



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE
PRODUCCION Y DE LA SALUD ANIMAL
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

PATOLOGÍAS UTERINAS Y FERTILIDAD DE VACAS LECHERAS EN MANEJO
INTENSIVO TRATADAS CON DOS INYECCIONES DE PGF₂ α EN LAS
PRIMERAS 48 HORAS POSPARTO

TESIS QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

LUIS ANGEL VALDÉS PÉREZ

TUTOR PRINCIPAL:

JOEL HERNÁNDEZ CERÓN
(FMVZ)

COMITÉ TUTORAL:

CARLOS GUILLERMO GUTIÉRREZ AGUILAR
(FMVZ)

CARLOS FERNANDO ARÉCHIGA FLORES
(UNIVERSIDAD AUTONOMA DE ZACATECAS)

MÉXICO, D.F.

ENERO 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DECLARATORIA

El autor da el consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, para que la tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.

Luis Angel Valdés Pérez

DEDICATORIA

A mis padres Emigdia Pérez y Fernando Valdés y hermanos Patricia, Cristina y Francisco.

Por su ejemplo, y amor brindado en cada momento de mi vida

A mi esposa Anakaren Salazar

Por su amor y comprensión, así como su apoyo otorgado a diario.

A mi hijo Sebastian Valdés Salazar

El cual es una de mis más grandes motivaciones que me llevaron a buscar un crecimiento académico y personal, además de ser mi motor día a día.

A mi tutor Dr. Joel Hernández Cerón

Por su tiempo, conocimientos y amistad proporcionados a lo largo de mi preparación.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, con especial énfasis a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por darme la oportunidad de adquirir conocimiento científico y ético. Así como cobijarme bajo sus colores durante mi formación como Maestro en Ciencias.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por su apoyo económico, ya que sin esto no hubiera sido posible cumplir esta meta.

A todos los miembros del Departamento de Reproducción de la FMVZ, por su amistad, ayuda y regaños recibidos en los momentos que fueron necesarios, ya que sirvieron en cada una de las diferentes etapas de mi formación.

A mi comité tutorial, los doctores Joel Hernández, Carlos Gutiérrez y Carlos Aréchiga. Por su tiempo y conocimiento brindado, durante este proyecto.

A los maestros con los que lleve clases por su conocimiento transmitido, y aquellos a los que me enseñaron sin ser parte de su matrícula.

A mis amigos Charly, Chela, José Luis, Cristian y Erika. Ya que se convirtieron en una segunda familia ya que compartimos intereses en común, desahogamos las penas de estar lejos de la familia, además de apoyarnos en los tropiezos y festejar los logros académicos y personales.

A todos los personas de establo Montoro. MVZ, trabajadores y dueños; por darnos la confianza para llevar a cabo nuestro trabajo en sus animales.

Este estudio fue financiado por el proyecto PAPIIT IN219811-3 de la UNAM.

RESUMEN

PATOLOGÍAS UTERINAS Y FERTILIDAD DE VACAS LECHERAS EN MANEJO INTENSIVO TRATADAS CON DOS INYECCIONES DE PGF2 α EN LAS PRIMERAS 48 HORAS POSPARTO

Se probó si dos inyecciones de PGF2 α en las primeras 48 horas posparto disminuyen la incidencia de retención de membranas fetales (RMF) y de infecciones uterinas y aumenta la fertilidad en vacas lecheras. Se utilizaron 800 vacas Holstein, las cuales diez días antes del parto se asignaron aleatoriamente en dos tratamientos balanceando por su número de parto; PGF2 α (n=400) las vacas recibieron una inyección de PGF2 α (500 μ g de cloprostenol sódico) en las primeras 12 horas posparto y una segunda inyección 48 horas después; testigo (n=400) no recibió PGF2 α . Se registró la incidencia de RMF y de infecciones uterinas (metritis y endometritis) diagnosticadas en los días 14, 21 y 28 posparto, días al primer estro, días a primer servicio, proporción de vacas gestantes del total inseminado (PC) en el primer servicio y porcentaje de vacas gestantes en los días 90 y 150 posparto. Todos los animales fueron inseminados bajo el mismo manejo reproductivo. El diagnóstico de gestación se realizó el día 45 después del servicio. Asimismo, se tomaron muestras de sangre de 14 vacas de cada tratamiento en los días 0, 1, 3, 5 y 7 posparto para la determinación de calcio mediante la técnica de fotocolorimetría. Las vacas testigo tuvieron más probabilidad de presentar RMF (Odds ratio=1.69; p=0.012) que las tratadas con PGF2 α . La proporción de vacas con endometritis en el día 28 fue menor (P=0.016) en las tratadas con PGF2 α (29.8%) que en las testigo (36.7%). La probabilidad de gestación en el día 150 posparto fue mayor (Odds ratio 1.39, P=0.041) en las vacas con involución normal en el día 28 posparto que en las vacas con endometritis; sin embargo, no hubo diferencia en la proporción de vacas gestantes en los días 90 (31 y 29%; PGF2 α y testigo respectivamente. P=0.7) y 150 (62.5 y 59.; PGF2 α y testigo respectivamente. P=0.6). Las concentraciones séricas de calcio fueron similares entre los tratamientos (P=0.77) y no se observó interacción del tratamiento con el tiempo del muestreo (P=0.61). Se concluye que dos inyecciones de PGF2 α , en las primeras 48 horas posparto (primeras 12 y 48 horas posparto) disminuyen la incidencia de RMF, la prevalencia de metritis y endometritis, lo cual no se relaciona con un incremento en las concentraciones de calcio sérico. Pero esto no se vio reflejado en un aumento en la fertilidad de las vacas.

Palabras clave: Vacas lecheras, fertilidad, infecciones uterinas, RMF, PGF2 α

ABSTRACT

UTERINE DISEASES AND FERTILITY IN DAIRY COWS TREATED WITH TWO DOSES OF PGF2 α WITHIN FIRST 48 HOURS AFTER CALVING

The objective was to evaluate whether the effect of two injections of PGF2 α applied within the first 48 hours after calving decrease incidence of uterine diseases and improve reproductive performance in dairy cows. Holstein cows that were ten days before the expected calving date (n=800), were randomly assigned according to parity to two groups: PGF2 α group (n=400), received two injections containing 500 mcg of sodium cloprostenol each within the first 12 hours after calving and 48 hours later; while the Control group (n=400) that received no treatment. The incidence of retained fetal membranes (RMF), as well as the incidence of uterine infections (metritis and endometritis) identified on days 14, 21 and 28 after calving were recorded for all cows. Additionally, days to first estrus, days to first service, conception rate to first service and cumulative pregnancies at 90 and 150 days after calving were compared between groups. All cows were inseminated under the same reproductive program. Pregnancy diagnosis was carried out on day 45 after insemination by rectal palpation. Additionally, blood samples were taken from fourteen cows per group at 0, 1, 3, 5 and 7 days postpartum to measure serum calcium by photolorimetry. Cows in the control group were more likely to have RMF (Odds ratio =1.69; P=0.012) than PGF2 α group. The proportion of cows with endometritis at day 28 was lower (P=0.016) in the PGF2 α (29.8%) than in the control group (36.7%). The probability of pregnancy at 150 days after calving was higher (odds ratio 1.39, P=0.041) in cows with normal involution at day 28 after calving compared to cows with endometritis. However, the proportion of cumulative pregnancies in cows at 90 (31% vs. 29%, P=0.70) or 150 days (62.5 vs. 59%, P=0.60) was similar in PGF2 α and control groups. Serum calcium concentrations were similar between groups (P=0.77), and no interaction between treatment and time of sampling (P=0.61). We conclude that administration of PGF2 α within 48 hours postpartum (i.e. 12 and 48 hours after calving) decreases the incidence of placental retention, metritis and endometritis independently of serum calcium concentrations. But was not improve reproductive performance.

Key words: Dairy cows, fertility, uterine infection, RMF, PGF2 α

ÍNDICE

	PÁGINA
RESUMEN	V
ABSTRACT	VI
1. INTRODUCCIÓN	10
2. REVISIÓN DE LITERATURA	13
2.1 Involución uterina	13
2.2 Definición de patologías uterinas	13
2.3 Factores de riesgo	15
2.4 Fisiopatología	17
2.4.1 Retención de membranas fetales	17
2.4.2 Metritis y endometritis	19
2.5 Diagnóstico	21
2.6 Tratamiento	22
2.7 Impacto de patologías uterinas sobre la producción y fertilidad	27
2.8 Prevención de la retención de membranas fetales	30
3. HIPOTESIS	31
4. MATERIALES Y MÉTODOS	32
4.1 Animales y manejo del hato	32
4.2 Tratamiento	33
4.3 Toma de muestras y determinación de calcio	34
4.4 Análisis estadístico	34
5. RESULTADOS	37
6. DISCUSIÓN	45
7. CONCLUSIONES	51
8. BIBLIOGRAFÍA	52

ÍNDICE DE CUADROS

	PÁGINA
Cuadro 1. Asociación directa de endometritis con medidas absolutas de desempeño reproductivo en 1865 vacas lecheras, diagnosticadas entre los días 20 a 33 posparto.	29
Cuadro 2. Porcentaje de RMF y Odds Ratio para la probabilidad de retención de membranas fetales de acuerdo a las variables en el modelo final de regresión logística.	37
Cuadro 3. Promedio (\pm EE) de los días a primer estro dependiente del tratamiento (testigo y PGF2 α) y el número de parto (primíparas y multíparas).	39
Cuadro 4. Promedio (\pm EE) de los días a primer servicio dependiente del tratamiento (PGF2 α y testigo) y salud uterina al día 28.	40
Cuadro 5. Porcentaje de vacas gestantes al primer servicio y Odds Ratio de acuerdo a las variables en el modelo final de regresión logística.	41
Cuadro 6. Porcentaje de vacas gestantes en el día 90 posparto y Odds Ratio de acuerdo a las variables en el modelo final de regresión logística.	42
Cuadro 7. Porcentaje de vacas gestantes al día 150 posparto y Odds ratio de acuerdo a las variables en el modelo final de regresión logística.	43

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1. Días en leche y hormonas administradas en el programa de sincronización e inseminación artificial utilizado en el establo.	33
Figura 2. Curva de supervivencia para la proporción de vacas con endometritis en los primeros 28 días posparto tratadas con una inyección de PGF2 α en las primeras 12 horas posparto y una segunda inyección a las 48 horas posparto y testigos.	38
Figura 3. Promedio (\pm EE) de las concentraciones séricas de calcio en vacas tratadas con 500 μ g de cloprostenol sódico α y testigo, durante los días 0 hasta 7 después del parto.	44

1. INTRODUCCIÓN

La salud de la vaca en el periodo de transición (tres semanas antes y tres después del parto) tiene un profundo impacto en la rentabilidad de las empresas lecheras (LeBlanc, 2008). Durante el periodo de transición se presentan una serie de cambios fisiológicos en la vaca; que la preparan para afrontar las demandas del parto y la lactación, y, después del parto, el aparato reproductor debe regresar a un estado que le permita el establecimiento de una nueva gestación (Kindahl *et al.*, 2004).

Fernández *et al.* (2012), proponen que el restablecimiento de la actividad reproductiva posparto depende principalmente de dos procesos fisiológicos: el primero es la involución uterina y el segundo el inicio de la actividad cíclica del ovario. La presencia de bacterias patógenas en el útero causa inflamación, lesiones en el endometrio, retraso en la involución uterina, retraso en el inicio de la ciclicidad y afecta la supervivencia embrionaria (Sheldon *et al.*, 2006). Las enfermedades uterinas se pueden clasificar como metritis puerperal, metritis, endometritis clínica y endometritis subclínica. La prevalencia de estas patologías es muy variable entre estudios pero se considera, en general, que tiene una alta incidencia en vacas de hatos de manejo intensivo. Las patologías uterinas generan bajos porcentajes de concepción en el primer servicio, incremento del número de días abiertos, aumento del número de vacas eliminadas e importantes pérdidas económicas por baja en la producción y por el costo de los tratamientos (Sheldon *et al.*, 2006; Galvão, 2012). Entre los principales factores de riesgo para la presentación de enfermedades uterinas, están las distocias, partos gemelares, retención de las membranas fetales, abortos (Dubuc *et al.*, 2010; Potter *et al.*, 2010; Galvão, 2012; Prunner *et al.*, 2014) y desordenes metabólicos (Whiterford *et al.*, 2005; Reinhardt *et al.*, 2011; Galvão, 2012; Martinez *et al.*, 2012).

Dentro de las estrategias para prevenir y tratar las patologías uterinas se ha considerado el uso de la prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}). La evaluación del uso de la

PGF2 α como herramientas de manejo en la prevención de patologías uterinas ha arrojado resultados contradictorios (LeBlanc, 2008). Uno de los primeros hallazgos que indican la importancia de las PGF2 α en la involución uterina, es la correlación negativa entre las concentraciones de PGF2 α posparto con el tiempo de involución uterina (Lindell *et al.*, 1982; Madej *et al.*, 1984). Gross *et al.* (1986), encontraron un efecto favorable de la administración de PGF2 α inmediatamente después del parto en la disminución de la incidencia de retención de membranas fetales (RMF) en animales a los que se les indujo el parto con dexametasona; sin embargo, estos resultados contrastan con lo obtenido en un estudio similar hecho por García *et al.* (1992). Marques *et al.* (1993), encontraron que la PGF2 α disminuye la incidencia de RMF en animales de parto gemelar. Horta (1981), observó que la inhibición de la síntesis de la PGF2 α por medio de analgésicos no esteroideos (AINES) incrementa la incidencia de RMF; asimismo en ovejas la inhibición de la síntesis de la PGF2 α , retarda el tiempo de la separación de la placenta (Chassagne y Barnouin, 1992), pero en un trabajo realizado en bovinos recientemente no se observó dicho efecto (Richards *et al.*, 2009).

