

## Protocolo para Proyecto de Investigación 2012

### Titulo del proyecto

Efectos de la administración de Clopostenol y cefapirina en el posparto temprano de vacas holstein, sobre la involución uterina y el comportamiento ulterior de algunos indicadores reproductivos.

### Introducción

Las enfermedades uterinas afectan a cerca de la mitad de vacas lecheras en el periodo posparto (LeBlanc, 2008; Klucin et al., 1990) y causan infertilidad por disfunción uterina y funciones ováricas (Bondurant R, 1999). La involución uterina es la recuperación del órgano a un estado progestacional, luego de los cambios que durante el periodo gestacional y el parto ha sufrido. Se puede describir como un regreso a la normalidad en cuanto a su tamaño, consistencia, tono y ubicación. La pérdida de peso durante este periodo es considerable; no se sabe exactamente si esto es debido a una reducción en el contenido de agua del músculo uterino o una pérdida de tejido del mismo, o los dos procesos. La pérdida de tejido (especialmente tejido conectivo) se refleja como un aumento en los niveles plasmáticos en vacas durante la primer semana posparto, de glicina y de hidroxiprolina (Dessouky, D.A., 1971). A los 12 días posparto, la cantidad de fluido es mínima y los cultivos bacteriológicos son positivos en un 93% de los casos entre los días 3 y 15; 78% entre los días 16 a 30; 50% entre los días 31a 50 y 9% entre los días 45 a 60 posparto (McEntee K., 1990). La prevalencia de metritis puede variar entre los estudios realizados, dependiendo de las enfermedades y definiciones utilizadas, la metritis afecta del 10 al 20 % de vacas lecheras en Canadá y USA (Overton and Fetrow, 2008; Dubuc et al., 2010b). La metritis ocurre durante las primeras tres semanas posparto y comúnmente durante los primeros diez días posparto (Bartlett et al., 1986 and Kelton et al., 1998). Las vacas que sufren problemas al parto tales como distocia, retención de membranas fetales, hipocalcemia, mellizos, aborto o natimortos tienen mayor riesgo a desarrollar metritis (Sheldon et al., 2004 and Potter et al., 2010). Las metritis pueden ser clasificadas de acuerdo al grado de severidad en metritis clínica caracterizada por un útero agrandado de tamaño y descarga anormal o en metritis puerperal si además la vaca presenta una temperatura rectal  $> 39.5^{\circ}\text{C}$ , depresión y reducción en la producción de leche (Lewis, 1997 and Sheldon et al., 2006). Las metritis resultan en una mayor incidencia de endometritis posparto (Roberts, 1971 and Sheldon et al., 1998). La endometritis es la inflamación del endometrio usualmente debido a la persistencia de una infección moderada o al retraso en la involución uterina (LeBlanc et al., 2002a). Las endometritis han sido clasificadas en clínicas y subclínicas (Sheldon et al., 2006). La endometritis clínica fue definida como la presencia de una descarga purulenta o con olor fétido y un diámetro  $> 7.5$  cm. del cérvix uterino entre los días 20 a 33 posparto o descarga mucopurulenta después de los 26 días posparto. La endometritis subclínica se define en base a resultados de la citología uterina como la presencia de  $>$  de 18% de Polimorfonucleares (PNM) entre los días 21 y 33 o más del 10% de PNM entre los días 34 y 47 posparto. La incidencia de endometritis clínica en establos lecheros alcanza aproximadamente el 16.9% y la endometritis subclínica el 53% entre los 40 y 60 días posparto. La endometritis clínica reduce la fertilidad y por lo tanto se han experimentado numerosos tratamientos antibióticos tanto locales como sistémicos, así como también tratamientos con PgF $2\alpha$  (LeBlanc et al., 2002b). El fundamento para el tratamiento con PgF $2\alpha$ , o un análogo como el Cloprostenol, es estimular los mecanismos de defensa uterinos causando la lisis del cuerpo lúteo y la eliminación de la mayor fuente de progesterona (Hendricks et al., 2006).

Por otro lado, el uso de prostaglandinas F $2\alpha$  en las primeras horas posparto han resultado resultados variables, recientemente Ortega et al (2011) menciona que la aplicación de 500 mg de Cloprostenol sódico en las primeras 12 horas posparto y una segunda inyección 48 horas después reduce la incidencia de retención de placenta, acorta el periodo del parto al primer estro y aumenta la tasa de preñez al día 90 posparto. El efecto benéfico de la PgF $2\alpha$  es poco consistente y parece depender de la presencia de un cuerpo lúteo (Sheldon, 2004). Sin embargo, un estudio reciente no pudo determinar un efecto positivo del tratamiento con PgF $2\alpha$  sobre la eficiencia reproductiva de vacas con endometritis clínica o subclínica independientemente del nivel de progesterona al momento del tratamiento (Dubuc et al., 2011). La hipocalcemia se presenta principalmente en las primeras 48 horas posparto en las vacas lecheras, incluso, hay algunas que permanecen con hipocalcemia subclínica por más días (Salgado et al., 2011). Este problema junto con la cetosis, lipidosis hepática, deficiencia de micronutrientes como la vitamina E y selenio, pueden afectar el funcionamiento del sistema inmune y el mecanismo de contracción uterina requerido para una adecuada expulsión de la placenta, lo cual incrementa el riesgo de metritis y endometritis afectando negativamente diversos parámetros reproductivos (Curtis et al., 1983; Kimura et al., 2006). La hipocalcemia puede presentarse debido a la deficiencia en la acción de la vitamina D, en ratas se ha demostrado que la administración de prostaglandina E $2$  incrementa la síntesis de calcitriol, la vitamina D activa que se requiere para controlar la hipocalcemia. La administración de prostaglandina

