

## CITOLOGIA ENDOMETRIAL COMO INDICADOR DE ENDOMETRITIS SUBCLINICA EN VACAS LECHERAS HOLSTEIN FRIESIAN VERSUS JERSEY

Endometrial cytology as an indicator of subclinical endometritis of dairy cattle Holstein Friesian and Jersey breeds

J. Reátegui<sup>1,5</sup>, G. Aquisé<sup>2,5</sup>, F. Fernández<sup>1,5</sup>, S. Cuadros<sup>1,5</sup>, A. Cáceres<sup>1</sup>, S. Bernardi<sup>3,5</sup>, P. Marini<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup> Escuela de Postgrado.  
Universidad Católica de  
Santa María – Arequipa.  
Perú.

<sup>2</sup> Practica Privada.

<sup>3</sup> Cátedra de Histología.  
Facultad de Ciencias  
Veterinarias. Universidad  
Nacional de Rosario  
(UNR). Argentina.

<sup>4</sup> Cátedra de Producción de  
Bovinos Lecheros.  
Facultad de Ciencias  
Veterinarias – UNR -  
Argentina.

<sup>5</sup> Investigador Asociado al  
Centro Latinoamericano  
de Estudios de  
Problemáticas Lecheras  
(CLEPL).

E-mail:  
[jreategu@ucsm.edu.pe](mailto:jreategu@ucsm.edu.pe)

### RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la presencia de polimorfo nucleares neutrófilos (%PMN-N) como indicador de endometritis sub clínica en vacas lecheras de raza Holstein Friesian y Jersey mediante el método de citología endometrial. Se tomaron muestras citológicas de la mucosa endometrial de 94 vacas lecheras, las cuales se agruparon por características genotípicas, Grupo 1: 47 vacas Holstein Friesian; Grupo 2: 47 vacas Jersey, entre los 21 y 56 días postparto. Se evaluó: edad, condición corporal, número de lactación, número de parto, fecha de parto y días en leche a la obtención de la muestra, los datos se sometieron a prueba de homogeneidad basada en el estadístico de Chi<sup>2</sup> ( $p < 0,05$ ). Las muestras citológicas de la mucosa endometrial fueron obtenidas utilizando cepillos endocervicales adaptados y los frotices fueron secados al aire y fijados, posteriormente fueron llevados a laboratorio para ser coloreados mediante la tinción Diff-Quick, luego se procedió a la lectura celular por campos, de las cuales los neutrófilos fueron utilizados para determinar el grado de inflamación de la mucosa uterina, obteniendo un %PMN-N, en relación a las células totales. El criterio para diagnosticar positivo la endometritis subclínica (ES) fue  $\geq 5,10\%$  de PMN-N (Reátegui *et al.*, 2015) en cada frotis. La frecuencia de endometritis subclínica en vacas de diferente genotipos presentó diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,05$ ;  $\chi^2 = 9,73$ ), se observa que el 59,57% de las vacas Holstein Friesian en estudio son positivas a endometritis subclínica frente al 27,66% de las vacas Jersey existiendo una marcada diferencia porcentual de presentación de ES. La frecuencia de ES de ambas razas según la lactancia, mostró que en 2da y 4ta lactancia presentó diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,05$ ). Asimismo se muestra que el 53,8% de las vacas Holstein con 2 lactancias son positivas a endometritis subclínica frente al 11,1% de las vacas Jersey. De la misma manera se observa que el 75,0% de las vacas Holstein Friesian con 4 lactancias son positivas a endometritis subclínica frente a ningún caso en las vacas Jersey. La frecuencia positiva a endometritis subclínica de ambas razas según días en leche, mostró que las vacas con 34 a 46 días en leche presentó diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,05$ ). Asimismo, se muestra que el 64,0% de vacas Holstein Friesian con 34 a 46 días en leche son positivas a endometritis subclínica frente al 23,1% de las vacas Jersey. Garofolo *et al.*, 2013 observó que entre los distintos grupos genéticos en vacas primíparas no se encontró diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en ninguna de las variables estudiadas, el %PMN-N alcanzó un rango entre 0,4% y 4,4%, con una media de 2,2% estando por debajo de los valores que indica la presente investigación, reporta que los %PMN-N por grupo genético tanto de vacas primíparas como multiparas no mostraron diferencias significativas entre ellos. Concluimos que la presencia de PMN N permite identificar las vacas con endometritis subclínica que en vacas de diferente genotipo presentó diferencias estadísticas significativas ( $p > 0,05$ ) en la porcentualidad de PMN-N