Se ha observado que los problemas metabólicos posparto como la hipocalcemia, incrementan la probabilidad de desarrollar alguna patología uterina (Whiterford *et al.*, 2005; Reinhardt *et al.*, 2011; Martinez *et al.*, 2012); así, animales con hipocalcemia tienen menor capacidad de responder ante problemas infecciosos del puerperio (Kimura *et al.*, 2006), además se encontró que en vacas con alta probabilidad de desarrollar patologías uterinas, pero con niveles adecuados de calcio posparto, disminuye la incidencia de dichas patologías en comparación con vacas con bajo riesgo pero que presentan hipocalcemia subclínica, lo que parece demuestra la relación entre los niveles séricos de calcio y las patologías uterinas (Martinez *et al.*, 2014). Salgado *et al.* (2014) encontraron que la administración de PGF2 α en las primaras 48 horas posparto incrementa los niveles séricos de calcio, lo que pudiera tener un efecto positivo en la expulsión de la placenta y en la salud uterina.

Santos *et al.* (2002) encontraron que la administración de PGF2 α en la primera hora posparto disminuyó el tiempo a la expulsión de la placenta, además de reducir la incidencia de RMF. Ortega *et al.* (2012), observaron que la administración de dos inyecciones de prostaglandina en las primeras 48 horas posparto, disminuyó el porcentaje de vacas que presentaron RMF, redujo el tiempo del parto al primer estro, y aumentó el número de animales gestantes al día 90 posparto. Estos resultados podrían apoyar la utilización rutinaria de la PGF2 α después del parto, para mejorar la salud uterina y aumentar la fertilidad en vacas lecheras; sin embargo, no hay otro estudio que corrobore estos resultados. Por tanto, en el presente experimento se probó si la administración de dos inyecciones de PGF2 α en las primeras 48 horas posparto, disminuye la incidencia de retención placentaria, de infecciones uterinas y mejora la fertilidad de vacas lecheras en manejo intensivo.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Involución uterina

Durante el periodo de transición se presentan una serie de cambios en la vaca; así, la vaca se tiene que preparar para el parto y una nueva lactación, y, después del parto, el aparato reproductor debe regresar a un estado que le permita el establecimiento de una nueva gestación (Kindahl *et al.*, 2004). El puerperio es una de las fases más críticas en los ciclos reproductivos del ganado lechero (Heppelmann *et al.*, 2013). El restablecimiento de la actividad reproductiva depende principalmente de dos procesos fisiológicos: el primero es la involución uterina y el segundo el restablecimiento de la ovulación (Fernandez *et al.*, 2012). La involución uterina involucra una serie de procesos que tienen que ocurrir después del parto para que el animal pueda quedar gestante, para esto el útero tiene que regresar a su tamaño previo a la gestación, junto con una restructuración de capas internas de este órgano, así como el restablecimiento de la actividad cíclica (Sheldon *et al.*, 2008). Las patologías del útero, retrasan la involución uterina y la actividad cíclica posparto (Sheldon *et al.*, 2009a).

2.2 Definiciones de patologías uterinas

Debido a la importancia de las patologías uterinas, no es de extrañar que haya una gran cantidad de artículos al respecto en las últimas décadas, lamentablemente debido a la falta de consenso en cuanto a su definición los resultados sobre su impacto en la industria lechera es muy variable entre los estudios; por lo que Sheldon *et al.* (2006) desarrollaron una clasificación de éstas con base en los signos clínicos característicos de cada una.

Retención de membranas fetales (RMF), se considera cuando las membranas son visibles a nivel de la vulva o identificadas en el útero o vagina por medio de examinación vaginal después de 24 horas posteriores al parto (Kelton *et al.*, 1998). Aunque varios autores consideran retención placentaria después de 12 horas

posparto; cabe señalar que el 95% de las vacas que no presentan retención placentaria, expulsan la placenta en las primeras 12 horas posparto, por lo que la variación en los criterios en cuanto al tiempo normal de expulsión no afecta de gran manera la comparación de resultados entre estudios (LeBlanc, 2008). La retención de membranas fetales no es una patología *per se*, sino que es un signo clínico de diferentes desórdenes y además, es el principal factor de riesgo de otras patologías del puerperio (Galvão, 2012).

La metritis puerperal es una enfermedad sistémica aguda debido a una infección bacteriana, usualmente se presenta en los primeros diez días posparto. Se propuso la clasificación de metritis puerperal a animales con útero anormalmente agrandado y descargas uterinas fétidas que van del color rojo hasta café de consistencia acuosa, asociados con signos sistémicos de enfermedad como disminución de la producción láctea, somnolencia u otros signos de toxemia con fiebre $>39.5^{\circ}\text{C}$. Los animales que no tienen signos sistémicos de enfermedad, pero tienen el útero anormalmente agrandado y con descargas purulentas detectadas en vagina dentro de los primeros 21 días posparto pueden clasificarse como metritis clínica (Sheldon *et al.*, 2006).

La endometritis se caracteriza por la presencia de exudados uterinos presentes en la vagina, de tipo purulento ($>50\%$ pus) o mucopurulento (aproximadamente 50 y 50% de pus y moco), a los 21 días o más posparto, sin signos sistémicos de enfermedad. Se han desarrollado clasificaciones de los exudados para determinar el grado de la endometritis, evaluando el olor y la cantidad del material purulento [0) sin olor de apariencia clara o traslucida, 1) contienen pequeños puntos de pus, 2) descargas con $<50\%$ de pus y 3) descargas con $>50\%$ de material purulento, usualmente blanco o amarillo; Sheldon *et al.*, 2006].

La endometritis subclínica puede ser definida como una inflamación del útero usualmente determinada por citologías uterinas, en ausencia de signos clínicos de endometritis como son las descargas vaginales anormales. Se propuso como

definición de vacas con endometritis subclínica cuando se encuentran >18% de neutrófilos en las muestras de las citologías uterinas tomadas entre los días 21-33 posparto, o >10% de neutrófilos en los días 34-47 posparto (Sheldon *et al.*, 2006).

A pesar de la gran utilidad de la clasificación antes mencionada, Dubuc *et al.* (2010), desarrollaron con base en investigaciones epidemiológicas una clasificación alterna, básicamente se refieren a la endometritis que es acompañada de las secreciones características como descargas vaginales purulentas (PVD) y a la inflamación del endometrio sin signos clínicos como endometritis citológica.

2.3 Factores de riesgo

El desarrollo de las patologías clínicas depende del balance entre los microorganismos que contaminan el lumen uterino, la respuesta inmune del hospedador, y del medio ambiente (Potter *et al.*, 2010). La gran discrepancia entre los factores de riesgo para las patologías uterinas se debe principalmente a la falta de consenso en la definición de estas condiciones en los estudios epidemiológicos (Dubuc *et al.*, 2010).

Dentro de los factores de riesgo para la presentación de RMF, se han citado un número grande, dentro de los cuales están los problemas durante el parto, como pueden ser distocias, mortinatos, partos gemelares; por otro lado también se consideran a el número de parto, duración de la gestación y la nutrición como factores de riesgo; sin embargo, hay mucha variación en lo observado en los diferentes estudios debido a diferencias en el manejo general, el medio ambiente y medidas preventivas de cada hato (Han y Kim, 2005). Los partos inducidos, abortos, fetotomias, cesáreas, deficiencias nutricionales como las de vitamina E, selenio y beta carotenos también son considerados factores pre disponentes (Beagley *et al.*, 2010). La neutropenia se considera, también, como un factor predisponente, así, factores que afectan la inmunidad están asociados con la incidencia de RMF. Algunos factores metabólicos como el incremento de cuerpos

cetónicos en sangre afectan negativamente la actividad de los leucocitos, disminuyen la producción de citocinas y la actividad quimiotáctica de estas (Moretti *et al.*, 2015); además se han descrito efectos de interacción entre el número de parto y la función de los neutrófilos (PMN), así, en animales de más de 4 partos tienen una menor actividad de sus PMN en el puerperio que animales más jóvenes (Gilbert *et al.*, 1993).

De manera general se puede mencionar como factores de riesgo de la Metritis, al número de parto, distocias, partos gemelares, RMF, mortinatos, abortos, prolapso uterino y cetosis, alteraciones metabólicas como es el incremento de ácidos grasos no esterificados (AGNE) preparto y el incremento de una de las proteínas de fase aguda (Haptoglobulina) en la primer semana posparto (Dubuc *et al.*, 2010; Galvão, 2012). Las concentraciones elevadas de AGNE preparto tienen un efecto inmunosupresor, por lo cual se considera como factor de riesgo; así que el incremento en la movilización de lípidos antes del parto es un factor de riesgo de patologías uterinas (Dubuc *et al.*, 2010; LeBlanc *et al.*, 2011). Concordando con esto, se menciona que la disminución del consumo de materia seca preparto favorece la lipomovilización y predisponen a la presentación de patologías uterinas (Galvão, 2012). Por su parte la RMF tiene su efecto predisponente sobre la metritis al proveer un ambiente idóneo para el desarrollo microbiano (Dubuc *et al.*, 2010; Potter *et al.*, 2010).

La hipocalcemia durante el periparto está asociada con la incidencia de patologías uterinas (Martinez *et al.*, 2014; Salgado *et al.*, 2014). Walsh *et al.* (2011), mencionan a la alta producción de leche como un factor que predispone a patologías uterinas, ya que se ha observado que las vacas lecheras altas productoras tienen una disminución en la actividad de su sistema inmune en comparación con las vacas bajas productoras (Lewis, 2003).

Los principales factores de riesgo de endometritis son RMF, asistencia en el parto, mortinatos, ángulo de la vulva, número de parto, el hecho de parir una cría

de sexo macho o factores que causan algún tipo de traumatismo al momento del parto (Potter *et al.*, 2010). Los animales de más de dos partos en comparación con las primíparas tienen una mayor contaminación bacteriana a nivel uterino al día 50 después del parto (Galvão, 2012).

La RMF es el principal factor de riesgo para la prestación de endometritis, la presencia de material necrótico en el lumen uterino a causa de RMF, favorece un medio para el crecimiento bacteriano, además la presencia de la placenta mantiene la apertura del cérvix, el cual funciona como barrera física (Potter *et al.*, 2010). Por otro lado la RMF también retrasa la involución uterina, expulsión de los loquios y la regeneración del endometrio (Sheldon *et al.*, 2008). Dentro de agentes etiológicos en específico se cita a la bacteria *Trueperella pyogenes* como el patógeno uterino más importante que incrementa el riesgo de presentar metritis y endometritis (LeBlanc *et al.*, 2011; Prunner *et al.*, 2014). Dentro de la relación que existe entre salud uterina y patologías del periparto se considera que la hipocalcemia clínica incrementa la incidencia y severidad de presentación de endometritis, además que retrasa el regreso de la actividad cíclica ovárica en estos animales afectados (Whiteford y Sheldon, 2005).

2.4 Fisiopatología

2.4.1 Retención de membranas fetales

Macroscópicamente la placenta de los bovinos es de tipo cotiledonaria y por el número de capas histológicas es de tipo epiteliocorial (Moffett y Loke, 2006; Carter, 2012). Los cotiledones fetales se unen a los carúnculas del endometrio uterino para formar los placentomas, manteniéndose unidas estas estructuras principalmente por enlaces de colágeno (Beagley *et al.*, 2010).

Los eventos endócrinos más importantes alrededor del parto involucran incrementos en la secreción de cortisol y disminución de la secreción de progesterona preparto, mientras que en las últimas horas antes y primeras

después del parto se incrementa la secreción de estradiol, PGF2 α y prostaglandina E2 (PGE2) (Wischnal *et al.*, 2001).

El proceso normal de separación de la placenta comienza antes del parto, los cambios hormonales favorecen el desprendimiento de la carúncula y el cotiledón por medio de activación de reacciones enzimáticas. Se activa, además, una respuesta del sistema inmune contra las membranas fetales, favoreciendo su desprendimiento, por otro lado el complejo mayor de histocompatibilidad tipo I (MHC I) contribuye también con la separación de la placenta (Beagley *et al.*, 2010).

Se ha encontrado que la actividad fagocitaria de los neutrófilos así como la producción de interleucina tipo 8 (IL-8), se encuentran afectadas en vacas que presentan RMF, dado que la IL-8 es uno de los principales quimioatrayentes de los neutrófilos a nivel uterino. La activación de las colagenasas favorecen la separación de la placenta, estos cambios se presentan antes del parto, lo que las señala como responsables de la retención de la placenta más que una consecuencia de la misma (Kimura *et al.*, 2002). En este sentido también se reporta que las vacas con RMF presentan una disminución en la cuenta de neutrófilos en sangre (neutropenia); sin embargo, esta disminución es independiente de la presencia de inflamación, lo que se puede atribuir más bien como un riesgo que como un efecto de la RMF (Moretti *et al.*, 2015). También se menciona que hay una interacción con el número de partos, así, las vacas de 4 o más partos presentan una mayor disminución de la actividad de los neutrófilos posparto en comparación con las vacas jóvenes (Gilbert *et al.*, 1993).

