5% (n =36) de las vacas presento neutrófilos en el frotis endometrial, pero en algunos de estos casos los neutrófilos se presentaron en número inferior al requerido para diagnosticarlos como proceso inflamatorio (Pardo 2010).

En vacas a partir de los 5 lavados translúcidos sin sedimento (23.8%), no encontraron evidencia de ningunas respuesta inflamatoria mediada por PMN y/o MN, excepto en una muestra donde solamente observaron ocasionales (células epiteliales de descamación uterina); de los 16 lavados con apariencia anormal en 4 (25%) se observaron, en 3 (18.75%) PMN, en 4 (25%) PMN y en las 5 restantes (31.25%) no observaron celulares, en ninguna de las muestras evaluadas se evidenció respuesta de tipo mononuclear (Sánchez *et al.*, 2011).

Durante el ciclo estral, el porcentaje de PMN nunca supero 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, en donde demostró que

las vacas con endometritis subclínica tuvieron 16.2% de reducción en la tasa de concepción al primer servicio (Vanina 2012).

Vacas con problemas de infertilidad al examen de los PMN, se obtuvo como resultado que el 95% de estos animales se consideraron sin inflamación con recuentos de 0 - 2 PMN (Cocchía *et al*, 2012).

Sostienen que el desequilibrio entre la infección uterina y los mecanismos de defensa celulares y humorales, pueden desencadenar el desarrollo de patologías (Foldi, 2006).

Destacan a los neutrófilos como la primera línea de defensa ante la invasión de microorganismos patógenos en el útero durante el post parto con el consiguiente incremento de células inflamatorias en la luz uterina (Kashimanickam *et al.*, 2005).

Se realizaron exámenes citológicos luego de lavajes uterinos con bajos volúmenes de solución fisiológica en rodeos lecheros, la presencia de neutrófilos en el útero entre los días 40 y 60 post parto es indicativo de vacas con endometritis, y está asociado con un significativo incremento en los días abiertos (39 días en vacas con presencia de neutrófilos) y el porcentaje de rechazos; sin embargo esta técnica ha tenido problemas de repetibilidad debido a que no siempre se puede extraer el fluido del útero por este motivo es que la prueba del Cytobrush se ha sugerido como patrón para diagnosticar endometritis subclínicas. Esta prueba fue utilizada en otros trabajos para el diagnóstico de endometritis clínicas y subclínicas en vacas de leche (Barlund, 2008).

A la palpación (combinando cepillo citológico, cérvix y útero) para el diagnóstico de endometritis con el cultivo bacteriano y las biopsias, entre los hallazgos a la citología endometrial y el cultivo y la biopsia fueron mayores que la palpación, en relación al desarrollo bacteriano, el valor predictivo positivo de la palpación rectal y la vaginoscopia es de 22% y 59% respectivamente, el cytobrush es una técnica más sensible que la simple detección externa de descargas vaginales; mediante esta técnica se pueden identificar correctamente el 65% de las vacas infectadas con *Arcanobacterium pyogenes* (Dohmen., 1995).

El diagnóstico de endometritis en 1900 vacas, fueron examinadas entre los días 20 y 30 pos parto mediante palpación rectal y cytobrush. La presencia de descarga cervical muco-purulenta o purulenta y un diámetro cervical mayor a 7.5cm fueron criterios asociados con reducción en las posibilidades de preñez asociados con la endometritis. La prevalencia de endometritis fue de 16.5 % y se requirió de la Cytobrush, además de la palpación, para diagnosticar 44 % de esos casos. Las vacas con endometritis tuvieron 27 % menos posibilidades de preñez comparadas con las vacas sin endometritis. La vaginoscopia puede ser otra alternativa diagnóstica pero esta técnica fue asociada con la disminución del porcentaje de preñez a primer servicio (Herath et al., 2005).

Las vacas con problemas en el período peri parto presentan una capacidad reducida para controlar las infecciones uterinas. En general, cualquier condición que altere la inmunidad post parto, como por ejemplo la administración de progesterona o glucocorticoides, se convierte en un

factor predisponente. Entre otros factores de riesgo establecidos para estas infecciones se incluye el nivel de higiene en el ambiente, nacimiento (sobre todo de gemelos), cesárea, retención de placenta y traumatismos del tejido genital durante la distocia o manipulación. Algunas condiciones metabólicas tales como la fiebre de la leche, cetosis y desplazamiento de abomaso a la izquierda también han sido asociadas a estos problemas (Christensen et al., 2009).

En la región central de Cuba, investigaron bacteriológicamente secreciones cervicales en 104 vacas gestantes 15 días antes del parto y del cérvix y útero de 93 de esos animales en fase puerperal, 7 días después del parto. Los resultados en vacas gestantes revelaron un 60,5% de aislamientos bacterianos, principalmente de *Echericha coli* y *S. citreus*. En las vacas en fase puerperal aislaron gérmenes en el 61,2% de las secreciones cervicales y en el 73,9% de las uterinas, con mayor frecuencia *Echericha coli* y *S. albus*, es decir, ligeramente superiores a la frecuencia de aislamientos en las vacas gestantes (Dohmen, 1995).

La citología endometrial y la presencia de fluido en el útero identifican vacas con metritis, el nivel de concordancia entre los dos tests fue bajo. Esto parecería sugerir que cada uno de estas pruebas identifica diferentes grupos de vacas. La citología endometrial identifica vacas con una respuesta celular mientras que la ultrasonografía identifica vacas con los mecanismos de limpieza del útero dañado (Chesta, 2008).