**Palabras clave:** Prevalencia, Endometritis subclínica, polimorfo nucleares, post parto

### ABSTRACT

In order to evaluate the presence of polymorphonuclear neutrophils (% PMN-N) as an indicator of endometritis sub clinic in dairy cattle Holstein Friesian and Jersey breeds, by the method of endometrial cytology. 94 dairy cows were sampled, and were grouped by genotypic

characteristics as: Group 1: 47 Holstein Friesian cows; Group 2: 47 Jersey cows, both between 21 and 56 days postpartum. It were evaluated: age, body condition, lactation number, number of birth, date of birth and days in milk to obtain the sample data were evaluated with a test of homogeneity based on statistical Chi square ( $p < 0,05$ ). From each cow a cytological sample of the endometrial mucosa was took, using adapted cervical brushes. Smears were air dried and set, then were taken to the laboratory to be colored by Diff-Quick staining, to cell reading fields proceed. The neutrophils were used to determine the degree of inflammation of the uterine lining, obtaining a percentage of Polymorph Nuclear neutrophils (PMN-N %), relative to the total cells. The criteria for diagnosing of positive subclinical endometritis (SE) was  $\geq 5,10\%$  of PMN-N (Reátegui *et al.*, 2015) in each smear. The frequency of subclinical endometritis in cows of different genotype did show statistically significant differences ( $p < 0,05$ ), it is observed that 59.57% of Holstein Friesian cows under study are positive to subclinical endometritis compared to 27.66% of Jersey cows having a marked percentage of SE difference presentation. The frequency of SE of both breeds as lactation, showed that in the 2nd and 4th-feeding showed statistically significant differences ( $p < 0,05$ ). Also it shows that 53.8% of Holstein cows with 2 lactations are positive to subclinical endometritis compared with 11.1% of Jersey cows. Similarly it is observed that 75.0% of the Holstein Friesian 4 lactations are positive subclinical endometritis against any case Jersey cows. The frequency of subclinical endometritis of both breeds by days in milk showed that cows with 34-46 days in milk showed statistically significant differences ( $p < 0,05$ ). It also shows that 64.0% of the Holstein Friesian cows with 34 to 46 days in milk are positive to subclinical endometritis compared to 23.1% of Jersey cows. Garofolo *et al.*, 2013 noted that between the different genetic groups in primiparous cows no significant differences ( $p > 0,05$ ) was found in any of the variables studied, the% PMN-N reached a range between 0.4% and 4.4%, with an average of 2.2% still below the values indicating the present investigation reports the% PMN-N by genetic group both as multiparous or primiparous cows showed no significant differences between them. It has be concluded that the overall frequency for SE in different genotype cows did show statistically significant differences ( $p > 0,05$ ), however the presence of PMN-N as an indicator of subclinical endometritis in dairy cows of different genotype with 2 and 4 lactations showed differences statistically significant ( $p < 0,05$ ).

**Keywords:** Prevalence, subclinical endometritis, polymorphonuclear, postpartum

## INTRODUCTION

La endometritis es la inflamación del endometrio usualmente debido a la persistencia de una infección moderada o al retraso en la involución uterina (Palmer, 2011). En ausencia de signos clínicos de endometritis, las modificaciones del endometrio uterino pueden ser definidas como endometritis subclínicas, los signos de endometritis subclínica son la presencia de Polimorfos Neutrófilos Nucleares (PMN N) en el lumen uterino sin descargas purulentas (Sheldon, 2006). Las endometritis en el postparto son enfermedades multifactoriales con gran impacto económico, ya que tanto endometritis clínica como subclínica reducen la eficiencia reproductiva del ganado lechero (Kaufmann *et al.*, 2010).