El balance energético negativo (BEN) posparto está asociado con la RMF; se ha observado que las vacas con concentraciones elevadas de beta-hidroxibutirato (BHB), AGNE y triglicéridos después del parto presentan con mayor incidencia de RMF (Seifi *et al.*, 2007, LeBlanc *et al.*, 2011). Otro desbalance metabólico en vacas que se relaciona con la RMF es la presentación de bajas concentraciones séricas de Ca en las primeras horas posparto, lo cual está vinculado con una

disminución de la actividad de la enzima colagenasa y el movimiento de los neutrófilos (Melendez *et al.*, 2004).

La importancia de las PGF2 α alrededor del parto fue inicialmente descrita en un estudio de Lindell *et al.* (1982), donde se describió que las vacas que tienen un desarrollo puerperal normal tienen mayores concentraciones de PGF2 α después del parto. Además, la síntesis de PGF2 α por parte de la placenta está asociada con una rápida involución uterina (Majed *et al.*, 1984). La síntesis de prostaglandinas por parte de la placenta ocurre tanto del lado fetal como del materno; el lado fetal sintetiza principalmente PGE2 mientras que el lado materno PGF2 α . Cuando hay RMF se observa un incremento de la síntesis de PG del tipo E2 mientras que en las vacas que no retienen la placenta hay mayor producción de PGF2 α (Gross *et al.*, 1987; Gross *et al.*, 1988; Kankofer *et al.*, 2002; Takagi *et al.*, 2002). El efecto positivo de la PGF2 α exógena sobre la disminución en la incidencia de retención placentaria, se demostró inicialmente en los animales a los que se les indujo el parto con dexametasona (Gross *et al.*, 1986), o en aquellos que tienen parto gemelar (Marques *et al.*, 1993), además, la inhibición de la síntesis de PGF2 α incrementa la RMF (Horta *et al.*, 1986), en ovinos la inhibición de la síntesis de PGF2 α por medio de analgésicos no esteroideos incrementó el tiempo requerido para la expulsión de la placenta (Chassagne y Barnouin, 1992). Una de las vías de síntesis de PGF2 α es por medio de la reducción de la PGE2 dada por la enzima prostaglandina E2 9-cetoreductasa, así que una alteración a este nivel podría incrementar los casos de RMF (Kankofer *et al.*, 2002).

2.4.2 Metritis y endometritis

La diferenciación entre metritis y endometritis se debe al número de capas histológicas inflamadas, refiriéndose a metritis cuando todas las capas del útero muestran evidencia de inflamación (edema, infiltración de leucocitos, degeneración del miometrio), mientras que en endometritis solo hay una inflamación del endometrio (Sheldon *et al.*, 2006).

Antes del parto el útero se encuentra libre de microorganismos, pero después de la expulsión del becerro hay una gran contaminación del aparato genital de la hembra, debido a la pérdida de barreras físicas como lo es la apertura del cérvix. El desarrollo de patologías clínicas depende del balance entre los factores de defensa del organismo y la patogenicidad de los microorganismos presentes (Sheldon *et al.*, 2009a). La presencia de microorganismos en el lumen uterino en los primeros 14 días posparto en vacas manejadas en sistemas intensivos se reporta que es alrededor del 80 a 100%, pero la mayoría de las vacas elimina estas bacterias por medio de mecanismos naturales. Alrededor de 40% de estas vacas permanece infectada después de la tercera semana posparto. La presentación de una patología clínica uterina de tipo bacteriano, implica la adherencia del patógeno a la mucosa uterina, la colonización y penetración del epitelio o la liberación de toxinas bacterianas que conducen a la enfermedad, por tanto el hecho de aislar patógenos del lumen uterino en los primeros día posparto, no es definitivo en el desarrollo de una infección posterior (Azawi, 2008; Sheldon *et al.*, 2008).

En el ambiente uterino se desarrollan bacterias tanto anaerobias como aerobias, pero las principales bacterias que causan una infecciones son *Escherichia coli*, *T. pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum*, *Prevotella species*, *Bacteroides spp*, además se menciona que infecciones por *E coli* en los primeros días posparto son un factor de riesgo para que se desarrollen más tarde infecciones por *T pyogenes* (Sheladon *et al.*, 2008; Sheldon *et al.*, 2009a; LeBlanc *et al.*, 2011; Prunner *et al.*, 2014). Otras bacterias a nivel uterino actúan de manera sinérgica por medio de diferentes mecanismos, *F. Necrophorum* produce leucotoxinas, *Bacteroides spp* producen sustancias que previenen la fagocitosis bacteriana, *T. pyogenes* sintetiza factores de crecimiento para *F. Necrophorum* (Azawi, 2008).

Desafortunadamente no solo se tienen infecciones de tipo bacteriano, por su parte la infección por virus, al menos por el herpesvirus bovino 4 (BoHV-4), tienen

un efecto cooperativo con la presencia de PGE2 y lipopolisacáridos de la *E. coli*, lo cual favorece el desarrollo de patologías uterinas (LeBlanc, 2008; Sheldon *et al.*, 2009a; Prunner *et al.*, 2014). Al parecer algunos tipos bacterianos toman papeles de tipo preventivos o de protección contra las patologías uterinas, dentro de las que se mencionan *Estafilococos* coagulasa negativos (CNS) y *Streptococos* α -hemolíticos, las cuales se han aislado en animales con grados de endometritis menor (1), en cambio la proporción de estas bacterias disminuye en animales con grados mayores de endometritis (2 y 3) (Westermann *et al.*, 2010).

2.5 Diagnóstico

Dadas las repercusiones económicas importantes que representan las patologías uterinas de manera directa e indirecta en las explotaciones lecheras intensivas, es prioritario establecer técnicas diagnósticas que sean prácticas, funcionales y precisas, para llevar a cabo un tratamiento oportuno con el fin de minimizar el efecto negativo de dichas patologías (Sheldon *et al.*, 2006). De este modo se han desarrollado diferentes técnicas que requieren grados distintos de tecnificación, desde los más sencillos como los son evaluación por medio de palpación transrectal, palpación por vía vaginal, o visualización de exudados por medio de un espejo o vaginoscopio, o dispositivos diseñados para recolectar exudados del útero directamente (Metricheck[®]), hasta el uso de citologías uterinas por medio de colección celular por lavado, o citología por medio de un cepillo intrauterino (Cytobrush), ultrasonografía para evaluación de exudados y grado de inflamación de las capas uterinas y, por último, la biopsia endometrial (Sheldon *et al.*, 2006; Barlund *et al.*, 2008).

En el estudio realizado por Barlund *et al.* (2008), se compararon 5 técnicas distintas para el diagnóstico de patologías uterinas, las cuales fueron citologías (por lavado y citobrush), ultrasonografía con base al contenido en los cuernos uterinos y grosor de capas del útero, y vaginoscopia. Tomando como referencia la citología por citobrush, la vaginoscopia tiene una mediana sensibilidad y una alta

especificidad (54 y 95 % respectivamente), sin embargo no se debe olvidar que la citología es para procesos subclínicos y con vaginoscopía se pretende diagnosticar un proceso clínico basado en exudado, esto podría explicar la discrepancia entre ambas técnicas. Además, comparando con el hecho de que las otras técnicas pueden diagnosticar un proceso tanto clínico por la presencia de exudados, como subclínica por medio de conteo celular o inflación del endometrio sin presencia de exudados, la vaginoscopía fue tan solo superada en sensibilidad por la citología por lavado, pero fue la mejor técnica en cuanto a especificidad tomando al diagnóstico por citobrush como referencia. De esta forma estos investigadores concluyen que la vaginoscopía es la herramienta ideal para el diagnóstico de endometritis clínica. En este mismo sentido se menciona que no es una herramienta perfecta, pero que puede ser de gran utilidad para distinguir entre vacas sanas y enfermas por medio de observación visual y practicidad al ser un diagnóstico de campo, además el diagnóstico no se afecta por el grado de experiencia que tenga el técnico de campo en la evaluación de exudados (Leutert *et al.*, 2012). Brodzki *et al.* (2015) proponen el uso de monitoreo de los niveles de citocinas y haptoglobulina en lavados uterinos o sangre como un diagnóstico de endometritis subclínica. También los perfiles de citocinas o prostaglandinas en el útero pueden ser un buen indicador de la presencia de endometritis clínica y subclínica; para lo que la relación entre PGF2 α y PGE2 es más importante que la concentración absoluta de cada una de ellas (Gabler *et al.*, 2009).

2.6 Tratamiento

Considerando que la retención de membranas fetales no es una patología *per se*, sino más bien es un factor de riesgo que predispone la presentación de infecciones a nivel uterino (Galvão, 2012), los tratamientos deben de estar enfocados en disminuir sus efectos adversos. Desafortunadamente hay muy pocas opciones de tratamiento en el caso de retención de placenta, uno de los procedimientos utilizados comúnmente es la separación manual de la placenta, lo que tienen un efecto negativo sobre la salud uterina y la subsecuente fertilidad

(Bolinder *et al.*, 1988); esto debido, a que la remoción manual causa un daño directo al endometrio, suprime la fagocitosis de los leucocitos en el útero, lo que facilita la colonización bacteriana; no obstante de estos efectos adversos, este tratamiento se utiliza en el campo (Paisley *et al.*, 1986; Peters y Laven, 1996; Drillich *et al.*, 2006a; Beagley *et al.*, 2010). El uso de antibióticos tanto de manera sistémica como local ha arrojado resultados muy contradictorios, la aplicación local se relaciona con la disminución de bacterias en el lumen uterino, pero estos pueden interferir con la necrosis a nivel carúncula cotiledón, lo que está relacionado con un retraso en la subsecuente separación de las membranas (Beagley *et al.*, 2010). Goshen y Shpigel (2006), señalan que el uso de tetraciclina por vía intrauterina no es eficaz para el tratamiento de retención placentaria, basado en que no mejora los parámetros reproductivos ni disminuye el impacto negativo de la RMF sobre la producción de leche. Por otro lado, el uso de antibioterapia sistémica se recomienda solo para aquellos individuos que presenten fiebre en los primeros días posparto (Risco y Hernandez, 2003; Drillich *et al.*, 2006a; Leblanc, 2008; Beagley *et al.*, 2010). El uso de una cefalosporina de tercera generación (Ceftiofur) a razón de 2.2 mg/kg IM, tiene efectos benéficos en tratamiento de RMF, medido con base a la disminución de la presentación de metritis, ya que la RMF es el principal factor de riesgo para esa patología, por lo que se puede tomar como una terapia eficaz en vacas con retención de placenta (Risco y Hernandez, 2003).

La terapia hormonal para el tratamiento de RMF se ha basado en la utilización es estrógenos, oxitocina y PGF 2α , principalmente (Risco y Hernandez, 2003), estas hormonas están encaminadas a mejorar la contracciones a nivel uterino, lo cual sería de gran utilidad si la principal etiología de la retención fuera la atonía uterina, pero su eficacia es cuestionable puesto que la atonía uterina no es un factor de retención (Paisley *et al.*, 1986; Beagley *et al.*, 2010). El tratamiento con estrógenos exógenos, no es efectivo en el tratamiento de RMF, más bien tienen un efecto negativo sobre la fertilidad subsecuente disminuyendo la probabilidad de

gestación, además de que no disminuye la presentación de metritis, que es de las principales maneras de evaluar su eficacia (Risco y Hernandez, 2003).

El principal objetivo del tratamiento de las patologías uterinas en el puerperio en ganado lechero, se centra en mejorar el desempeño reproductivo, considerando la disminución de los residuos de los productos utilizados en leche y carne, además de reducir las pérdidas económicas (Lefebvre y Stock, 2012). Paisley *et al.* (1986), propusieron que la terapia ideal para las infecciones uterinas, debería ser capaz de eliminar las bacterias del útero, sin inhibir los mecanismos de defensa normales del útero, además de evitar que se presenten residuos del producto en la leche o carne.

Se han descrito una gran variedad de terapias para el tratamiento de patologías uterinas, al menos para endometritis, las cuales van desde tratamientos con antibióticos por vía sistémica y local, también terapias a base de administración de hormonas (Lefebvre y Stock, 2012; Eslami *et al.*, 2015), desafortunadamente los resultados son muy controversiales. Una de las principales razones de la gran discrepancia en los resultados es la gran variedad de condiciones en las cuales se han probado dichos tratamientos, además que la mayoría de los fármacos que han sido utilizados no están aprobados para el uso intrauterino (Eslami *et al.*, 2015).

La eficacia de los antibióticos probados en patologías uterinas tanto de manera sistémica o local, como lo son cefapirina benzatínica, ceftiofur, penicilina G, oxacilina, oxitetraciclina y ampicilina; se considera que se da con base en la disminución de los patógenos en el útero, disminuyendo la inflamación asociada a la infección, mejorando las defensas uterinas por medio de inmunidad local, además de facilitar la reparación del endometrio que ocasione una rápida involución uterina (Lefebvre y Stock, 2012). En el caso de la antibioterapia intrauterina, los fármacos deben cumplir con algunas características como presentar una rápida disolución conjuntamente con una distribución en todo el útero, buen grado de penetración a las capas internas de este, limitada absorción

sistémica, que no sea irritante, además de mantener su actividad antibacteriana bajo las condiciones ambientales del útero (Paisley *et al.*, 1986). Kasimanickam *et al.* (2005), encontraron que la administración de 500 mg de cefapirina benzatinica por vía uterina para el tratamiento de endometritis subclínica entre los días 20 y 33 posparto fue efectiva, esto evaluado mediante el incremento relativo de el riesgo de preñez (HR 1.89); por otro lado Goshen y Shpigel (2006) utilizaron la administración intrauterina de tetraciclinas en el tratamiento de metritis clínica con aparente mejora en los parámetros productivos y reproductivos, sin embargo se menciona un efecto negativo por esta vía por su efecto irritante, lo que perjudica la concepción en animales tratados con este antibiótico (Cruz *et al.*, 2010).