Se categoriza la citología normal (< 2 neutrófilos), inflamación moderada (2 – 5 neutrófilos) e inflamación severa (>5 neutrófilos) por la técnica de

Citocepillo. El 10% de las vacas fértiles presentan citología uterina normal que es menor a 2 neutrófilos por campo, mientras que el 90% de vacas denominadas infértiles no presentaron PMN (Riddle et al., 2007).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1.- UBICACIÓN

El estudio se realizó en el Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla Universidad Nacional del Altiplano, dirigida por la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, ubicado en el distrito de Umachiri, provincia de Melgar, región de Puno, teniendo una extensión total de 4, 316 Has. A una distancia de 156 Km. de la ciudad de Puno, Geográficamente se encuentra entre las coordenadas Latitud Sur 14° 47' 37", Longitud Oeste 70° 47' 50", Altitud de 3974 msnm (SENAMHI, 2013).

Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de histología y embriología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, que queda ubicada a 3824 metros de altitud.

3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL

3.2.1. Animales en estudio

El Grupo de estudio estuvo conformado por 42 vacas con el rango establecido de 21 a 33 días post parto, para su muestreo correspondiente en los meses de diciembre 2015 enero y febrero del 2016 (época de lluvia), en las mismas condiciones de alimentación y manejo, esta será corroborado con los registros de producción del CIP Chuquibambilla.

3.2.2. Diseño experimental

cuadro 1 Distribución de los animales para experimentación

Partos	Nro. Animales	Endometritis subclínica
Primer parto	11	Grado de inflamación
		Porcentaje PMN
Segundo parto	16	Grado de inflamación
		Porcentaje PMN
Tercer parto	13	Grado de inflamación
		Porcentaje PMN
Cuarto parto	2	Grado de inflamación
		Porcentaje PMN
Total.	42	

3.5. METODOLOGÍA

3.5.1. Selección de vacas post parto

- Los animales inicialmente fueron identificados conforme a los registros existentes en el programa de vacunos del CIP – Chuquibambilla.
- Se seleccionaron vacas entre 21 a 33 días de post parto, las cuales fueron examinadas clínicamente mediante palpación rectal a fin de evaluar que se encuentren libres de patologías en el aparato genital como endometritis clínica, posteriormente, fueron identificadas con el número de arete que presentan y se incluirán al estudio.

3.5.2. Preparación de las vacas (antes de la evaluación)

Cada jornada de trabajo se realizó por la mañana.

- inmovilización de los animales en el brete.
- Se insertó suavemente una mano enguantada y lubricada en el recto en forma de cuña.
- Remoción de heces de la ampolla rectal con una suave estimulación del reflejo normal de defecación.
- Lavado de toda la zona perineal y órganos genitales externos (vagina y ano) con agua tibia y jabón.

3.5.3. Técnica de toma de muestra mediante cytobrush

Primero: Las muestras endometriales para el examen citológico se recolectó utilizando la técnica de Cytobrush modificado para el uso en grandes animales. Se utilizó un cepillo para citología endometrial (cito cepilló), el cual se recortó a 3 cm de longitud y se acopló en la parte posterior de la pistola de inseminación artificial.

Segundo: La toma de muestra para citología endometrial se realizó mediante cateterismo cervical con una preparación técnica similar a la de la inseminación artificial: lavado y desinfección de la región perineal, introducción de la pistola de inseminación con el cito cepilló a través de la vagina y paso de la pistola por los anillos del cuello uterino.

Tercero: Una vez que se llegó a la luz del cuerpo del útero, la pistola es desenvainada para exponer el cito cepilló y se procedió a tomar la citología endometrial, realizando una sola rotación en la pared uterina (endometrio).

Cuarto: se retrajo el disparador y/o embolo de la pistola de inseminación artificial para ocultar el Cytobrush, y en seguida se retiró el instrumento del útero.

Quinto: se realizó la fijación en la lámina porta objetos y el secado respectivo al medio ambiente.

Sexto: La muestra se rotuló de acuerdo a la identificación de la vaca, luego se colocó en un porta láminas hasta ser transportado al laboratorio de histología y embriología en la ciudad universitaria de la FMVZ de la UNA Puno.

3.5.6. Coloración de diff quick

- Extraída la muestra, se extendió en el portaobjetos y se dejó secar al medio ambiente.
- Se sumergió el porta objetos con la muestra en el líquido fijador para Diff-Quick durante 1 minuto.
- Se colocó el porta objetos con la muestra en el colorante I (sin lavar la muestra previamente) durante 1 minuto.
- Se puso el porta objetos con la muestra en el colorante II (sin lavar la muestra previamente) durante 1 minuto.
- Se lavó con agua y posteriormente se dejó secar al medio ambiente.
- Se observó en el microscopio primero a 10X y luego a 40X.

3.5.7.- Recuento de neutrófilos

Primero. Se determinó la cantidad de células inflamatoria de la muestra con un objetivo de (40X), en un total de 10 campos elegidos al azar. (Dascanio *et al.*, 1997)

Segundo. Los frotis citológicos obtenidos de cada a vacuno fueron estudiados mediante un microscopio óptico, registrando cada hallazgo, en la cual los hallazgos fueron cuantificados según: (Riddle *et al.*, 2007).

Citología normal : < 2 neutrófilos

Inflamación moderada : 2 -5 neutrófilos

Inflamación severa : >5 neutrófilos

3.6.-MÉTODO ESTADÍSTICO:

El método estadístico diseño completamente al azar (DCA)

(Montgomery 2015).

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

donde:

Y_{ij} = Variable respuesta en la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento

μ = Media general

τ_i = Efecto del tratamiento i.

