

Artículo original:

PREVALENCIA DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA ANTES Y CUATRO HORAS DESPUÉS DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL EN VAQUILLONAS

Prevalence of subclinical endometritis before and four hours after artificial insemination in heifers

Maurino, A. (1); S. Bernardi (2);
A. Rinaudo (3); P.R. Marini (4*)

INTRODUCCIÓN

- (1) Alumno de la Especialidad en Reproducción Bovina (IRAC), Córdoba, Argentina
(2) Cátedra de Histología I y Embriología Básica
(3) Cátedra de Histología II y Embriología Especial.
(4) Cátedra de Bovinos Lecheros.
Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de Rosario, Argentina

*E-mail: pmarini@fveter.unr.edu.ar

Palabras clave:

Endometritis, vaquillonas, inseminación, diagnóstico

La técnica de inseminación artificial (IA) se realiza en general sin tener en cuenta el estado del endometrio, a excepción de aquellos animales que manifiesten algún signo que permita determinar la existencia de entidades mórbidas manifiestas como la metritis y la endometritis clínica, por tal razón es necesario reducir el margen de error reproductivo a la mínima expresión.

Para lograr esto, además de los estudios de calidad seminal, consideramos de suma importancia el estudio y análisis del estado de la mucosa endometrial durante el período de espera voluntaria entre los 21 y 56 días posparto y, en particular, la detección de endometritis subclínica (ES) ya que esta última no es considerada al momento de la IA por no manifestar signo clínico alguno.

En los últimos años, varias publicaciones de trabajos de investigación de establecimientos lecheros de sistemas intensivos bajo régimen de confinamiento han reportado un impacto negativo de la presencia de ES en vacas lecheras en el desempeño reproductivo posterior (Plöntzke *et al.*, 2010). Salasel *et al.* (2010) reportaron una asociación entre la endometritis subclínica y la disminución en la tasa de concepción en la próxima IA con una tasa de concepción del 5 % para las vacas con ES y del 47 % de las vacas sin ES.

En estudios recientes (Green *et al.*, 2011) han observado que la ES modifica las concentraciones de esteroides ováricos afectando la calidad del ovocito y esto podría explicar, en parte, las tasas de concepción más bajas y mayor intervalo entre el parto y la concepción que se asocian a menudo con ES. indican un potencial desarrollo de los procesos inflamatorios en el útero de la especie bovina (Aloé *et al.*, 2011).

El objetivo del presente trabajo fue analizar la prevalencia de la ES antes y cuatro horas después de la inseminación artificial y su efecto sobre la tasa de concepción al primer servicio

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 14 vaquillonas Holando Argentino (HA) y 9 vaquillonas Hereford (H) clínicamente sanas y en estado corporal homogéneo (3,25 en la escala 1-5), con un peso promedio de 380 kg y con una edad de 18 meses, que entraron en el sistema de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en el mes de noviembre de 2011. Los animales pertenecen a dos establecimientos de la cuenca lechera denominada Santa Fé Centro (provincia de Santa Fé, Argentina) ubicado en las proximidades de la ciudad de San Jerónimo del Sauce (Latitud: -31° 33'; Longitud: -61° 04').

La inseminación se realizó en el mes de noviembre de 2011, con condiciones climáticas típicas de la región para el período del año analizado. La temperatura durante el transcurso de la jornada de trabajo ascendió de los 28° C a las 10:30 hs. hasta los 36° C a las 14:00 hs. Las vaquillonas fueron sincronizadas mediante el protocolo de IATF que consiste en el uso de dispositivos intravaginales de progesterona y la aplicación de prostaglandinas y de cipionato de estradiol.