Por su parte el uso de PGF₂α como terapia en las patologías uterinas, en animales que tienen actividad cíclica, está mediado por la disminución de los niveles de progesterona y con esto reduce el efecto inmunosupresor de la misma por medio de la destrucción del cuerpo lúteo, por otro lado el incremento de los estrógenos estimula las contracciones uterinas, la apertura del cérvix, incremento de flujo de la inmunidad inespecífica al útero principalmente por la migración de neutrófilos; pero también se han descrito mecanismos que pueden favorecer la salud uterina independientemente de su estatus cíclico, ya que se menciona que en ausencia de un cuerpo lúteo funcional, la PGF₂α incrementa la secreción de leucotrienos B₄ por parte del útero, lo que apoya la quimiotaxis, la fagocitosis y la función linfocitaria (Lewis, 2003; Lewis, 2004; Lefebvre y Stock, 2012). Por otro lado se demostró de manera experimental en ovejas el efecto positivo de PGF₂α en la resistencia a patologías uterinas aun cuando se suministraban de manera exógena progesterona simulando la presencia de un cuerpo lúteo funcional, lo que indica que el efecto positivo de la PGF₂α no solo es mediado por la disminución de progesterona (Lewis, 2003).

El resultado del uso de PGF₂α para el tratamiento de patologías uterinas es muy controversial, se ha utilizado para el tratamiento de endometritis subclínica (Kasimanickam *et al.*, 2005; Galvao *et al.*, 2009; Kaufmann *et al.*, 2010; Lima *et al.*,

2013). Bonnett *et al.* (1990) evaluaron el efecto de la PGF2 α al día 26 posparto, aunque no visto desde un enfoque terapéutico ya que no se administró a animales diagnosticados con patología uterina, de cualquier forma se encontró que los animales tratados tuvieron una involución uterina en menor tiempo, basados en el diámetro de los cuernos uterinos, secreciones y biopsias uterinas, de igual manera redujo la presencia de *T pyogenes* al día 40 posparto, además de que este efecto fue independiente del nivel de progesterona; por otro lado estos mismo resultados concuerdan con los encontrados en otro estudio donde probaron tres distintas prostaglandinas entre los día 24-31 posparto (Etherington *et al.*, 1994). En trabajos donde sí se ha evaluado directamente su efecto terapéutico sobre endometritis subclínica, se encontró que la PGF2 α , incrementó el porcentaje de concepción en el primer servicio (10%) y mejoró el riesgo de preñez (HR 1.5) en vacas con baja condición corporal (<2.75) (Galvão *et al.*, 2009), en otro trabajo también se encontró que la administración de 500 μ g de cloprostenol IM, entre los días 20 y 33 posparto mejoró el riesgo de preñez (HR 1.7), el porcentaje de concepción a primer servicio, disminuye los días al primer servicio en vacas con endometritis subclínica, de esta forma se propone como un tratamiento efectivo para esta patología (Kasimanickam *et al.*, 2005).

Dentro de las estrategias de tratamiento de patologías uterinas, también se ha utilizado a la progesterona para el caso de endometritis clínica, para ello se utilizó un dispositivo liberador de progesterona reutilizado (CIDR), con lo que lograron concentraciones de progesterona sublúteas, lo que favoreció el crecimiento del folículo dominante sin llegar a la ovulación, de esta manera se incrementaron las concentraciones de estradiol y con ello mejoraron la inmunidad a nivel uterino (Eslami *et al.*, 2015). La aspiración folicular temprana puede ser un mecanismo efectivo, ya que evita la formación de un cuerpo lúteo en vacas con infecciones uterinas (Heppelmann *et al.*, 2013); además, en vacas con infecciones uterinas a las que se les practica la aspiración folicular tienen menor evidencia de inflamación uterina al día 60 posparto en comparación con aquellas a las que no

se les realizó la aspiración, posiblemente se deba al efecto inmunosupresor de la progesterona lo que retarda la eliminación de las bacterias del útero (Heppelmann *et al.*, 2015).

2.7 Impacto de patologías uterinas sobre la producción y fertilidad

Las patologías uterinas son algunos de los principales factores que impactan la eficiencia reproductiva (Leblanc, 2008). Por otro lado, dada la prevalencia y el impacto de la endometritis reportado en numerosos trabajos elaborados en Estados Unidos, sugiere que es una patología de gran importancia y potencialmente costosa. Los costos están determinados por el incremento en los días abiertos, disminución en el porcentaje de concepción a primer servicio, mayor número de inseminaciones requeridas y fallas para quedar gestantes, además de incremento en el porcentaje de animales desechados, por problemas reproductivos (Leblanc *et al.*, 2002b; Gilber *et al.*, 2005; Sheldon *et al.*, 2009a).

La RMF, además de tener un efecto negativo sobre los parámetros reproductivos al ser un factor de riesgo para otras patologías uterinas o desordenes metabólicos, tiene un efecto directo, se menciona que incrementa los días abiertos (18 días) (Han y Kim, 2005). Considerando los principales puntos mediante los cuales la RMF causa grandes pérdidas económicas en la industria lechera se mencionan los costos de los tratamientos, incremento en la incidencia de patologías uterinas, baja en la producción de leche, incremento del riesgo de desechar animales por fallas reproductivas y aumento de los días abiertos, generando un costo entre 106 y 285 dólares por cada caso (Melendez *et al.*, 2004); aunque al parecer el efecto negativo sobre la producción de leche solo se presenta en vacas multíparas, de esta forma hay una disminución de 750 kilos de leche estimado en lactaciones de 305 días (Dubuc *et al.*, 2011).

Dentro de los efectos de las patologías uterinas sobre fertilidad, se mencionan ya como un consenso, que los animales que presentan endometritis tienen una disminución del 20 por ciento en la tasa de concepción, incremento de 30 días

abiertos promedio y un incremento del 3 por ciento de animales desechados por fallas en fertilidad (LeBlanc *et al.*, 2002b; Sheldon *et al.*, 2009a; Sheldon *et al.*, 2009b). Lima *et al.* (2013) encontraron que las vacas que presentan endometritis subclínica y PVD tienen menor porcentaje de concepción e incrementan las pérdidas embrionarias comparadas con aquellas que solo tienen una de las dos patologías o con las sanas, además demostraron que las vacas con endometritis subclínica solo afecta sus porcentaje de concepción e incrementa las perdidas embrionarias cuando este diagnóstico se hace después del día 46 posparto. Por otra parte, se observa un efecto de interacción entre el número de parto y el efecto negativo de las patologías uterinas en la fertilidad subsecuente, así, vacas multíparas que presentaron endometritis tienen menor probabilidad de ser inseminadas y quedar gestantes en comparación con vacas primíparas con endometritis (Kaufmann *et al.*, 2010).

En Europa, el costo promedio estimado por un caso de endometritis fue de alrededor de 285 euros (Sheldon *et al.*, 2009a). El impacto en la producción de leche es de alrededor de 300 litros menos por lactación en animales que presenten alguna patología uterina (Sheldon *et al.*, 2008), por otro lado se probó que el efecto de metritis y la RMF sobre la producción de leche, son dependiente del número de parto, así las vacas multíparas con retención y metritis producen 753 y 259 kilogramos respectivamente menos de leche, estimados a lactancia de 305 días, además de que estos efectos son aditivos, así que podemos hablar de una pérdida de más de 1000 kg de leche en esa lactancia, en una vaca que presente ambas patologías (Dubuc *et al.*, 2011; Wittrock *et al.*, 2011). De igual forma en los sistemas de producción lechera en pastoreo, se encontró que en animales con contaminación bacteriana en el día 21 posparto, disminuye la probabilidad de gestación en las primeras tres semanas del inicio de la temporada reproductiva (Boer *et al.*, 2015).

Los efectos negativos de una inflamación del endometrio sobre la disminución en los porcentajes de concepción en específico a primer servicio, pueden estar

desde el transporte de espermatozoides y alteraciones en la implantación de los embriones, por otro lado causa alteraciones endocrinas, por ejemplo la liberación de lipopolisacáridos de baja densidad por parte de agentes patógenos a la circulación sistémica, perturba la secreción normal de GnRH y LH, y con esto altera la dinámica folicular en animales afectados (Sheldon *et al.*, 2009b); además, estos lipopolisacáridos, detectados en células del endometrio uterino estimulan la acumulación de PGE2 más que de PGF2 α , esto explica en parte el mecanismo por el cual se prolonga la duración del cuerpo lúteo en animales con patologías uterinas, además que PGE2 puede ser un importante regulador de la inflamación en el endometrio (Herath *et al.*, 2009).

En el cuadro 1, tomado del estudio de LeBlanc *et al.* (2002b), se puede observar como la endometritis afecta de manera directa las variables reproductivas y con ello la productividad del hato.

Cuadro 1. Asociación directa de endometritis con medidas absolutas de desempeño reproductivo en 1865 vacas lecheras, diagnosticadas entre los días 20 a 33 posparto.

Variables	Endometritis		
	Con	Sin	P
Promedio de días a primer servicio	80	75	0.0002
Tasa de concepción a primer servicio	29.8	37.9	0.01
Porcentaje de riesgo acumulativo de concepción	70.6	79.6	0.0004
Porcentaje de concepción al día 120 posparto	33.5	47.4	0.0001
Promedio de días abiertos	150	122	0.0001
Servicios por concepción*	2.35	2.15	0.06
Porcentaje de desechos por cualquier motivo	27.9	21.1	0.01
Porcentaje de desechos por falla reproductiva	6.7	3.8	0.02

*Solo vacas gestantes

2.8. Prevención de la retención de membranas fetales

Algunas evidencias involucran a la PGF2 α en el mecanismo de eliminación de la placenta; así, se ha observado que las vacas que retuvieron la placenta tuvieron menores concentraciones de PGF2 α en los placentomas, en comparación con las vacas que eliminaron normalmente la placenta (Lindell *et al.*, 1982; Madej *et al.*, 1984; Horta *et al.*, 1986). Del mismo modo, la inhibición de la síntesis de PGF2 α después del parto ocasiona RMF (Horta *et al.*, 1986), o incrementa el tiempo requerido para la expulsión de la placenta (Chassagne y Barnouin, 1993).

Estos conocimientos han motivado estudios en los cuales se han evaluado diferentes tratamientos con PGF2 α , para prevenir la retención placentaria y reducir el tiempo de involución uterina en vacas con puerperio anormal. Así, se han aplicado de una a dos inyecciones de PGF2 α en las primeras horas posparto (Gross *et al.*, 1986; Garcia *et al.*, 1992; Marques *et al.*, 1993; Santos *et al.*, 2002; Ortega *et al.*, 2012; Salgado *et al.*, 2014), pero los resultados han sido variables, lo cual ha creado controversia en la práctica clínica. No obstante, la variación en los resultados apoya la idea de que debe haber una ventana fisiológica en las primeras horas posparto, en la cual la administración de PGF2 α pudiera favorecer el proceso de expulsión de la placenta. Ortega *et al.* (2012), observaron que la administración de dos inyecciones de prostaglandinas en las primeras 48 horas posparto, disminuyó el porcentaje de vacas que presentaron retención de membranas fetales. Estos resultados podrían apoyar la utilización rutinaria de la PGF2 α después del parto, para mejorar la salud uterina y aumentar la fertilidad en vacas lecheras; sin embargo, no hay otro estudio que corrobore estos resultados.

3. HIPÓTESIS

La administración de dos inyecciones de PGF2 α en las primeras 48 horas posparto, disminuye la incidencia de retención placentaria, de infecciones uterinas y aumenta la fertilidad de vacas lecheras en manejo intensivo.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Animales y manejo del hato

El presente trabajo se realizó durante los meses de agosto a noviembre de 2014, en un establo lechero ubicado en Aguascalientes, Ags. El clima de la región es simiseco. El cual tiene un manejo intensivo, con un promedio de producción de 10,000 Kg de leche por lactación. Se utilizaron 800 vacas Holstein de diferente número de partos (rango de 1 a 8) alimentadas con una ración totalmente mezclada, según las recomendaciones del NRC (2001).

Veintiún días antes del parto las vacas se trasladan a un corral de acuerdo con su número de parto (primíparas y multíparas). Después del parto, las vacas se envían al corral de vacas frescas, de acuerdo también con su número de parto (primíparas y multíparas); en el cual permanecen hasta que transcurren sus primeros 21 días en producción. Posterior a esto son enviadas a los corrales de producción correspondientes dependiendo a su número de parto y a su nivel de producción.