ε_{ij} = Error aleatorio

Prueba de tukey

$$DSM = q_{\alpha, K, E_{error}} \sqrt{\frac{2CM_{error}}{n}}$$

Prevalencia

La prevalencia de la endometritis subclínica se determinó mediante la siguiente fórmula (Thrusfield1990).

$$P = \frac{\text{Recuento De Neutrófilos } > 2}{\text{Total de muestras}} \times 100\%$$

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. PREVALENCIA DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA

Tabla 1: Prevalencia de la endometritis subclínica en vacas post parto del CIP Chuquibambilla

Nº de vacas examinadas	Nº de vacas positivas	Porcentaje de vacas positivas (%)
42	12	28.57

FUENTE: PROPIA

En la tabla N° 2, se observa la prevalencia general de 28.75 % de la endometritis subclínica en vacas post parturientas a los 21 a 33 días, diagnosticadas mediante la técnica Cytobrush, esta alteración de la endometritis subclínica afecta a la fisiología reproductiva de los animales y por ende refleja a que se presente bajos índices de fertilidad en esta especie. Este valor es mayor al reporte de Reátegui *et al.*, (2014a), quién realizo trabajos de investigación en Majes Arequipa, reportando valores inferiores de prevalencia de 9,09% de endometritis subclínica en vacas postparturientas manejadas en forma intensiva, asimismo Reátegui *et al.*, (2014b), para la cuenca ganadera de Arequipa reportan una prevalencia de 13.27%, estos resultados indican que en hatos de vacunos lecheros se encuentran la enfermedad subclínica que afecta al estado reproductivo y alargar el periodo parto concepción, esto se manifiesta con el 28.57% hallado en el trabajo de investigación, se debe a que las vacas susceptibles a la endometritis subclínica en la que la respuesta celular y humoral se muestra ligeramente afectada, esto conduce a la persistencia bacteriana y por ende a la activación de neutrófilos, que muestran su capacidad de migración y fagocitosis

reducida, probablemente debido al incremento de enzimas pro inflamatorias y lisozimas en útero, que intervienen en el proceso inflamatorio y la acción de los neutrófilos frente a la endometritis subclínica (LeBlanc *et al.*, 2011).

Valores inferiores a nuestro resultado encontró Arenas *et al.*, (2015), que en 134 vacas de raza *Holstein Friesian* en establecimientos lecheros perteneciente a la cuenca de la Irrigación de Majes – Arequipa; donde de cada una de las vacas se tomaron muestras citológicas de la mucosa endometrial utilizando cepillos endocervicales adaptados; en el cual encontró valores de 26.87% de endometritis subclínica bajo un sistema semi-intensivo. Reátegui *et al.*, (2016) en muestras citológicas de la mucosa endometrial de 94 vacas lecheras, a las cuales los agrupó por características genotípicas, Grupo 1: 47 vacas *Holstein Friesian*; Grupo 2: 47 vacas *Jersey*, entre los 21 y 56 días post parto; de los cuales reporto el 59.57% de las vacas *Holstein Friesian* con endometritis subclínica, comparado a las vacas *Jersey* que muestra el 27.66%; estos valores son inferiores al resultado del presente estudio realizado en vacunos criollos del CIP Chuquibambilla; esta diferencia se debe al factor medio ambiente, ya que las vacas son criadas bajo un sistema extensivo y el manejo reproductivo es por monta natural, mientras que las vacas criadas en Arequipa se manejan en un sistema semi intensivo y con inseminación artificial, que probablemente las medidas asépticas en el proceso de inseminación no sean las adecuadas.

Los trabajos realizados por Gilbert *et al.*, (2005) y Sheldon *et al.*, (2008) encuentran prevalencias que oscilan entre 35 y 50% de endometritis

subclínica en vacas a los 35 – 60 días post parto, con manejo en forma intensiva; y Cheong *et al.* (2011) reporta un valor de 25.9%, Kaufman *et al.* (2010) un valor de 12.4% de prevalencia de endometritis, en cambio Madoz *et al.*, (2013) en estudios realizados en tambos de Argentina bajo condiciones de pastoreo, la prevalencia de endometritis en vacas clínicamente sanas fue del 17.0% (21 - 62 días post parto); y en un segundo estudio con muestras de flujo vaginal normal de 487 vacas entre 21 y 62 días post parto reporto el 22% de prevalencia de endometritis subclínica a diferencia que el 28.75% del trabajo de investigación en vacas lecheras del CIP Chuquibambilla, muestra valores superiores, ya que se debe a que las vacas con problemas en el período peri parto presentan una capacidad reducida para controlar las infecciones uterinas, ya que la progesterona actúa como supresor de las defensas inmunitarias uterinas (LeBlanc, 2002). En general, cualquier condición que altere la inmunidad post parto, como por ejemplo la administración glucocorticoides, que se comporta como un factor predisponente en la baja de inmunidad por la aplicación repetida de corticosteroides, estando de acuerdo con lo que manifestó Dobson, (2006) y además manifestó entre otros factores de riesgo establecidos para estas infecciones que esta la higiene en el medio ambiente, nacimiento (sobre todo de gemelos), cesárea, retención de placenta y traumatismos del tejido genital durante la distocia o manipulación durante el proceso de parto y algunas condiciones metabólicas tales como la fiebre de la leche, cetosis y desplazamiento de abomaso a la

izquierda que también han sido asociadas a estos problemas (Dobson, 2006).

Tabla 2: Prevalencia de la endometritis subclínica en vacas post parto del CIP chuquibambilla según número de parto

		ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA				% Total N de tabla
		SANO		ENFERMO		
		Recuento	% del N de fila	Recuento	% del N de fila	
PARTO S	1	11	100,0%	0	0,0%	^a 0,0%
	2	13	81,3%	3	18,8%	^a 7,1%
	3	6	46,2%	7	53,8%	^b 16,7%
	4	0	0,0%	2	100,0%	^c 4,8%

FUENTE: PROPIA

($P \leq 0.01$)

En la tabla N°2, se observa la tasa de prevalencia de endometritis en vacas del Centro de Investigación Chuquibambilla, por efecto del número de partos; donde las vacas de tercer parto presentaron 16.67% que fue mayor comparado a las vacas de segundo parto que mostraron 7.14% y las de cuarto parto 4.76%; mientras las vacas de primer parto no mostraron la enfermedad; estos valores analizados diseño completamente al azar, reflejaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) observando que las vacas del primero(a) y segundo(a) tiene una diferencia altamente significativa frente a las vacas del tercer parto (b) y frente las vacas del cuarto parto (c).