En los últimos años, varios trabajos han comunicado el impacto negativo en la eficiencia reproductiva que provoca la endometritis subclínica (ES) en vacas lecheras (Cheong *et al.*, 2011; Palmer, 2011), la mayoría de éstos se realizaron solo con genotipo Holstein Friesian pocos son los trabajos que evaluaron otros genotipos, como son Jersey o Brown Swiss. Un trabajo de Garofolo *et al.* (2013) en distintos genotipos mostró una prevalencia de ES de 13,33% por debajo del 19% descrito en trabajos previos en vacas Holstein. Arenas, *et al.*, 2015 reporta que la frecuencia de ES para raza Holstein en los sistemas semi-intensivos estudiados en la región de Arequipa es 26,87%, valor por encima de lo reportado en otros estudios. Lo anterior son razones suficientes para plantearnos como objetivo evaluar la presencia de polimorfos nucleares neutrófilos (%PMN-N) como indicador de endometritis sub clínica en vacas lecheras de raza Holstein Friesian y Jersey mediante el método de citología endometrial

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se muestrearon 94 vacas lecheras, agrupadas por características genotípicas, Grupo 1: 47 vacas Holstein Friesian; Grupo 2: 47 vacas Jersey, entre los 21 y 56 días postparto, para evaluar: edad, condición corporal, número de lactación, número de parto, fecha de parto y días en leche a la obtención de la muestra, de establos lecheros del distrito de la Joya, departamento Arequipa. La irrigación la Joya se encuentra a una altitud de 1169.00 m.s.n.m. geográficamente se encuentra a 16° 23' 14'' Latitud Sur y 72° 17' 20'' Longitud Oeste.

Las variables evaluadas fueron: frecuencia y porcentaje de endometritis subclínica, número de parto (NP) y días en lactación (DEL). Se realizó la comparación por el test de Chi-cuadrado ( $P < 0,05$ ), de las diferentes variables evaluadas. La relación entre presencia o no de endometritis subclínica se evaluó, con una prueba de homogeneidad basada en la estadística  $\chi^2$  ( $P < 0,05$ ).

Se obtuvieron muestras de citología endometriales utilizando cepillos endocervicales adaptados (Cytobrush, técnica citológica de cepillado de la mucosa uterina), los cuales fueron cortados aproximadamente a cinco cm de largo y enroscados en el extremo del mandril de una pistola de IA de acero inoxidable especialmente diseñada para este trabajo. Para proteger la pistola de la contaminación vaginal, la misma fue cubierta con una funda y sobrefunda descartable. La región perineal y la vulva fueron higienizadas con solución yodada y toallas de papel absorbente. La pistola de inseminación se introdujo, guiada manualmente por palpación rectal, a través de la vulva, vestíbulo vaginal y vagina pasando a través del cérvix y se colocó en el cuerpo uterino o en la base del cuerno de mayor tamaño en los casos de asimetría, donde el cepillo se expuso de la funda y se procedió a la realización de la toma de muestra dando un

giro al mismo en sentido de las agujas del reloj sobre la mucosa uterina. El cepillo luego se retrajo dentro de la funda y la pistola de inseminación fue retirada del útero y vagina. Posteriormente, se realizaron frotis rotando cada cepillo con la muestra sobre un portaobjetos limpio, y se determinó el porcentaje de polimorfo nucleares neutrófilos, para lo cual se utilizó un valor de 5,10% para calcular la existencia de endometritis subclínica (ES). Cada frotis fue realizado sobre un portaobjetos, rotulado con el número correspondiente al animal, la fecha de toma de la muestras y fueron fijados al aire. Luego se remitieron al laboratorio donde se colorearon mediante la tinción Diff-Quick, (esta tinción permite diferenciar neutrófilos de eosinófilos y basófilos por su morfología celular, según su tipo de granulación específica y el color de la cromatina teñida para cada uno, los neutrófilos presentan un color morado oscuro y son células más abundantes en la sangre periférica que los demás), a partir de las cuales se determinó un porcentaje de células inflamatorias (macrófagos, linfocitos, neutrófilos) de las cuales el porcentaje de polimorfo nucleares neutrófilos (% PMN – N), en relación a las células totales (epiteliales más neutrófilos) fueron los utilizados para determinar el grado de inflamación de la mucosa uterina (Reátegui *et al.*, 2015). El criterio para diagnosticar ES fue  $\geq 5.10\%$  de PMN – N en el frotis endometrial de cada vaca

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La frecuencia de endometritis subclínica en vacas de diferente genotipo presentó diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,05$ ;  $\chi^2 = 9,73$ ), se observa que el 59,57% de las vacas Holstein Friesian en estudio son positivas a endometritis subclínica frente al 27,66% de las vacas Jersey existiendo una marcada diferencia porcentual de presentación de ES. La frecuencia de ES de ambas razas según la lactancia, mostró que en 2da y 4ta lactancia presentó diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,05$ ). Asimismo se muestra que el 53,8% de las vacas Holstein con 2 lactancias son positivas a endometritis subclínica frente al 11,1% de las vacas Jersey. De la misma manera se observa que el 75,0% de las vacas Holstein Friesian con 4 lactancias son positivas a endometritis subclínica frente a ningún caso en las vacas Jersey.