Todos los animales fueron sometidos al manejo reproductivo del establo, se integraron a un protocolo de presincronización con PGF2 α a los 26 \pm 3 días en leche, con un intervalo de 14 días entre cada aplicación. Todas las vacas recibieron tres inyecciones de PGF2 α . Los animales que no fueron detectados en estro después de las aplicaciones de la PGF2 α se enrolaron en un protocolo de sincronización e inseminación artificial a tiempo fijo (CoSynch). El protocolo CoSynch consiste en la aplicación de GnRH 14 días después de la última PGF2 α , 7 días después de la GnRH se aplica la PGF2 α , tres días después se insemina y se aplica una segunda GnRH al momento del servicio. El periodo voluntario de espera es de 45 días, por lo que todos los animales que se detectan en estro después de este día se inseminan. El diagnóstico de gestación se realiza por medio de palpación rectal entre los días 40 y 50 posteriores a la inseminación. Los animales que resultan vacíos al diagnóstico de gestación se reintegran al

programa CoSynch. En la Figura 1, se muestra el protocolo de sincronización del estro, los días en leche y las hormonas administradas.

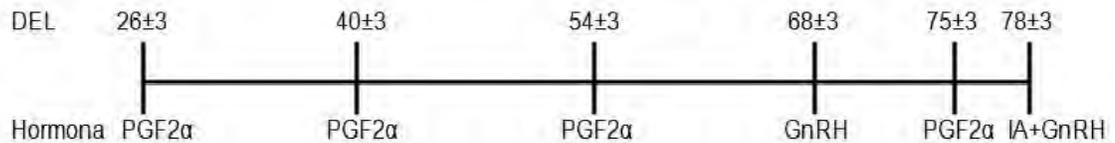


Figura 1. Días en leche (DEL) y hormonas administradas en el programa de sincronización e inseminación artificial utilizado en el establo.

4.2 Tratamientos

Diez días antes del parto las vacas se asignaron aleatoriamente a dos diferentes tratamientos: PGF2α (n=400), recibieron 500 µg de cloprostenol sódico α (Celosil®, 250 mcg/ml, MSD Animal Health, México) vía intramuscular dentro de las primeras 12 h posparto (0-12 h) y una segunda inyección aproximadamente 48 horas después; testigo (n=400), no recibieron PGF2α. Se balanceó aleatoriamente el número de vacas primíparas y multíparas en cada tratamiento. Todas las vacas se examinaron por vía transrectal en los días 14, 21 y 28 posparto, para determinar grado de involución uterina y hacer el diagnóstico de patologías uterinas. Se registró la incidencia de patologías uterinas de acuerdo con el criterio de Sheldon *et al.* (2006):

Se consideró como retención de membranas fetales a aquellas vacas que no eliminaron la placenta en las siguientes 24 h posparto.

Metritis.- se consideraron con esta patología a las vacas que presentaron el útero anormalmente agrandado y con descargas purulentas detectables en vagina dentro de los primeros 21 días posparto, sin signos de enfermedad sistémica.

Endometritis.- se consideraron con esta patología a los animales con descargas mucopurulentas (50% pus, 50% moco, aproximadamente) dentro de los primeros 21 días o más posparto.

A los animales que resultaron positivos a cualquiera de las patologías descritas, se les aplicaron los tratamientos farmacológicos utilizados en el rancho. Dependiente del tipo de patología, se utilizaban desde antibioterapia parenteral (Ceftiofur, Penicilinas, Oxitetraciclina), acompañada de AINES (Flunixin de Meglumina, Dípirona) u hormonales (PGf2 α).

Todas las vacas se inseminaron y se hizo el diagnóstico de gestación de acuerdo con el programa reproductivo del rancho. Se midió el tiempo transcurrido del parto al primer estro; días del parto al primer servicio; porcentaje de concepción en el primer servicio (proporción de vacas gestantes del total inseminado) y porcentaje acumulado de vacas gestantes a los días 90 y 150 posparto.

4.3 Toma de muestras y determinación de calcio

Se tomaron muestras de sangre de 14 animales de cada grupo asignadas aleatoriamente y balanceadas en su proporción de primíparas (n=7) y multíparas (n=7), en los días 0, 1, 3, 5 y 7 posparto para la determinación de calcio. Las muestras fueron tomadas con tubos al vacío sin anticoagulante (Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin lakes, NJ), por punción en vena coccígea. Posterior a la obtención, se centrifugaron a 1500 x g por 10 minutos para la separación del suero, el cual se conservó en congelación hasta su análisis.

Las concentraciones de calcio se determinaron mediante la técnica de fotolorimetría (Radox, Crumlin, UK) en un analizador semiautomático (Selectra

Junior, Vital[®] Scientific, Spankere, Paises Bajos) en el laboratorio de la sección de Patología Clínica del Departamento de Patología (FMVZ-UNAM).

4.4 Análisis estadístico

La contribución relativa de cada factor para la probabilidad de RMF se determinó por medio de regresión logística. La RMF se consideró como variable dependiente, mientras que el tratamiento, tipo de parto (único o gemelar), dificultad de parto (asistido o no asistido), número de parto (primíparas o multíparas), sexo de la cría (macho o hembra) se consideraron como variables independientes. Las variables dependientes de fertilidad (gestación al primer servicio, gestaciones acumuladas a los días 90 y 150 posparto) también se analizaron mediante modelos de regresión logística considerando las mismas variables independientes anteriores. En este último análisis se consideró, además, la RMF (sin RMF o con RMF), salud uterina al día 28 posparto (involución normal o endometritis), como variables independientes. El número de casos de RMF y fertilidad, se evaluó mediante regresión logística (IBM SPSS Statistics para Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp, 2011), de acuerdo al método de Hosmer y Lemeshow. Este método implica cinco pasos: selección preliminar de todas la variables para las asociaciones univariada; la construcción de un modelo completo utilizando las variables significativas que resultaron del análisis univariado; la eliminación gradual de las variables no significativas del modelo completo; la comparación del modelo reducido con el modelo anterior para el ajuste del modelo y los factores de confusión, la evaluación de las interacciones entre las variables y la evaluación del ajuste del modelo mediante estadística de Homer-Lemeshow (Hosmer y Lemeshow, 2000). Los factores con $P < 0.35$ en el análisis univariado fueron incluidos en el modelo inicial, se continuó depurando el modelo dejando sólo los efectos principales e interacciones ($P < 0.05$).

Las variables de salud uterina, medidas en la proporción de vacas con metritis y/o endometritis en los días 14, 21 y 28 posparto se evaluaron mediante un

análisis de supervivencia (Kaplan-Meier; SPSS), generando curvas de porcentaje de vacas con endometritis (estimación de función de supervivencia) en el tiempo, para comparar las curvas de porcentaje de vacas con endometritis con base en el tratamiento se utilizó un análisis estadístico LOG-RANK, el cual permite comparar dos o más curvas para diferentes grupos (LeBlanc *et al.*, 2002a; Gerald van Bell *et al.*, 2004).

Los días al primer estro y primer servicio, se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA; SPSS). Se inició con la construcción de un modelo para cada una de las variables explicativas, siguiendo con la construcción de un modelo con todas aquellas variables y sus interacciones que resultaron significativas en el paso anterior, por último se depuró el modelo dejando solamente aquellas interacciones que resultaran significativas ($P < 0.1$), previa comprobación de los supuestos de homogeneidad de varianza y normalidad.

Los valores de las concentraciones séricas de calcio se evaluaron mediante un análisis multivariado (MANOVA; SPSS) para un diseño totalmente aleatorizado con mediciones repetidas en el tiempo previa comprobación de los supuestos de homogeneidad de varianza, normalidad y esfericidad.

5 RESULTADOS

La proporción de vacas primíparas y multíparas en los tratamientos (33 vs 33.5 y 67 vs 66.5% para primíparas y multíparas respectivamente; $P=0.87$), condición corporal al parto (3.86 ± 0.35 vs 3.81 ± 0.39 ; $P=0.12$), el sexo de la cría al parto (48.2 vs 47.5 y 51.7 vs 52.4% para machos y hembras respectivamente; $P=0.8$), la proporción de parto gemelar (2.5 vs 3.25; $P=0.52$), parto asistido (43.7 vs 45.2 %; $P=0.66$), la proporción de vacas desechadas o muertas durante el estudio (12.02 vs 12.7%; $P=0.75$), fueron similares entre los tratamientos (PGF2 α y testigo, respectivamente).

En el Cuadro 2 se muestran los porcentajes de RMF y Odds Ratio (OR) de los efectos principales de las variables incluidas en el modelo final de regresión logística para RMF. Los animales del grupo testigo tienen mayor probabilidad de presentar RMF (OR=1.69; $P=0.012$) que las vacas tratadas con PGF2 α ; de igual forma los animales con parto gemelar incrementan la probabilidad (OR=5.91; $P=0.0001$) de RMF en comparación con las vacas de parto único. Los factores número de partos, dificultad de parto y sexo de la cría no mostraron diferencia significativa en el modelo ($P>0.05$).

Cuadro 2. Porcentaje de RMF y Odds Ratio para la probabilidad de retención de membranas fetales de acuerdo a las variables en el modelo final de regresión logística.

Variables	Clases	n	Porcentaje de RMF	Odds Ratio	IC 95% ¹	P
Tratamiento	Testigo	400	17.5	1.69	1.12-2.55	0.012
	PGF2 α	398	11.0	1.00*		
Tipo de Parto	Único	775	13.3	1.00*		
	Gemelar	23	47.8	5.91	2.5-13.85	0.0001

* Referencia

¹ Intervalo de confianza

En la Figura 2 se muestra la proporción de vacas con metritis el día 14 y endometritis los días 21 y 28 evaluadas de manera conjunta por el análisis de supervivencia (Kaplan-Meier), se encontró un efecto del tratamiento ($P=0.016$) mostrando que las vacas testigo tienen una mayor proporción de vacas con metritis y/o endometritis durante el puerperio que los animales tratados con $PGF2\alpha$ (91.5 vs 90.3; 73.5 vs 70.5; 36.7 vs 29.8; para los días 14, 21 y 28 respectivamente).

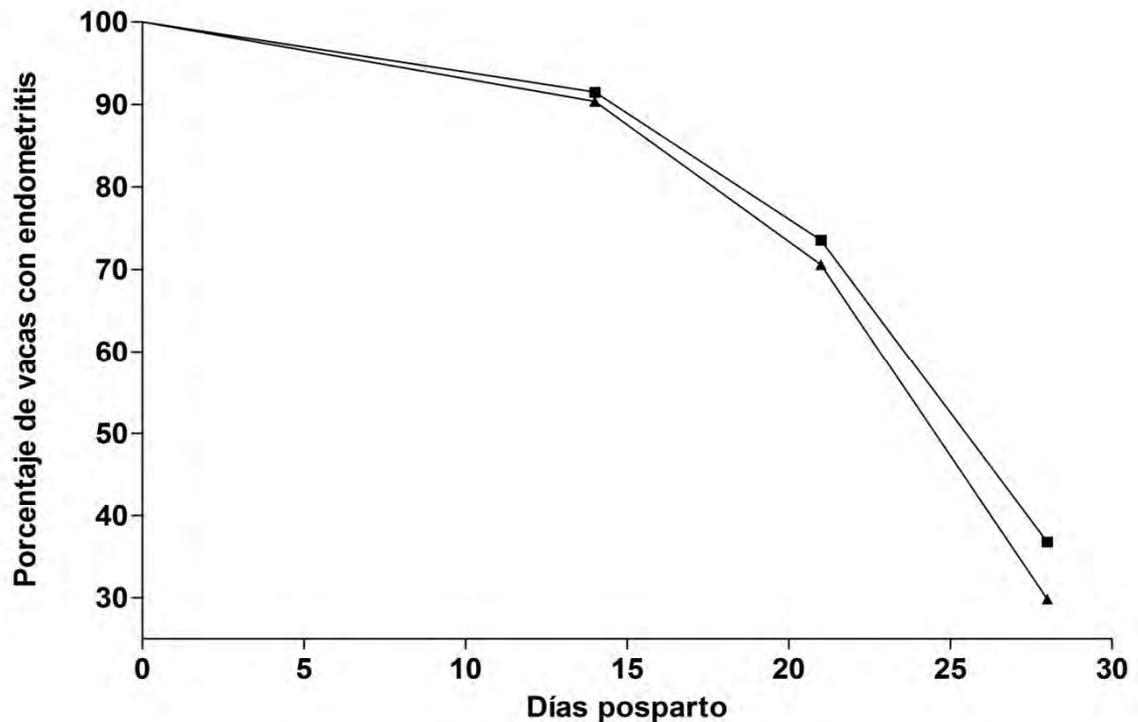


Figura 2. Curva de supervivencia para la proporción de vacas con endometritis en los primeros 28 días posparto tratadas con una inyección de $PGF2\alpha$ en las primeras 12 horas posparto y una segunda inyección a las 48 horas posparto (-▲-) y testigos (-■-); $P=0.016$.

En el Cuadro 3 se muestra el promedio de días a primer estro para las variables significativas del modelo. Las vacas de primer parto tuvieron menor número de días al primer estro en comparación con las multíparas (26.3 vs 27.7 respectivamente $P=0.0001$); de igual manera los animales del grupo $PGF2\alpha$ tendieron ($P=0.099$) a presentar su primer estro posparto más pronto en comparación con las del grupo testigo (26.9 vs 27.6); no se encontró un efecto de interacción entre el tratamiento y el número de parto ($P=0.63$); las variables de tipo de parto, sexo de la cría, dificultad de parto y RMF, no mostraron diferencia significativa en cuanto a los días a primer estro ($P>0.1$).