En trabajos realizados por Arenas *et al.*, (2015) evaluaron 134 vacas de raza *Holstein Friesian* de establecimientos lecheros perteneciente a la cuenca de la Irrigación de Majes – Arequipa, se tomaron muestras citológicas de la mucosa endometrial utilizando cepillos endocervicales adaptados, en las cuales realizaron frotices sobre porta objetos que

fueron fijados al medio ambiente, luego se remitieron a laboratorio donde se colorearon con la tinción Diff-Quick y en la lectura encontraron el porcentaje de Polimorfo Nucleares Neutrófilos (PMN), siendo la frecuencia más alta para endometritis subclínica (ES) para vacas de cuarta lactancia con un 29,17%, vacas de primera lactancia 28,57%, segunda lactancia 27,78%, y vacas de tercera lactancia 19,05%. En el presente estudio también se ha utilizado la misma técnica para la tinción en la que se obtuvo valores considerables de endometritis subclínica, la frecuencia más alta para endometritis subclínica fue para vacas de tercera lactancia con un 16.67%, vacas de segunda lactancia 7.14%, cuarta lactancia 4.76%, y vacas de primera lactancia 0.00%, estas mismas características se presentaron en vacas multíparas en el CIP Chuquibambilla, de ello se desprende que la inmunidad uterina en vacas multíparas probablemente sea baja, que esta estaría influenciada uno por la edad, la alimentación y el sistema de crianza de los animales, que esto estaría reflejado por las condiciones que se le da en el medio ambiente, es por ello que el posparto normal debería ser un evento no infeccioso en toda especie animal, ya que la involución uterina, el flujo unidireccional de los contenidos uterinos y el cierre gradual de la cérvix, deberían evitar la contaminación bacteriana, sin embargo en ciertos animales al post parto el útero se ve invadido por gran cantidad de microorganismos que dependerán de la susceptibilidad del animal (respuesta inmune), las condiciones del ambiente, retención de placenta, partos distócicos, enfermedades metabólicas, infecciones secundarias,

higiene del parto, que probablemente sean los factores que están comprometidos para que se manifieste la infección (Markusfeld, 2001).

El lumen uterino es un factor clave en el desempeño reproductivo posterior al parto, la persistencia de las bacterias patógenas dentro de la flora uterina son causa de enfermedades en el útero, las que llegan a producir infertilidad en vacas por endometritis, metritis y piometra, coincidiendo con lo que manifiesta Sheldon, (2008), y es probable que la persistencia de bacterias patógenas sean las que estén presentes en las vacas del CIP Chuquibambilla, motivo por el cual se obtuvo una prevalencia muy considerable de endometritis subclínica.

En otro trabajo de investigación Reátegui *et al.*, (2016) en la que tomo muestras citológicas de la mucosa endometrial de 94 vacas lecheras, las cuales fueron agruparon por características genotípicas, Grupo 1: 47 vacas *Holstein Friesian*; Grupo 2: 47 vacas *Jersey*, entre los 21 y 56 días post parto, las muestras citológicas de la mucosa endometrial fueron obtenidas utilizando cepillos endocervicales adaptados y los frotices fueron secados, fijados y coloreados mediante la tinción Diff-Quick, luego se procedió a la lectura celular por campos, de las cuales los neutrófilos fueron interpretados para determinar el grado de inflamación de la mucosa uterina, obteniendo un porcentaje PMN-N, en relación a las células totales; el 59,57% de las vacas *Holstein Friesian* mostraron positivas a endometritis subclínica y el 27,66% de las vacas *Jersey* positivos a endometritis sub clínica, la frecuencia de endometritis subclínica en segunda lactación tiene valores de 53,8% de las vacas *Holstein*, frente 11,1% de las vacas *Jersey*. De la misma manera se

observa que el 75,0% de las vacas *Holstein Friesian* con 4 lactancias dieron positivas a endometritis subclínica frente a ningún caso en las vacas de la raza Jersey a la cuarta lactación, en el presente trabajo se encontró un valor de 7.14 % en segunda lactación y 4.76 % en cuarta lactación estos valores son menores a los encontrados por Reátegui (2016), de esto se deduce que en el útero de las vacas se produce cierta contaminación bacteriana cuando se suscita especialmente el parto y al post parto inmediato, pero este hecho no implica necesariamente infección uterina, ya que las vacas normalmente logran controlar esta contaminación e inclusive las infecciones más severas en el transcurso de la involución del útero por acción de la respuesta inmune, pero si la contaminación se traduce en infección y esta persiste, se desarrollará enfermedad uterina en los animales, con mayor frecuencia en los animales que tienen más de cuatro partos, que según este estudio son los más susceptibles a este tipo de enfermedades, coincidiendo con lo que manifiesta (Lewis, 2007). Estas diferencias posiblemente se debe a que las vacas del segundo, tercer y cuarto parto estén influenciadas por el medio ambiente y condiciones propias de los animales, el cual estaría interviniendo en la respuesta inmune celular por la presencia del proceso inflamatorio a nivel del endometrio uterino y detro de otros factores estaría la ocurrencia de partos múltiples, partos distócicos que serían los más importantes para la presencia de la endometritis subclínica.