La frecuencia positiva a endometritis subclínica de ambas razas según días en leche, mostró que las vacas con 34 a 46 días en leche presentó diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,05$ ). Asimismo, se muestra que el 64,0% de vacas Holstein Friesian con 34 a 46 días en leche son positivas a endometritis subclínica frente al 23,1% de las vacas Jersey.

Garofolo *et al.*, 2013 observó que entre los distintos grupos genéticos en vacas primíparas no se encontró diferencias significativas ( $p > 0,5$ ) en ninguna de las variables estudiadas, el %PMN-N alcanzó un rango entre 0,4% y 4,4%, con una media de 2,2% estando por debajo de los valores que indica la presente investigación, reporta que los %PMN-N por grupo genético tanto de vacas primíparas como multiparas no mostraron diferencias significativas entre ellos.

Arenas *et al.*, 2015 reporta que la frecuencia de ES para raza Holstein en los sistemas semi-intensivos estudiados en la región de Arequipa es 26,87%, valor por encima de lo reportado en otros estudios. La frecuencia más alta para ES fue para vacas de cuarta lactancia con un 29,17%, vacas de primera lactancia 28,57%, segunda lactancia 27,78%, y vacas de tercera lactancia 19,05%. No obstante a las variaciones mencionadas entre las diferentes lactancias no hay efecto de lactaciones, tampoco se encontraron

diferencias estadísticamente significativas a la prueba de X<sup>2</sup>. De acuerdo el desarrollo de la lactancia observó un 38,64% de vacas con ES en el rango de 34 – 46 DEL, seguido de 35,00 % en el rango de 21 – 33 DEL y 17,14% en el rango de 47 – 56 DEL. Las variables observadas manifiestan diferencia estadísticamente significativa entre el rango de 47 - 56 DEL y los rangos de 21 - 33 y 34 - 46 DEL ( $P = 0.0015$ )

## CONCLUSION

La presencia de polimorfos nucleares Neutrófilos presentes en un frotis con un porcentaje  $> 5,1\%$  permite diagnosticar las vacas con endometritis subclínica que en vacas de diferente genotipo presentó diferencias estadísticas significativas ( $p > 0,05$ ) en la porcentualidad de PMN-N.

## REFERENCIAS

- Arenas E, Reátegui J, Fernández F, Rinaudo A, Cuadros S, Marini P. Frecuencia de endometritis subclínica en el postparto de vacas lecheras en Arequipa. *Spermova* 2015; 5(1): 93 - 96
- Cheong SH, Nydam DV, Galvão KN, Crosier BM, Gilbert RO. Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 2011; 94:762–770.
- Garofolo F, Reátegui J, Bernardi S, Rinaudo A, Marini P. Determinación del porcentaje de PMN en la secreción uterina en el posparto en vacas lecheras de diferentes grupos genéticos. *SPERMOVA* 2013; 3(1): 55-56.
- Kaufmann TB, Drillich M, Tenhagen BA, Heuwieser W. Correlations between periparturient serum concentrations of non-esterified fatty acids, betahydroxybutyruadic, bilirubin, and urea and the occurrence of clinical and subclinical postpartum bovine endometritis. *BMC Veterinary Research* 2010; 6:47.
- Palmer C. Endometritis en vacas lecheras. *Taurus* 2011; 10 (37):25-32
- Reátegui J, Arenas E, Fernández F, Rinaudo A, Cuadros S, Marini P. R. Punto de corte de polimorfos nucleares neutrófilos para diagnóstico de endometritis subclínica por citología endometrial en vacas lecheras. *SPERMOVA*. 2015; 1: 79-82.
- Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 2006. 65, 1516-1530