Cuadro 3. Promedio (\pm DE) de los días a primer estro dependiente del tratamiento (testigo o $PGF2\alpha$) y el número de parto (primíparas o multíparas).

Variable	Clases	n	Media	DE¹	P
Tratamiento	Testigo	378	27.6	5.2	0.099
	$PGF2\alpha$	378	26.9	5.0	
Número de parto	Primíparas	251	26.3	5.0	0.0001
	Multíparas	505	27.7	5.1	

¹ Desviación estándar

En el Cuadro 4 se muestra el promedio de días al primer servicio para las variables significativas del modelo. Las vacas con involución normal al día 28 posparto tuvieron menor número de días al primer servicio en comparación con las vacas que tenían endometritis (61.9 vs 71.2, respectivamente $P=0.0001$), los animales tratados con $PGF2\alpha$ tendieron ($P=0.069$) a recibir su primer servicio posparto más pronto en comparación con las del grupo testigo (64.3 vs 67.9); no se encontró interacción entre el tratamiento con la salud uterina ($P=0.62$), por su

parte el tipo de parto, sexo de la cría, dificultad de parto, número de parto y RMF no fueron significativas ($P < 0.1$).

Cuadro 4. Promedio (\pm DE) de los días a primer servicio dependiente del tratamiento (PGF2 α o testigo) y salud uterina al día 28.

Variable	Clases	n	Media	DE¹	P
Tratamiento	Testigo	349	67.9	23.8	0.069
	PGF2 α	359	64.3	19.4	
Salud uterina	Involución normal	390	61.9	17.3	0.0001
	Endometritis	318	71.2	25.3	

¹ Desviación estándar

En el Cuadro 5 se muestra el promedio y los Odds ratio para las variables significativas del modelo final de regresión logística para la tasa de gestación a primer servicio. El tratamiento con PGF2 α no afectó la probabilidad de gestación en el primer servicio ($P=0.62$). Las vacas de primer parto tuvieron mayor probabilidad de quedar gestantes que las vacas multíparas ($OR=2.02$; $P=0.0001$); de igual forma las vacas de parto no asistido o normal, tendieron a tener mayor probabilidad de quedar gestantes en su primer servicio comparándolas con las vacas con parto asistido ($OR=1.38$; $P=0.085$). Por su parte los factores sexo de la cría, tipo de puerperio, RMF y tipo de parto no afectaron la probabilidad de gestación en su primer servicio ($P > 0.1$).

Cuadro 5. Tasa de gestación al primer servicio y Odds Ratio de acuerdo a las variables en el modelo final de regresión logística.

Variables	Clases	n	Tasa de Gestación	Odds Ratio	IC 95%¹	P
Tratamiento	Testigo	344	24.1	1.00*		
	PGF2 α	350	22.8	0.91	0.64-1.30	0.625
Dificultad de Parto	No asistido	389	24.9	1.38	0.95-2.00	0.085
	Asistido	305	21.6	1.00*		
Número de parto	Primíparas	236	31.3	2.02	1.40-2.92	0.0001
	Múltiparas	458	19.4	1.00*		

*Referencia

¹ Intervalo de confianza

En el Cuadro 6 se muestra el promedio y los Odds Ratio para las variables significativas del modelo final de regresión logística para la proporción de vacas gestantes en el día 90 posparto. El tratamiento con PGF2 α no afectó este parámetro (P=0.7); por su parte las vacas primíparas tendieron a tener una mayor probabilidad de gestación acumuladas en el día 90 posparto que las vacas múltiparas (OR=1.39; P=0.054). Asimismo, la eliminación de la placenta en el periodo normal después del parto tiende a incrementar la probabilidad de gestación en el día 90 posparto en comparación con las vacas que tuvieron RMF (OR=1.54; P=0.093). No se encontró interacción entre el número de parto y RMF (P>0.1). Por su parte los factores como tipo de puerperio, sexo de la cría, dificultad de parto y tipo de parto no afectaron la probabilidad de gestación acumulada en el día 90 posparto (P>0.1).

Cuadro 6. Porcentaje acumulado de vacas gestantes en el día 90 posparto y Odds Ratio de acuerdo a las variables en el modelo final de regresión logística.

Variables	Clases	n	Porcentaje de Gestación	Odds Ratio	IC 95%¹	P
Tratamiento	Testigo	346	29.1	1.00*		
	PGF2 α	349	30.9	1.06	0.76-1.47	0.707
Número de parto	Primíparas	237	35.0	1.39	0.99-1.95	0.054
	Múltiparas	458	27.5	1.00*		
RMF	Sin RMF	596	31.3	1.54	0.93-2.56	0.093
	Con RMF	99	22.2	1.00*		

*Referencia

¹Intervalo de confianza

En el Cuadro 7 se muestra el promedio y los Odds Ratio para las variables significativas del modelo final de regresión logística para la tasa de gestación al día 150 posparto. El tratamiento con PGF2 α en las primeras 48 horas posparto, no afectó la probabilidad de gestación acumulada al día 150 posparto (P=0.531); por su parte las vacas de primer parto tuvieron mayor probabilidad de gestación acumulada al día 150 posparto que las vacas múltiparas (OR=1.47; P=0.021); de igual forma, las vacas que tenían una involución normal al día 28 posparto tuvieron mayor probabilidad de gestación que las vacas diagnosticadas con endometritis (OR=1.4; P=0.033); en este mismo sentido las vacas que tuvieron parto único tienden a incrementar la probabilidad de estar gestantes al día 150 posparto en relación con las vacas con parto gemelar (OR=2.46; P=0.061). No hubo interacción entre los factores significativos del modelo (P>0.1). Los factores sexo de la cría, dificultad al parto y RMF no afectaron la probabilidad de estar gestantes al día 150 posparto (P>0.1).

Cuadro 7. Porcentaje de vacas gestantes al día 150 posparto y Odds Ratio de acuerdo a las variables en el modelo final de regresión logística.

VARIABLES	CLASES	n	Porcentaje de gestación	Odds Ratio	IC 95%¹	P
Tratamiento	Testigo	336	59.8	1.00*		
	PGF2 α	341	62.4	1.10	0.80-1.50	0.531
Número de parto	Primíparas	236	67.3	1.47	1.06-2.06	0.021
	Múltiparas	441	57.8	1.00*		
Salud uterina	Involución normal	377	64.9	1.40	1.02-1.92	0.033
	Endometritis	300	56.3	1.00*		
Tipo de Parto	Único	657	61.9	2.46	0.96-6.34	0.061
	Gemelar	20	35.0	1.00*		

*Referencia

¹ Intervalo de confianza

Las concentraciones séricas de calcio no fueron distintas entre los tratamientos (P=0.77) tampoco existió efecto de interacción del tratamiento con el tiempo del muestreo (P=0.614); resultando únicamente significativo el factor tiempo (P=0.0005), encontrándose un efecto de incremento lineal en las concentraciones de calcio a partir del día 1 posparto (Figura 3).

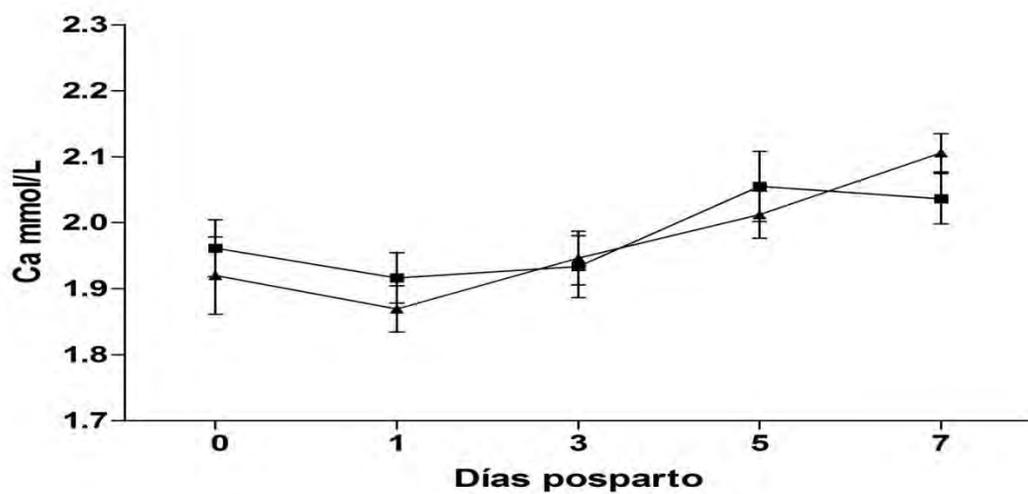


Figura 3. Promedio (\pm EE) de las concentraciones séricas de calcio en vacas tratadas con 500 μ g de cloprostenol sódico α (\blacktriangle) y testigo (\blacksquare), durante los días 0 hasta 7 después del parto.

6 DISCUSIÓN

La inyección de PGF2 α en las primeras 12 horas posparto y una segunda inyección 48 horas después redujo la incidencia de RMF, disminuyó la prevalencia de metritis y endometritis en los primeros 28 días posparto, tendió a disminuir los días a primer estro y primer servicio.

La disminución de la incidencia de RMF observada en este trabajo concuerda con lo encontrado por Ortega *et al.* (2012), quienes aplicaron el mismo tratamiento, en condiciones similares a las del presente estudio y obtuvieron una reducción en la RMF (3 vs 10%; vacas tratadas y testigos, respectivamente). De igual forma, Santos *et al.* (2002) observaron que la administración en la primera hora posparto disminuye la incidencia de RMF. El mecanismo por el cual la administración de PGF2 α en las primeras 48 horas posparto reduce la RMF se desconoce. En algunos estudios se ha demostrado que la PGF2 α facilita el proceso de separación y expulsión de la placenta. Así, se ha encontrado a nivel caruncular que una falla en la conversión de PGE2 a PGF2 α resulta en RMF (Kankofer *et al.*, 2002). Además, la relación de PGF2 α :PGE2 en las vacas que no presentan RMF es mayor a favor de la PGF2 α , indicando la importancia de altos niveles de esta hormona a nivel caruncular para la expulsión de la placenta (Gross *et al.*, 1987; Gross *et al.*, 1988; Wischral *et al.*, 2001; Takagi *et al.*, 2002). Dentro de la patogenia de la RMF, se encontró que existe una alteración en la actividad de los neutrófilos a nivel uterino en aquellos animales que presentan retención (Kimura *et al.*, 2002; Moretti *et al.*, 2015). El efecto positivo de la administración exógena de PGF2 α o sus análogos, puede estar relacionado con su efecto que tienen de estimular la respuesta inmunológica a nivel uterino (Lewis, 2004). Por otro lado su efecto proinflamatorio estimula la producción de citocinas y puede mejorar la producción a nivel uterino de leucotrieno B4, los cuales estimulan varias funciones de los neutrófilos (Lewis, 2004). La inducción del parto con dexametasona es un factor de riesgo para la RMF, ya que con este tratamiento se observa una inhibición de la actividad de las enzimas colagenasas (Beagley *et al.*,

2010); en este contexto, es posible que el efecto favorable de la PGF2 α en animales inducidos al parto sea mediante una activación de este complejo enzimático (Gross *et al.*, 1986). En bovinos Horta *et al.* (1986), observaron que la inhibición de la síntesis de PGF2 α por medio de AINES, incrementa la incidencia de RMF; y en ovejas, retarda el tiempo de separación de la placenta (Chassagne y Barnouin, 1992), recientemente un trabajo realizado en bovinos no encontró el efecto negativo de su inhibición (Richards *et al.*, 2009).

Un mecanismo del efecto positivo de la administración de PGF2 α en la RMF propuesto por Salgado *et al.* (2014), está asociado con las concentraciones sanguíneas de calcio. Así, las vacas que reciben PGF2 α en un tratamiento similar al del presente estudio tuvieron mayores concentraciones circulantes de calcio que las vacas del grupo testigo en los primeros 7 días posparto. Estos investigadores proponen que la administración de PGF2 α incrementa la calcemia, lo cual subsana parcialmente las hipocalcemia subclínica que padecen las vacas lecheras durante los primeros días posparto (Reinhardt *et al.*, 2011). Este efecto tiene relación con el proceso de expulsión de la placenta y con las patologías uterinas; se ha encontrado mayor incidencia de patologías uterinas en vacas con hipocalcemia (Whiterford *et al.*, 2005; Martinez *et al.*, 2012). El efecto negativo de los bajos niveles de calcio posparto, pudiera explicarse por medio de una disminución en la actividad fagocitaria de los neutrófilos en vacas con hipocalcemia (Martinez *et al.*, 2014); asimismo, los neutrófilos liberan gránulos de secreción con proteasas y colagenasas, procesos calcio dependientes y que apoyan la expulsión normal de la placenta (Melendez *et al.*, 2004). En cultivos de células de miometrio de mujeres no gestantes, se observó que la PGF2 α promueve el incremento de calcio ionizado, este incremento es derivado en parte de las reservas intracelulares de calcio y del compartimiento extracelular, lo cual se explica por un mejoramiento del flujo de calcio por medio de los canales de calcio (Fu *et al.*, 2000), así, la acción antiuterotónica de la progesterona depende en parte de su habilidad de antagonizar la acción de PGF2 α (Jenkin y Young, 2004). Sin embargo en el

presente estudio, no se observaron diferencias en las concentraciones sanguíneas de calcio, por tanto, aunque las concentraciones de calcio tienen efectos que favorecerían la eliminación de la placenta y el proceso de involución uterina, en este trabajo no se observó ninguna relación; posiblemente el número de vacas incluidas en el muestreo pudo ser insuficiente para apreciar una diferencia. No obstante, obtener una respuesta favorable en la incidencia de RMF similar a la observada por Ortega *et al.* (2012) motiva a investigar el mecanismo de acción de la PGF2 α y la relación de las concentraciones de calcio sérico, ya que de ser cierta dicha asociación estaríamos cerca de desarrollar un programa eficaz de manejo de la vaca lechera posparto.