Tabla 3 Grado de inflamación de la endometritis subclínica en vacas post parto del CIP Chuquibambilla según el grado de inflamación

		PARTOS							
		1		2		3		4	
		Recuento	% del N de columna						
NEUTROFILOS	SANO < 2 PMN	11	100,0%	13	81,3%	6	46,2%	0	0,0%
	ENFERMO 2 - 5 PMN	0	0,0%	3	18,7%	7	53,8%	2	100,0%

En la tabla N° 3, se evidencia el grado de inflamación de la endometritis subclínica en vacas post parto a los 21 a 31 días, según recuento de neutrofilos; el grado de inflamación con presencia de menos a 2 polimorfonucleares en 10 campos de estudio, mostraron las vacas que tuvieron primer, segundo y tercer parto de 100, 81.3, 46.2 respectivamente y para el cuarto parto no se encontró neutrófilos en el estudio citológico que represento el 0.0 %. Con presencia de 2 a 5 neutrofilos en 10 campos de estudio, mostraron 0.0, 18.7, 53.8 y 100 % para vacas de primer, segundo, tercero y cuarto parto respectivamente. De acuerdo al criterio de clasificación para la citología endometrial según Riddle *et al*, (2007) lo categoriza en: Citología normal (<2 neutrófilos), inflamación moderada (2 – 5 neutrófilos) e inflamación severa (>5

neutrófilos), esta clasificación fue tomada en las vacas que se sometieron a estudio.

En el estudio se consideró el recuento de los neutrófilos para determinar la endometritis subclínica en las vacas, esto debido a que la inmunidad innata de los neutrófilos es la respuesta primaria en el útero y es la principal afectada. El grado de inflamación y la infección del endometrio retrasan la involución uterina normal; esta es la causa principal de alteraciones en los índices reproductivos (Palmer, 2006). Los PMN 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 de los PMN se encuentra reducida en el post parto de muchas vacas, esta disminución puede favorecer y predisponer al establecimiento de afecciones uterinas tanto clínicas como subclínicas, tal como se suscitó en las vacas que se sometieron a estudio. La inflamación subclínica del endometrio, para poder ser diagnosticada, necesita de un método complementario como el análisis citológico, puesto que el animal no presenta ningún signo local o general que oriente al clínico a pensar en la existencia de una patología uterina (Sheldon, 2008).

Del 100% de los vacunos con primer, segundo, tercer y cuarto parto, 30 presentaron menores a <2 PMN/10 campos, 12 vacunos presentaron recuentos entre 2 a 5 PMN/10 campos, por lo que se considera este hecho como una enfermedad subclínica a nivel del útero, los resultados

de la presente investigación son similares a los reportados por Cocchia *et al*, (2011) quienes estudiaron vacas con problemas de infertilidad en Italia obteniendo como resultado que el 95% de estos animales se consideraron sin inflamación con recuentos de 0-2 PMN. Asimismo Sánchez (2011) quien investigó vacas con problemas reproductivos, el 18.75% presentaron PMN y el 31.25% no se observó celularidad, lo que indica una adecuada respuesta al estado inmunológico frente a una patología uterina, tal como lo manifiesta Fernández *et al*, (2006), mientras que Barlund *et al*, (2008) indica que se puede observar PMN en una proporción leve durante la fase del estro sin que esto implique proceso infeccioso, pero la presencia de neutrófilos al post parto indica infección uterina subclínica tal como se obtuvo en los resultados del presente estudio.

Foldi *et al*, (2006) sostienen que el desequilibrio entre la infección uterina y los mecanismos de defensa frente a los antimicrobianos propios del útero, pueden desencadenar el desarrollo de patologías. En la presente investigación al tratarse de vacas aparentemente normales se observó inflamación leve en animales del segundo y tercer parto, por tanto se asume que estos animales tienen una deficiente respuesta inmune ya que la persistencia bacteriana conduce a la activación de neutrófilos y fagocitosis, también los neutrófilos activados muestran una capacidad de migración y fagocitosis reducida, probablemente debido al incremento de radicales libres y lisozimas que acortan su vida útil (LeBlanc *et al*, 2011). Por lo tanto la presencia de PMN menor a 2 es citología normal, y de 2 hasta más de 5 PMN en vacas indicaría inflamación, pero se

atribuye directamente a la involución uterina similar a lo que afirmaron Fernández Baca *et al.*, (2012), tiempo de duración de la involución uterina que es de 12 – 15 días.

La presencia de Polimorfonucleares (Neutrófilos) en vacunos criollos llevados a la prueba estadística diseño completamente al azar ($P \leq 0.01$), muestra que existe relación entre el número de polimorfonucleares (neutrófilos) con las características de inflamación por lo tanto para existir inflamación debe haber mayor cantidad de polimorfonucleares tal como menciona Asbury (2009); que la presencia de abundantes neutrófilos en el frotis citológico indica que la vaca tiene endometritis aguda. La presencia de PMN leve denominado como citología normal en vacas criollos, se debería a que dichas vacunos son susceptibles al proceso inflamatorio con la capacidad de poder mantener una respuesta humoral y celular.

V. CONCLUSIONES

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 ($P \leq 0.01$).

VI. RECOMENDACIONES

Utilizar la técnica de Cyrobuch coloreada con Diff-Quick para el diagnóstico temprano de la endometritis en vacas post parto.

La técnica de Cyrobuch debe ser realizada por personal calificado.

El cepillo del Cyrobuch, siendo de uso humano, esta debe ser adaptada para su ulterior utilización.