Antes de realizar las inseminaciones, se evaluó la temperatura rectal y se obtuvieron muestras citológicas individuales del endometrio mediante la técnica de cytobrush que consiste en la utilización de cepillos endocervicales adaptados (Medibrush XL, Medical Engineering Co, SA) antes de la inseminación y cuatro horas posterior a la misma a cada animal. Los frotis se secaron al aire y se tiñeron utilizando una coloración panóptica (Tinción 15, Biopur). A microscopio óptico se contaron 200 células totales, obteniendo un porcentaje de polimorfonucleares neutrófilos (%PMN-N) con respecto a las células epiteliales endometriales. En el momento de realizarse las inseminaciones se controló, en forma estricta y cronometrada, cada paso del protocolo de descongelado de las dosis utilizadas y su posterior manipulación hasta el momento mismo de la inseminación, todas realizadas por el mismo inseminador. A los 60 días posteriores a la inseminación se realizó la revisión de los animales por ecografía transrectal para ver el estado reproductivo de cada vaca: preñada o vacía. Las variables analizadas fueron: porcentaje de polimorfonucleares neutrófilos (%PMN-N) y estado reproductivo.



Una vez fijadas se remitieron al laboratorio donde se realizó una tinción panóptica comercial (Tinción 15, Biopur). Las preparaciones citológicas se observaron con un microscopio binocular Olympus BH-2 a un aumento de 400 X. Para cada frotis se contó un mínimo de 200 (doscientas) células totales (células epiteliales y células inflamatorias), a partir de las cuales se determinó un porcentaje de células inflamatorias (macrófagos, linfocitos, neutrófilos) de las cuales, los neutrófilos fueron utilizados para determinar el grado de inflamación de la mucosa uterina, obteniendo por tanto un porcentaje de polimorfonucleares neutrófilos (% PMN-N). Las muestras fueron consideradas como diagnóstico positivo de endometritis clínica cuando la muestra citológica tubo un 5 % de polimorfonucleares neutrófilos (Rinaudo *et al.*, 2012).

La variable evaluada se describió a través del promedio y error estándar; las diferencias entre grupos se estimaron mediante t de Student y test de contingencia. Se utilizó una prueba de bondad de ajuste extrínseca a los datos basada en la estadística Chi-cuadrado

RESULTADOS Y DISCUSION

En Tabla 1 se observa como antes de la inseminación artificial las vaquillonas Hereford poseen mayor porcentaje de neutrófilos migrando a través de la mucosa uterina con respecto a las vaquillonas Holando Argentino. Luego de la inseminación artificial, ambos grupos presentan un porcentaje de neutrófilos elevados por encima del 15% que confirmarían la presencia de endometritis subclínica para ambos grupos.

Tabla 1: Promedio y error estándar del % de polimorfonucleares neutrófilos antes y después de la IA por categoría.

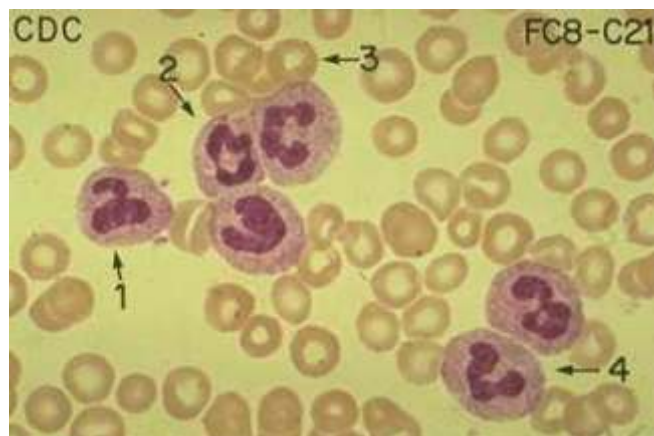
| % / categoría | Vaquillonas Hereford (n=9) | Vaquillonas Holando Argentino (n=14) | significancia |
|------------------|----------------------------|--------------------------------------|---------------|
| Antes de la IA | 12,72 ± 3,45 | 2,58 ± 2,77 | * |
| Después de la IA | 31,44 ± 6,49 | 30,29 ± 8,10 | ns |