Por otro lado, se observó en el presente estudio que el parto múltiple incrementa la probabilidad de presentar RMF (OR=5.91), lo cual no es de sorprender ya que se encontró que problemas al parto como lo es un parto gemelar incrementa el riesgo de presentar RMF (Correa *et al.*, 1993; Marques *et al.*, 1993; Peeler *et al.*, 1994; Han y Kim, 2005), incluso el incremento observado en nuestro trabajo es muy similar al encontrado por Correa *et al.* (1993). Si bien Ortega *et al.* (2012), no mencionan un efecto de parto gemelar sobre el incremento en retención de placenta, ellos encontraron que la incidencia en la RMF fue mayor en vacas que tuvieron asistencia al parto. En el presente estudio no se observó interacción entre el tipo de parto (asistido o sin asistencia), es decir, la PGF2 α redujo la incidencia de RMF en ambos tipos de vacas, lo cual contrasta con lo observado por Ortega *et al.* (2012); en este trabajo citado, el efecto de la PGF2 α fue mayor en las vacas que tuvieron parto asistido.

La disminución de la prevalencia de patologías uterinas en los primeros 28 días posteriores al parto como efecto del tratamiento con las PGF2 α en las primeras 48 horas no es muy claro; sin embargo, en los primeros reportes entre las patologías uterinas y los niveles séricos de PGF2 α , se observó que vacas con puerperio normal tenían mayores concentraciones de PGF2 α , encontrándose una correlación negativa entre las concentraciones séricas de PGF2 α y la involución

uterina (Lindell *et al.*, 1982; Madej *et al.*, 1984). Posiblemente este efecto positivo del tratamiento con PGF2 α se explica en parte por la disminución de RMF, ya que se menciona como uno de los principales factores de riesgo para el subsiguiente desarrollo de patologías uterinas (Dubuc *et al.*, 2010; Potter *et al.*, 2010).

Por otro lado Nakao *et al.* (1997) encontraron que la administración de PGF2 α en las primeras dos semanas posparto, fue eficiente en animales con puerperio patológico o retraso en la involución uterina. En la curva de sobrevivencia de endometritis del presente estudio se observó que en el día 28 posparto las vacas que recibieron PGF2 α tuvieron menor prevalencia de endometritis, lo cual pudo ser un efecto de la menor incidencia de RMF observada en las vacas tratadas con PGF2 α . Aunque las curvas son diferentes, la proporción de vacas con endometritis en el día 28 es ligeramente menor en las vacas tratadas con PGF2 α . Este resultado es interesante, ya que se esperaba que al reducir la incidencia de RMF hubiera una reducción más evidente de los procesos inflamatorios del útero, sin embargo no fue así. Este resultado se puede deber a que si bien la PGF2 α disminuyó la incidencia de RMF (6 puntos porcentuales), el manejo de la vaca con RMF utilizado en el hato lechero evitó que desarrollaran infecciones uterinas más severas. En el hato del estudio a las vacas con RMF se les midió la temperatura diariamente y sólo aquellas vacas con fiebre recibieron antibióticos por vía parenteral. En las vacas sin fiebre, la mayoría, tres días después del parto (72 horas), se retiró la placenta mediante ligera tracción sin introducir la mano en la vagina. Esta práctica ha demostrado mejores resultados en la involución uterina y en la fertilidad subsiguiente (Drillich *et al.*, 2006a; Drillich *et al.*, 2006b). Por tanto, este pudo ser un factor que disminuyó los efectos negativos de la RMF. No obstante, en el presente estudio las vacas con RMF mostraron una tendencia a ser menos fértiles en el corte que se hizo en el día 90 posparto (31.3 y 22.2 %, sin RMF y con RMF, respectivamente; P=0.09), lo cual es congruente con otras observaciones (Peters y Laven, 1996; Dubuc *et al.*, 2011). En otros estudios se

observa una clara disminución de la fertilidad en vaca con RMF, lo cual puede obedecer a la forma en que fueron tratadas (infusiones y remoción manual).

Cabe señalar que las vacas que padecieron endometritis en el día 28 posparto tuvieron menor probabilidad de estar gestantes en el día 150 posparto ($P=0.033$), lo cual estaría relacionado indirectamente con el efecto del tratamiento con $PGF2\alpha$. El efecto de la endometritis en el día 28 posparto en el porcentaje acumulado de gestaciones en el día 150 posparto puede explicarse por los efectos de endotoxinas sobre endometrio, disminución del desarrollo folicular y factores de la inflamación en el desarrollo embrionario (Sheldon *et al.*, 2008; Sheldon *et al.*, 2009a; Sheldon *et al.*, 2009b). Las infecciones bacterianas perjudican el desempeño reproductivo posterior, Boer *et al.* (2015), encontraron de igual forma su efecto negativo en la probabilidad de quedar gestantes en los primeras semanas del inicio de la temporada reproductiva, en vacas lecheras en pastoreo. Además, las vacas con patologías del puerperio tienen mayor riesgo de padecer endometritis subclínica, la cual afecta el porcentaje de concepción (LeBlanc *et al.*, 2002b; Sheldon *et al.*, 2008). Gilbert *et al.* (2005) observaron que las vacas que padecen endometritis subclínica incrementan en promedio 100 días abiertos y se disminuye en 50% la proporción de vacas gestantes a primer servicio en comparación con vacas sanas. Herath *et al.* (2009), proponen un mecanismo mediante el cual, los animales que presentan infecciones bacterianas estimulan la acumulación de $PGE2$ más que de $PGF2\alpha$ por efecto de los lipopolisacáridos presentes en la pared de algunas bacterias, prolongando la vida media del cuerpo lúteo, lo cual afecta la fertilidad subsecuente.

Las vacas tratadas con $PGF2\alpha$ tendieron a tener menos días del parto al primer servicio, cuando se compara el mismo parámetro entre vacas con endometritis y vacas sanas, las vacas con endometritis tuvieron alrededor de 10 días más ($P<0.05$) que las vacas sanas. Esta diferencia pudo influir en el porcentaje acumulado de vacas gestantes en el día 150, el cual fue mayor en las vacas que no padecieron endometritis.

Las vacas de primer parto fueron más fértiles que las vacas multíparas; así, tanto el porcentaje de vacas gestantes al primer servicio, como el porcentaje acumulado de gestaciones al día 90 como en el día 150 posparto fueron mayores en las vacas primíparas que en las multíparas. Esta observación es congruente con otros estudios (Chebel *et al.*, 2004; Kaufmann *et al.*, 2010) y se puede explicar por diferencias metabólicas entre estos dos grupos de vacas. Las vacas de primer parto tienen un consumo de materia seca menor y producen menos leche que las vacas multíparas, lo cual se puede reflejar en que las primíparas se ven menos afectadas por el catabolismo acelerado de las hormonas esteroides que las multíparas, ya que estas últimas consumen más materia seca (Lopez *et al.*, 2004; Halli *et al.*, 2015). El catabolismo de las hormonas esteroides afecta la eficiencia reproductiva, ya que estas vacas tienen menores concentraciones de estradiol y progesterona, por tanto tienen un estro menos intenso y su desarrollo embrionario está comprometido (Lopez *et al.*, 2004; Wiltbank *et al.*, 2006). Por otro lado, vacas multíparas que presentan PVD en comparación con primíparas con la misma condición, tienen menor probabilidad de ser inseminadas y quedar gestantes (Kaufmann *et al.*, 2010). Walsh *et al.* (2011), concluyeron que las vacas lecheras altas productoras tienen una reducción en la respuesta inmune lo que las predisponen a padecer patologías del puerperio en comparación con las vacas bajas productoras.

Además las vacas de primer parto tienen un sistema inmune más competente para combatir las patologías del puerperio que las vacas de más partos (Gilber *et al.*, 1993). También se observó que el grado de disminución en la actividad de los neutrófilos posparto en la vaca lechera tiene un efecto de interacción con el número de parto, así, en las vacas de 4 o más lactancias este efecto es más marcado (Gilbert *et al.*, 1993; Galvão, 2012), aunado al hecho de que las vacas de más de dos partos presentan mayor contaminación bacteriana posparto (Galvão, 2012).

7. CONCLUSIONES

- a) La inyección de PGF2 α en las primeras 12 horas posparto y una segunda inyección 48 horas después redujo la incidencia de retención placentaria en vacas lecheras.
- b) Los animales a los que se les administró PGF2 α tuvieron menor prevalencia de metritis y endometritis en los primeros 28 días posparto.
- c) La aplicación de dos inyecciones de PGF2 α en las primeras 48 horas posparto, tendió a disminuir los días al primer estro y al primer servicio.
- d) La administración de PGF2 α no afectó las concentraciones séricas de calcio.

La hipótesis planteada se acepta con excepción de que la administración de PGF2 α aumenta la fertilidad en vacas lecheras en manejo intensivo.

8. BIBLIOGRAFÍA

Azawi OI. Postpartum uterine infection in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 2008; 105:187-208.

Barlund CS, Carruthers TD, Waldner CL, Palmer CW. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology* 2008; 69:714-723.

Beagley JC, Whitman KJ, Baptiste KE, Scherzer J. Physiology and treatment of retained fetal membranes in cattle. *J. Vet. Intern. Med.* 2010; 24:261-268.

Boer M, Buddle BM, Heuer C, Hussein H, Zheng T, LeBlanc SJ, McDougall S. Associations between intrauterine bacterial infection, reproductive tract inflammation, and reproductive performance in pasture-based dairy cows. *Theriogenology* 2015; 83:1514-1524.

Bolinder A, Seguin B, Kindahl B, Bouley D, Otterby D. Retained fetal membranes in cows: Manual removal versus nonremoval and its effect on reproductive performance. *Theriogenology* 1988; 30:45-56.

Bonnett BN, Etherington WG, Martin SW, Johnson WH. The effect of prostaglandin administration to Holstein-Friesian cows at day 26 postpartum on clinical findings, and histological and bacteriological results of endometrial biopsies at day 40. *Theriogenology* 1990; 33:877-890.

Brodzki P, Kostro K, Brodzki A, Wawron W, Marczuk J, Kurek L. Inflammatory cytokines and acute-phase proteins concentrations in the peripheral blood and uterus of cows that developed endometritis during early postpartum. *Theriogenology* 2015; 84:11-18.

Carter AM. Evolution of placental function in mammals: The molecular basis of gas and nutrient transfer, hormone secretion, and immune responses. *Physiol. Rev.* 2012; 92:1543-1576.

Chassagne M, Barnouin J. The effect of inhibition of prostaglandin F2 α synthesis on placental expulsion in the ewe. *Can. J. Vet. Res.* 1992; 57:95-98

Chebel RC, Santos JEP, Reynolds JP, Cerri RLA, Juchem SO, Overton M. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 2004; 84:239-255.

Correa MT, Erb H, Scarlett J. Path analysis for seven postpartum disorders of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 1993; 76:1305-1312.

Cruz Barrazueta E, Benítez Sánchez Sergio, Mapes Gabriela, Hernández Cerón J. Fertilidad de vacas Holstein con metritis tratadas con infusiones intrauterinas de oxitetraciclina o cefapirina benzátinica. XXXIV Congreso Nacional de Buiatría. Monterrey, NL. Del 5 al 7 de agosto de 2010.798-802.

Drillich M, Mahlstedt M, Reichert U, Tenhagen BA, Heuwieser. Strategies to improve the therapy of retained fetal membranes in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2006a; 89:627-635.

Drillich M, Reichert U, Mahlstedt M, Heuwieser W. Comparison of two strategies for systemic antibiotic treatment of dairy cows with retained fetal membranes: Preventive vs selective treatment. *J. Dairy Sci.* 2006b; 89:1502-1509.

Dubuc J, Duffield TF, Leslie KE, Walton JS, LeBlanc SJ. Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2010; 93:5764-5771.

Dubuc J, Duffield TF, Leslie KE, Walton JS, LeBlanc SJ. Effects of postpartum uterine diseases on milk production and culling in dairy cows. *J. dairy Sci.* 2011; 94:1339-1346.

Eslami M, Bolourchi M, Seifi HA, Asadi F, Akbari R. Treatment of clinical endometritis in dairy cows by previously used controlled internal drug release devices. *Theriogenology* 2015; 84:437-445.

Etherington WG, Kelton DF, Adams JE. Reproductive performance of dairy cows following treatment with fenprostalene, dinoprost or cloprostenol between 24 and 31 days post partum: A field trial. *Theriogenology* 1994; 42:739-752.

Fernandes CAC, Carvalho RJ, Ramos EO, Moreira JHV, Pereira MP, Martins MG. Effect of different doses of sodium cloprostenol at post-partum period of beef cows. *Ci. Anim. Bras., Goiânia* 2012; 13(3):346-352.

Fu X, Favini R, Kindahl K, Ulmsten U. Prostaglandin F_{2α}-induced Ca⁺⁺ oscillations in human myometrial cells and the role of RU 486. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2000; 182:582-588.