VII. REFERENCIAS

- Arenas E, J. Reátegui, F. Fernández, A. Rinaudo, A. Cuadros, P. Marini. 2015.** Frecuencia de endometritis subclínica en el post parto de vacas lecheras en Arequipa. *Spermova*; 5(1): p 93 – 96.
- Azawi, OI. 2008.** infección uterina post parto en el ganado. *Reproducción Animal Ciencia* 105:p187-208.
- BonDurant, R.H. 2005.**Inflammation in the bovine female reproductive tract. *J. Dairy Sci.*,82 (suppl. 2) 101-110pp.
- Barlund, C.S.2008.** comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology* ; 69, 714-723pp.
- Boya, s.2004.** Histología microscópica de grandes animales, Buenos Aires. vol 1.122-125pp.
- Cocchia A, J Ploentzke. 2012.** Endometritis subclinical in postpartum cows in an intensive system. Switzerland: Springer International Publishing. doi: 10.1007 / 978-3-319-06160-3_2
- Chesta, P. 2008.** Diagnostico e incidencia de endometritis en vacas lecheras. Segundas jornadas de discusión en biotecnologías reproductivas. IRAC. Carlos Paz. Argentina.
- Christensen BW, M. Drost, MHT. Troedsson. 2009.** Disease of the Reproductive System En: Smith BP, ed. Large animal internal medicine. 4ta ed. USA. Mosby-Elsevier. 1419-1483pp.
- Dobson, H. 2006.** Utilice de la vaca como un modelo animal grande de la infección uterina y la inmunidad. *Diario de Inmunología Reproductiva* 69: p13-22.
- Dohmen, M.J. 1995.** The relationship between bacteriological and clinical findings in cows with subacute/chronic endometritis. *Theriogenology*, 43:1379-1388.
- Dominguez, G. 2006.** Effect of clinical endometritis on reproductive performance in Holstein cows in Argentina. *Theriogenology* 66, 679-680.
- Ferguson, JD. 1993.** Enfermedades que afectan la reproducción en hatos lecheros. Universidad de Pennsylvania. Scholl de Medicina Veterinaria.

- Földi, J. 2006.** Complicaciones bacterianas de la involución uterina post parto en el ganado. *Reproducción Animal Ciencia* 96: 265-281.
- Gauna, C. 2007.** Obstetricia y Fisiopatología de la Reproducción. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNL Mexico.
- Garofolo F, J Reátegui, S. Bernardi, A. Rinaudo, P. Marini. 2013.** Determinación del porcentaje de PMN en la secreción uterina en el post parto en vacas lecheras de diferentes grupos genéticos. *SPERMOVA*; 3(1): 55-56.
- Gasquez, A. 2004.** Tratado de histología veterinaria.
- Galvão, K.N., L.F. Greco, J.M. Vilela, M.F. Sá Filho, and J.E. Santos. 2009.** Effect of intrauterine infusion of ceftiofur on uterine health and fertility in dairy cows. *J Dairy Sci.* 92:1532-1542
- Galina CS, J. Hernández, A. Porras. 2000.** Inseminación artificial y reproducción bovina., Buenos Aires. vol 1, 345-444pp.
- Gilbert, R.O. 2005.** Prevalencia de endometritis y sus efectos sobre el rendimiento reproductivo de las vacas lecheras. *Theriogenology* 64: 91-106pp.
- Gilbert, RO. 2008.** La incidencia de endometritis y efectos sobre el rendimiento reproductivo de las vacas lecheras. *Theriogenology*, 49: 251pp.
- Hafez, B. Ese. 2002.** Reproducción e inseminación artificial en animales. Mexico. 7ma edición, 70-111pp.
- Herath, S. 2006.** Utilice de la vaca como un modelo animal grande de la infección uterina y la inmunidad. *Diario de Inmunología Reproductiva* 69: 13-22pp.
- Herath S, H. Dobson, CE. Bryant, IM. Sheldon. 2005.** Estudio de la patología endometrial y enfermedades intrauterinas. Mexico. vol1, 10-23pp.
- INEI, 2014.** censo nacional agropecuario puno, Perú, en:
<http://censos.inei.gob.pe/Cenagro/redatam/>
- Kasimanickam, R., T.F Duffield, R.A Foster, C.J Gartley, K.E Leslie, J.S Walton,, W.H Johnson,, 2005.** A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *The Canadian veterinary journal. La revue veterinaire canadienne* 46, 255-259

- Jiménez, C. 2005.** Lecturas Sobre Reproducción Bovina. II. El ciclo estral de la vaca. Empresa Editorial Universidad Nacional. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Bogotá.
- LeBlanc, S. J. 2002.** Defining and Diagnosing Postpartum Clinical Endometritis and the impact on Reproductive Performance in Dairy Cows. *J.Dairy Sci.* 85:2223-2236.
- LeBlanc, AG. Domínguez, S. Migliorisi, 2011.** Incidencia de la endometritis y la respuesta inmunitaria. reproducción en animales de producción.
- Larsen GL, PM Herison, 2015.** Mediators of inflammation. *Ann. Rev. Immunol.;* rager, Barcelona. vol1.
- Lewis, GS. 2007.** salud uterina y trastornos. Barcelona, 80: 984-994
- Nuñez, OL. 2008.** Patología Clínica Veterinaria, U.N.A.M. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, México, vol 1.
- Madoz Lv, M Jaureguiberry, AG Domínguez, S Migliorisi, 2015.** Endometritis subclínica en vacas de tambo argentina.vol 1,233-456.
- Markusfeld, O. 2001.** Los factores responsables de la metritis después parturienta en el ganado lechero (Resumen). *Veterinary Record* 114 (22): 539-542.
- Melendez P, J McHale, J Bartolome, LF Archbald, GA Donovan.2004.** Uterine involution and fertility of Holstein cows subsequent to early postpartum PGF2 α treatment for acute puerperal metritis. *J Dairy Sci* 87: 3238-3246.
- Miller, H.V.1980.** Endometritis of dairy cattle: diagnosis, treatment, and fertility. *The Bovine Practitioner* No. 15: 13-23.
- Montgomery, D.C.2015.** Diseño y Análisis de Experimentos Grupo editorial Iberoamericana.No.32-45
- Noakes, D.E. 2001.** In: Arthur's Veterinary anatomy and Obstetrics, 8th ed. Harcourt Publishers Ltd. London, UK, pp. 497-499.
- Ortega M, O. Marro. 2012.** Diagnóstico de endometritis subclínica en vacas Holando Argentino entre los días 40 al 70 post parto [tesis de maestría]. La Plata:Facultad de Ciencias Veterinarias, Departamento de Prácticas Pre profesionales, Universidad Nacional de la Plata, La Plata, Argentina