Nota: * (p<0,05) ns: no significativo

Tabla 2: Promedio y error estándar del % de polimorfonucleares neutrófilos por categoría y grupo (sano y con endometritis subclínica) antes y después de la IA

| Raza | (n) | Antes de la IA | Después de la IA |
|-------------------------------|------------|-----------------|------------------|
| Vaquillonas Hereford | 5 (sanas) | 1,55 ± 2,15 b | 23,89 ± 10,52 b |
| Vaquillonas Hereford | 4 (ES) | 26,67 ± 14,42 a | 38,30 ± 11,76 b |
| Vaquillonas Holando Argentino | 12 (sanas) | 1,05 ± 1,37 b | 27,33 ± 6,79 b |
| Vaquillonas Holando Argentino | 2 (ES) | 11,73 ± 0,88 b | 56,08 ± 16,64 b |

Nota: Letras diferentes en una misma columna muestran diferencias significativas



En la Tabla 2 se observa, primero que dentro de cada grupo hubo animales sanos y con ES, donde las vaquillonas H el porcentaje de ES representó el 44,4 % y en las vaquillonas HA el porcentaje de ES representó el 14,3 %, y que luego de la IA los dos grupos y dentro de ellos tanto sanos como con endometritis subclínica, mostraron un porcentaje de polimorfonucleares neutrófilos superior.

De las vaquillonas H se preñó sólo un (11 %) y de las vaquillonas HA dos (14,28 %) y no se encontraron diferencias al comparar preñez $\chi^2=0,82$, además cuando se las dividió por grupos de PMN-N dentro vaquillonas H o vaquillonas HA tampoco se encontró diferencias $\chi^2=0,62$.

Existen trabajos que plantean que el útero bovino, muestra sólo una débil respuesta inflamatoria después del apareamiento y que los espermatozoides no desencadenan una respuesta inmunológica detectable en el útero bovino, independientemente de la preparación de los espermatozoides, es decir, eyaculado fresco o congelados-descongelados. Los resultados de este trabajo se asemejan a los encontrados por Kaufmann *et al.* (2008), aunque este trabajo no proporcionó información sobre el estado del endometrio antes de la IA.

CONCLUSIONES

Se concluye que el porcentaje de polimorfonucleares neutrófilos por grupo (vaquillonas Hereford y vaquillonas Holando Argentino) aumentan significativamente luego de la inseminación artificial, mostrando valores que se consideran como endometritis subclínica. En este caso, el porcentaje de preñez a la primera inseminación fue muy baja, posiblemente atribuible a los efectos ambientales en el momento de la inseminación artificial a tiempo fijo.

BIBLIOGRAFÍA

- Aloé, S.; F. Weber; B. Behr; C. Sauter-Louis; H. Zerbe. 2011. Modulatory effects of bovine seminal plasma on uterine inflammatory processes. *Reprod. domestic Anim.* 47(1): 12-19
- Kaufmann, T.B.; M. Drillich; B.A. Tenhagen; D. Forderung; W. Heuwieser. 2009. Prevalence of bovine subclinical endometritis 4h after insemination and its effects on first service conception rate. *Theriogenology*, 71(2): 385-391
- Green, M.P.; A.M. Ledgard; S.E. Beaumont; M.C. Berg; K.P. McNatty; A.J. Peterson; P.J. Back. 2011. Long-term alteration of follicular steroid concentrations in relation to subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Journal Animal Science* 89(11): 3551-3560.
- Plöntzke, J.; L.V. Madoz; R.L. DelaSota; M. Drillich; W. Heuwieser. 2010. Subclinical endometritis and its impact on reproductive performance in grazing dairy cattle in Argentina. *Animal Reproduction Science* 122(1-2):52-7
- Salasel, B.; A. Mokhtari; T. Taktaz. 2010. Prevalence, risk factors for and impact of subclinical endometritis in repeat breeder dairy cows. *Theriogenology*. 74(7):1271-8
- Rinaudo, A.; S.F. Bernardi; P.R. Marini. 2012. Punto de corte del porcentaje de neutrófilos para el diagnóstico de endometritis subclínica en vacas lecheras. Aceptado "XIII Jornadas de Divulgación Técnico - Científicas. Facultad de Ciencias Veterinarias - UNR - Argentina.