Gabler C, Drillich M, Fischer C, Holder C, Heuwieser W, Einspainer R. Endometrial expression of selected transcripts involved in prostaglandin synthesis in cows with endometritis. *Theriogenology* 2009; 71:993-1004.

Galvão KN, Frajblat M, Brittin SB, Butler WR, Guard CL, Gilbert RO. Effect of prostaglandin F_{2α} on subclinical endometritis and fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2009; 92:4906-4913.

Galvão KN. Postpartum uterine diseases in dairy cows. *Anim. Reprod.* 2012; 9:290-296.

Garcia A, Barth AD, Mapletoft RJ. The effects of treatment with cloprostenol or dinoprost within one hour of induced parturition on the incidence of retained placenta in cattle. *Can. Vet. J.* 1992; 33:175-183.

Gilbert RO, Gröhn YT, Miller PM, Hoffman DJ. Effect of parity on periparturient neutrophil function in dairy cows. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1993; 36:75-82.

Gilbert RO, Shin ST, Guard CL, Erb HN, Frajblat M. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 2005; 64:1879-1888.

Goshen T, Shpigel NY. Evaluation of intrauterine antibiotic treatment of clinical metritis and retained fetal membranes in dairy cows. *Theriogenology* 2006; 66:2210-2218.

Gross TS, Williams WF, Moreland TW. Prevention of the retained fetal membrane syndrome (retained placenta) during induced calving in dairy cattle. *Theriogenology* 1986; 26:365-370.

Gross TS, Williams WF, Manspeaker JE, Lewis GS, Russek-Cohen E. Bovine placental prostaglandin synthesis in vitro as it relates to placental separation. *Prostaglandins* 1987; 34:903-917.

Gross TS, Williams WF. Bovine placental prostaglandin synthesis: Principal cell synthesis as modulated by the binucleated cell. *Biology of Reproduction* 1988; 38:1027-1034.

Halli K, Koch C, Romberg FJ, Hoy S. Investigations on automatically measured feed intake amount in dairy cows during the oestrus period. *Arch. Anim. Breed.* 2015; 58:93-98.

Han YK, Kim IH. Risk factors for retained placenta and the effect of retained placenta on the occurrence of postpartum diseases and subsequent reproductive performance in dairy cows. *J. Vet. Sci.* 2005; 6:53-59.

Heppelmann M, Brömmling A, Weinert M, Piechotta M, Wrenzycki C, Bollwein H. Effect of postpartum suppression of ovulation on uterine involution in dairy cows. *Theriogenology* 2013; 80:519-525.

Heppelmann M, Brömmling A, Ulbrich SE, Weinert M, Piechotta M, Wrenzycki C, Merbach S, Schoon HA, Hoedemaker M, Bollwein H. Effect of suppression of postpartum ovulation on endometrial inflammation in dairy cows. *Theriogenology* 2015; 84:155-162.

Herath S, Lilly ST, Fischer DP, Williams EJ, Dobson H, Bryant CE, Sheldon IM. Bacterial lipopolysaccharide induces an endocrine switch from prostaglandin E₂ in bovine endometrium. *Endocrinology* 2009; 150:1912-1920.

Horta AEM. Acção do acetil-salicilato de lisina sobre a expulsão da placenta em bovinos. *Rev Port. Ciênc. Veter.* 1981; 76: 207-212.

Horta AEM, Chassagne M, Brochart M. Prostaglandin F₂ alpha and prostacyclin imbalance in cows with placental retention: new findings. *Ann. Rech. Vet.* 1986; 17:395-399.

Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied logistic regression*. Second Edition. John Wiley & Sons, Inc. 2000.

Jenkin G, Young IR. Mechanisms responsible for parturition; the use of experimental models. *Anim. Reprod. Sci.* 2004; 82-83:567-581.

Kankofer M, Wiercinski J, Zerbe H. Prostaglandin E₂ 9-keto reductase activity in bovine retained and not retained placenta. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2002; 66:413-417.

Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH. The effect a single administration of cephapirin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. *Theriogenology* 2005; 63:818-830.

Kaufmann TB, Westermann S, Drillich M, Plöntzke J, Heuwieser W. Systemic antibiotic treatment of clinical endometritis in dairy cows with ceftiofur or two doses of cloprostenol in a 14-d interval. *Anim. Reprod. Sci.* 2010; 121:55-62.

Kelton DF, Lissemore KD, Martin RE. Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. *J. dairy Sci.* 1998; 81:2502-2509.

Kimura K, Goff JP, Kehrli ME, Reinhardt TA. Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2002; 85:544-550.

Kimura K, Reinhardt TA, Goff JP. Parturition and hypocalcaemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2006; 89:2588-2595.

Kindahl H, Odensvik K, Aiumlamai S, Fredriksson G. Utero-ovarian relationships during the bovine postpartum period. *Anim. Reprod. Sci.* 1992; 28:363-369.

Kindahl H, Kornmatitsuk B, Gustafsson H. The cow in endocrine focus before and after calving. *Reprod. Dom. Anim.* 2004; 39:217-221.

LeBlanc SJ, Duffield TF, Leslie KE, Bateman KG, Keefe GP, Walton JS, Johnson WH. The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2002a; 85:2237-2249.

LeBlanc SJ, Duffield TF, Leslie KE, Bateman KG, Keefe GP, Walton JS, Johnson WH. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2002b; 85:2223-2236.

LeBlanc SJ. Postpartum uterine diseases and dairy herd reproductive performance: A review. *The Veterinary Journal* 2008; 176:102-114.

LeBlanc SJ, Osawa T, Dubuc J. Reproductive tract defense and diseases in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 2011; 76:1610-1618.

Lefebvre RC, Stock AE. Therapeutic efficiency of antibiotics and prostaglandin F_{2α} in postpartum dairy cows with clinical endometritis: An evidence-based evaluation. *Vet. Clin. Food Anim.* 2012; 28:79-96.

Leutert C, von Krueger X, Plöntzke J, Heuwieser W. Evaluation of vaginoscopy for the diagnosis of clinical endometritis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2012; 95:206-212.

Lewis GS. Steroidal regulation of uterine resistance to bacterial infection in livestock. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2003; 1:117-125.

Lewis GS. Steroidal regulation of uterine immune defenses. *Anim. Reprod. Sci.* 2004; 82-83:281-294.

Lima FS, Bisinotto RS, Ribeiro ES, Greco LF, Ayres H, Favoreto MG, Carvalho MR, Galvão KN, Santos JEP. Effects of 1 or 2 treatments with prostaglandin F_{2α} on subclinical endometritis and fertility in lactating dairy cows inseminated by timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 2013; 6480-6488.

Lindell JO, Kindahl H, Jansson L, Edqvist LE. Post-partum release of prostaglandin F_{2α} and uterine involution in the cows. *Theriogenology* 1982; 17:237-245.

Lopez H, Satter LD, Wiltbank MC. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 2004; 81:209-223.

Madej A, Kindahl H, Woyno W, Edqvist LE, Stupnicki R. Blood levels of 15-keto-13,14-dihydro-prostaglandin F_{2α} during the postpartum period in primiparous cows. *Theriogenology* 1984; 21:279-287.

Marques CC, Vasques MI, Horta AEM. Effect of twinning and calving induction on the incidence of placental retention and its prevention by administering prostaglandin F₂ alpha. *Proceedings do 5° SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL SPRA, Iuso. II Vol., PP. 112-118.* 1993.

Martinez N, Risco CA, Lima FS, Bisinotto RS, Greco LF, Ribeiro ES, Maunsell F, Galvão KN, Santos JEP. Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *J Dairy Sci.* 2012; 95:7158-7172.

Martinez N, Sinedino LDP, Bisinotto RS, Ribeiro ES, Gomes GC, Lima FS, Greco LF, Risco CA, Galvão KN, Taylor-Rodriguez D, Driver JP, Thatcher WW, Santos JEP. Effect of induced subclinical hypocalcaemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2014; 97:874-887.

Melendez P, Donovan GA, Risco CA, Goff JP. Plasma mineral and energy metabolite concentrations in dairy cows fed an anionic prepartum diet that did or did not have retained fetal membranes after parturition. *Am. J. Vet. Res.* 2004; 65:1071-1076.

Moffett A, Loke C. Immunology of placentation in eutherian mammals. *Nature Reviews Immunology* 2006; 6:584-594.

Moretti P, Probo M, Morandi N, Trevisi E, Ferrari A, Minuti A, Venturini M, Paltrinieri S, Giordano A. Early post-partum hematological changes in Holstein dairy cows with retained placenta. *Anim. Reprod. Sci.* 2015; 152:17-25.

Nakao T, Gamal A, Osawa T, Nakada K, Moriyoshi M, Kawata K. Postpartum plasma PGF metabolite profile in cows with dystocia and/or retained placenta, and effect of fenprostalene on uterine involution and reproductive performance. *J. Vet. Med. Sci.* 1997; 59:791-794.

NRC 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. Ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.

Ortega AO, López RO, Mapes G, Ortiz OG, Hernández JC. Uterine pathologies and fertility of dairy cows treated with two injections of PGF₂ α within the first 48 hours after calving. *Vet. Méx.* 2012;43:235-240.

Paisley LG, Mickelsen WD, Anderson PB. Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infections of cows: A review. *Theriogenology* 1986; 25:353-378.

Peeler JE, Otte MJ, Esslemont RJ. Inter-relationships of periparturient diseases in dairy cows. *Veterinary Record* 1994, 134:129-132 (abstract).

Peters AR y Laven RA. Treatment of bovine retained placenta and its effects. *Veterinary Record* 1996, 139:535-539

Potter TJ, Guitian J, Fishwick J, Gordon PJ, Sheldon IM. Risk factors for clinical endometritis in postpartum dairy cattle. *Theriogenology* 2010; 74:127-134.

Prunner I, Wagener K, Pothmann H, Ehling-Schulz M, Drillich M. Risk factors for uterine diseases on small- and medium- sized dairy farms determined by clinical, bacteriological, and cytological examinations. *Theriogenology* 2014; 82:857-865.

Reinhardt TA, Lippolis JD, McCluskey BJ, Goff JP, Horst RL. Prevalence of subclinical hypocalcaemia in dairy herds. *The Veterinary Journal* 2011; 188:122-124.

Richards BD, Black DH, Christley RM, Royal MD, Smith RF, Dobson H. Effects of the administration of Ketoprofen at parturition on the milk yield and fertility of Holstein-Friesian cattle. *Veterinary record* 2009; 165:102-106.

Risco CA, Hernandez J. Comparison of ceftiofur hydrochloride and estradiol cypionate for metritis prevention and reproductive performance in dairy cows affected with retained fetal membranes. *Theriogenology* 2003; 60:47-58.

Salgado EGH, Bouda J, Cecilio AA, Doubek J, Velásquez FHF. Efecto de la aplicación de prostaglandina F₂ α en las primeras horas posparto sobre las concentraciones séricas de calcio en vacas lecheras. *Veterinaria México OA* 2014; 1(2):1-13.

Santos RM, Vasconcelos JLM, Souza AH, Meneghetti M, Ferreira N. The effect of prostaglandin (PGF₂ α) injection in the early post partum period on the incidence of retained placenta in dairy cows. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2002, 54(1).

Seifi HA, Dalir-Naghadeh B, Farzaneh N, Mohri M, Gorji-Dooz M. Metabolic changes in cows with or without retained fetal membranes in transition period. *J. Vet. Med.* 2007; 54:92-97.

Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 2006; 65:1516-1530.

Sheldon IM, Williams EJ, Miller ANA, Nash DM, Herath S. Uterine diseases in cattle after parturition. *The Veterinary Journal* 2008; 176:115-121.

Sheldon IM, Cronin J, Goetze L, Donofrio G, Schuberth HJ. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle¹. *Biology of Reproduction* 2009a; 81:1025-1032.

Sheldon IM, Price SB, Cronin J, Gilbert RO, Gadsby JE. Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle. *Reprod. Dom. Anim.* 2009b; 44:1-9.

Takagi M, Fujimoto S, Ohtani M, Miyamoto A, Wijagunawardane MPB, Acosta TJ, Miyazawa K, Sato K. Bovine retained placenta: Hormonal concentrations in fetal and maternal placenta. *Placenta* 2002; 23:429-437.

Walsh SW, Williams EJ, Evans ACO. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 2011; 123:127-138.

Westermann S, Drillich M, Kaufmann TB, Madoz LV, Heuwieser. A clinical approach to determine false positive findings of clinical endometritis by vaginoscopy by the use of uterine bacteriology and cytology in dairy cows. *Theriogenology* 2010; 74:1248-1255.

Whiteford LC, Sheldon IM. Association between clinical hypocalcaemia and postpartum endometritis. *Veterinary Record* 2005; 157:202-204.

Wiltbank M, Lopez H, Sartori R, Sangsritavong S, Gümen A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology* 2006; 65:17-29.

Wischral A, Verreschi ITN, Lima SB, Hayashi LF, Barnabe RC. Pre-parturition profile of steroids and prostaglandin in cows with or without foetal membrane retention. *Anim. Reprod. Sci.* 2001; 67:181-188.

Wittrock JM, Proudfoot KL, Weary DM, von Keyserlingk MAG. Short communication: Metritis affects milk production and cull rate of Holstein multiparous and primiparous dairy cows differently. J. Dairy Sci. 2011; 94:2408-2412.