- Palmer, C. 2006.** Endometritis en vacas de leche. In: Jornadas de Actualización en Biotecnologías de la Reproducción en Bovinos, Córdoba, Argentina.
- Reátegui J, E. Arenas, F. Fernández. 2016.** Impacto de la endometritis subclínica en la performance reproductiva de vacas lecheras en sistemas intensivos de producción de leche, Arequipa. SPERMOVA, 5(1): 15 – 19
- Reátegui J, S. Cuadros, F. Fernández 2015.** Punto de corte de polimorfos nucleares neutrófilos para diagnóstico de endometritis subclínica por citología endometrial en vacas lecheras. En sistemas intensivos de producción de leche, Arequipa. SPERMOVA, 5(1): 79 - 82
- Reátegui J, A. Marini, F. Fernández, A. Rinaudo, S. Cuadros, P. Marini 2014a.** Endometritis subclínica en el post parto de vacas lecheras en sistemas intensivos de producción de leche, Arequipa. SPERMOVA,; 04(1): 74 -76
- Reátegui J, A. Marini, F. Fernández, A. Rinaudo, S. Cuadros, P. Marini 2014b.** Prevalencia de endometritis subclínica en post parto 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.: pp. 315 - 316.
- Rinaudo A, S. Bernardin. 2012.** Prevalencia de endometritis subclínica en vacas lechera en post parto en sistema intensivo estabulado revista ciencia veterinaria argentina
- Rinaudo A, F Fernández. 2010.** 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.
- Riddle WT, MM LeBlanc, AJ Stromber, 2007.** Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. Theriogenology 68: 395-402
- Sanchez S, G Dominguez. 2011.** Subclinical endometritis and its impact on reproductive performance in grazing dairy cattle in Argentina. Animal Reproduction Science. ; 122(1-2):527
- Senamhi, 2013.** Servicio nacional de meteorología e hidrología del Perú. Boletín regional.

- Sheldon, IM. 2008.** Defining Postpartum Uterine Disease and the Mechanisms of Infection and Immunity in the Female Reproductive Tract in Cattle. *Biol Reprod.* 81(6):1025- 1032.
- Geneser F. 2003.** Histología. 3ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.
- Kurman RJ. Blaustein's 2002.** Pathology of the female genital tract; 3rd ed., New York: Springer-Verlag.
- Koo CH, JW Sherman, L. Band, E Goetzl. 2009.** Molecular diversity of human leukocyte receptors. *Adv. Prostaglandin Thromboxane Leucotriene Res;* 191.
- Sheldon IM, DC. Barret, H. Boyd. 2008.** The postpartum period. En: Andrews A, Blowey R, Boyd H, Eddy R, eds. *Bovine Medicine Diseases and Husbandry of Cattle.* USA. Blackwell Science Ltd. p 508-538.
- Tibary A, A. Anouass, A. Sghiri. 2006.** Causas infecciosas de pérdida reproductiva en camélidos en la granja georya New Zelanda. *ELSEVIER,*; páginas 633-647.
- Trigo Tavera, F. J., 1998,** Patología sistemática veterinaria, 3* Edition. McGraw-Hill. Interamericana, México, 421 pp.
- Vanina G, 2012.** Subclinical endometritis and its impact on reproductive performance in grazing dairy cattle in Argentina. *AnimReprodSci,* p122:52-57.

ANEXOS

MATERIAL Y EQUIPOS

Materiales de campo

- Guantes de palpación rectal
- Sogas.
- Soguillas
- Baldes con agua
- Jabón carbólico
- Mameluco
- Mesa
- Toallas
- Libretas de campo
- Lapiceros

Toma De Muestra

- Pistola de inseminación
- Funda de inseminación
- Cytobruns(cepillos citológicos)

Material Para Frotis

- Porta objetos
- Tinción Diff Quick
- Cubre objetos

Equipos

- Microscopio binocular

Material Para Tinción

- Gradilla
- Tinción Diff Quick

INSTALACIONES

Se utilizaron instalaciones necesarias ubicadas en el CIP – Chuquibambila, como:

- Establo
- Ambientes del Mega laboratorio de Transferencia de Embriones (sala de colección de semen).
- Laboratorio de histología y embriología ciudad universitaria PUNO

PREVALENCIA

La prevalencia de la endometritis subclínica se determinó mediante la siguiente fórmula (Thrusfield1990).

$$P = \frac{12}{42} \times 100\%$$

$$P = 0.2857 \times 100\%$$

$$P = 28.57 \%$$

cuadro 2: Análisis de varianza de endometritis subclínica según el número de partos

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: ENFERMEDAD

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
PARTOS	2,903	3	,968	6,488	,001
Error	5,668	38	,149		
Total corregido	8,571	41			

a. R al cuadrado = ,339 (R al cuadrado ajustada = ,286)
($P \leq 0.01$)

cuadro 3: Análisis de varianza de endometritis subclínica según el grado de inflamación (neutrófilos)

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: NEUTROFILOS

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
PARTOS	3,138	3	1,046	7,981	,000
Error	4,981	38	,131		
Total corregido	8,119	41			

a. R al cuadrado = ,387 (R al cuadrado ajustada = ,338)
($P \leq 0.01$)

cuadro 4: Prueba De Tukey De Endometritis Subclínica Según El Grado De Inflamación (Neutrófilos)

NEUTROFILOS					
	PARTOS	N	Subconjunto		
			1	2	3
HSD Tukey ^{a,b,c}	1	11	1,0000		
	2	16	1,1250		
	3	13		1,5385	
	4	2			2,0000
	Sig.			,436	1,000
Duncan ^{a,b,c}	1	11	1,0000		
	2	16	1,1250		
	3	13		1,5385	
	4	2			2,0000
	Sig.			,137	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = ,019.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,477.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

c. Alfa = .05.

PANEL FOTOGRAFICO



CIP CHUQUIBAMBILLA	INFIERNILLO	VACA CRIOLLA	N°743
-------------------------------	--------------------	-------------------------	--------------

Comentario: LIMPIADO DE LA AMPOLLA RECTAL



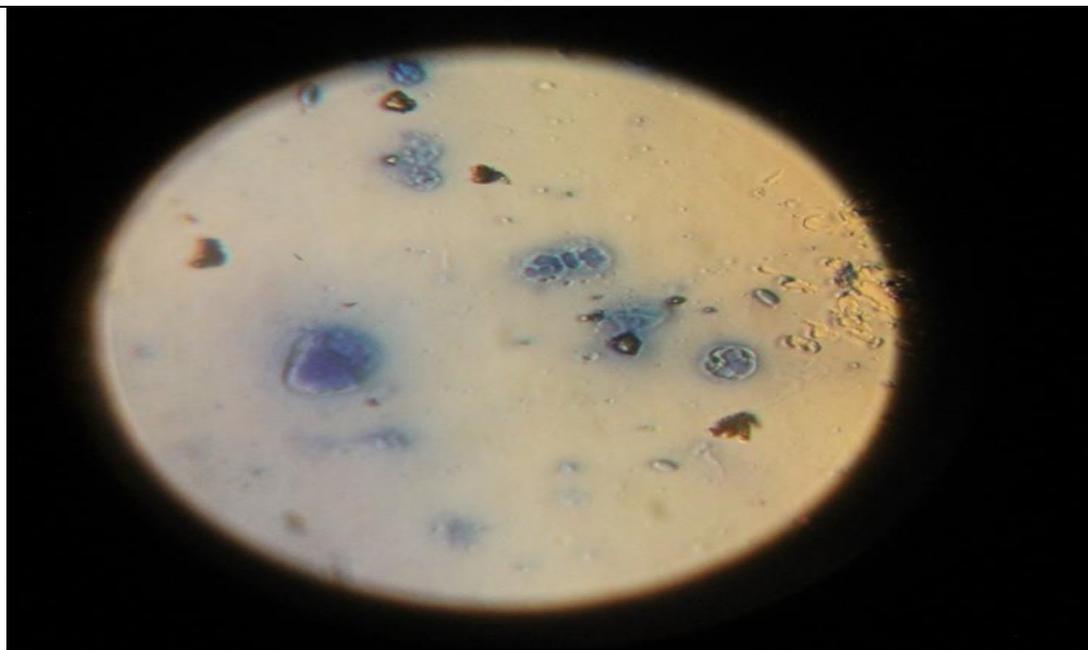
CIP CHUQUIBAMBILLA	INFIERNILLO	VACA CRIOLLA	N°743
-------------------------------	--------------------	-------------------------	--------------

TOMA DE MUESTRA MEDIANTE LA TECNICA DEL CYTOBRUNS



CIP CHUQUIBAMBILLA	INFIERNILLO	VACA CRIOLLA	N°404
-------------------------------	--------------------	-------------------------	--------------

Comentario: FIJACION DE LA MUESTRA



CIP CHUQUIBAMBILLA	INFIERNILLO	VACA CRIOLLA	N°743
-------------------------------	--------------------	-------------------------	--------------

LECTURA Y CONTEO DE POLIMORFOS NUCLEARES

VACAS CRIOLLAS MUESTRA 21 A 33 DIAS POST PARTO						
N°	MES	N° ARETE	AÑO	N° PARTOS	N° DE NEUTROFILOS	ESTADO ANIMAL
1	DICIEMBRE	411	2015	3	0	A.SANO
2	DICIEMBRE	611	2015	2	1	A.SANO
3	ENERO	564	2016	3	1	A.SANO
4	ENERO	714	2016	2	1	A.SANO
5	ENERO	743	2016	2	4	ENDOMETRITIS
6	ENERO	301	2016	1	0	A.SANO
7	ENERO	703	2016	2	1	A.SANO
8	ENERO	711	2016	1	0	A.SANO
9	ENERO	541	2016	3	1	A.SANO
10	ENERO	672	2016	1	0	A.SANO
11	ENERO	723	2016	2	0	A.SANO
12	ENERO	725	2016	2	0	A.SANO
13	ENERO	345	2016	2	0	A.SANO
14	ENERO	101	2016	3	4	ENDOMETRITIS
15	ENERO	737	2016	1	0	A.SANO
16	ENERO	630	2016	1	1	A.SANO
17	ENERO	577	2016	3	1	A.SANO
18	ENERO	334	2016	3	5	ENDOMETRITIS
19	ENERO	7005	2016	1	1	A.SANO
20	ENERO	558	2016	2	3	ENDOMETRITIS
21	ENERO	655	2016	2	0	A.SANO
22	ENERO	606	2016	2	3	ENDOMETRITIS
23	ENERO	102	2016	4	3	ENDOMETRITIS
24	ENERO	539	2016	3	5	ENDOMETRITIS
25	ENERO	566	2016	3	4	ENDOMETRITIS
26	ENERO	738	2016	1	0	A.SANO
27	ENERO	731	2016	1	0	A.SANO
28	ENERO	520	2016	3	5	ENDOMETRITIS
29	ENERO	404	2016	2	1	A.SANO
30	ENERO	547	2016	2	0	A.SANO
31	ENERO	457	2016	3	0	A.SANO
32	ENERO	344	2016	4	5	ENDOMETRITIS
33	ENERO	702	2016	1	0	A.SANO
34	ENERO	687	2016	2	1	A.SANO
35	ENERO	409	2016	3	0	A.SANO
36	ENERO	28	2016	2	0	A.SANO
37	ENERO	314	2016	3	4	ENDOMETRITIS
38	ENERO	685	2016	2	1	A.SANO
39	ENERO	48	2016	2	0	A.SANO
40	ENERO	729	2016	1	0	A.SANO
41	ENERO	585	2016	3	4	ENDOMETRITIS
42	ENERO	745	2016	1	0	A.SANO