en las vacas podría incrementar la síntesis de calcitriol y de calcio, esto podría explicar el efecto benéfico observado tras la aplicación de prostaglandinas, lo cual ayuda en el funcionamiento del sistema inmune y al mecanismo de expulsión de la placenta.

### Objetivos

1.- Evaluar la prevalencia de metritis clínica y endometritis subclínica.

2.- Evaluar su efecto sobre algunos parámetros reproductivos:

- Intervalo parto primer celo
- Intervalo parto-concepción
- Fertilidad al primer servicio
- Tasa de concepción al día 90 posparto
- Establecer programa estratégico plan parto

3.- Analizar si la administración de Cloprostenol sódico incrementa la concentración sérica de calcitriol y calcio en vacas lecheras posparto y reduce los casos de retención placentaria.

### Hipótesis

La aplicación de cloprostenol y cefapirina en el posparto temprano debe mejorar los parámetros reproductivos de vacas Holstein en la Comarca Lagunera

### Revisión de Literatura

La administración intrauterina de Cefapirina benzatínica fue demostrado en repetidas ocasiones para mejorar el manejo reproductivo en vacas afectadas por descarga purulenta vaginal (LeBlanc et al., 2002b; McDougall, 2003; Runciman et al., 2008). Estos datos apoyan el uso de Cefapirina solamente después del día 26 posparto porque no se encontró beneficio antes. La Cefapirina es una cefalosporina de primera generación, efectiva contra la mayoría de los organismos Gram positivos y gramnegativos anaeróbicos. La presentación es en jeringas con 500 mg de Cefapirina benzatínica en 19,6 g de crema y una pipeta de infusión. En un estudio en el que se usaron 316 vacas con endometritis clínica, el tratamiento con Cefapirina entre los 27 y 33 días postparto resultó en un 63 % de incremento de la probabilidad de quedar preñadas y un 29 % de reducción en el tiempo a la preñez, comparado con vacas contemporáneas no tratadas (LeBlanc et al., 2002b). En este mismo estudio se vio que el tratamiento de vacas con endometritis con menos de 27 días en lactancia no acortó significativamente el tiempo a la preñez. Estos autores especularon que esto fue debido al gran número de animales que se recuperaron espontáneamente de la endometritis. Kasinmanickam y col. (2005b) utilizaron 228 vacas con 20 y 33 días en lactancia, evaluadas como libres de endometritis clínica (sin evidencias de descargas uterinas), en un estudio para evaluar el efecto de la infusión uterina de 500 mg de Cefapirina o una inyección de Cloprostenol IM. Las muestras de citología endometrial fueron colectadas usando la técnica de cytobrush en todas las vacas y se realizó ultrasonografía en un subgrupo de vacas antes de su asignación a uno de los grupos trata-miento. Las vacas fueron clasificadas como con endometritis subclínica si encontraron >18 % de neutrófilos en la examinación ginecológica o fluido en el útero determinado por ultrasonografía. Independientemente del estado de la endometritis, todas las vacas tratadas con cefapirina y Cloprostenol, incluyendo las vacas sin evidencias de endometritis subclínica, mostraron un incremento del 62 a 63 % de la tasa de preñez comparado con los animales control. Las vacas con endometritis subclínica mostraron un incremento de la tasa de preñez del 70 y 89 % y una disminución significativa de la mediana de los días de vacía cuando fueron tratadas con cefapirina y Cloprostenol, respectivamente, comparadas con los animales control. Kasimanickam y col. (2005a) también mostraron que no hubo beneficios al tratar vacas sin endometritis subclínica con cefapirina o Cloprostenol. Estos autores concluyeron que el esfuerzo para identificar las vacas con endometritis clínica o subclínica para su tratamiento dependerá del costo de los test de diagnóstico, el costo del tratamiento, el desempeño reproductivo del rodeo y la prevalencia de la enfermedad (Kasimanickam et al., 2005a). La oxitetraciclina ha sido utilizada por veterinarios como antibiótico en tratamientos intrauterinos en vacas con endometritis clínica desde hace mucho tiempo; sin embargo, la absorción intrauterina de oxitetraciclina es pobre y representa un riesgo considerable por los residuos en carne y leche. Además, de causar irritación, coagulación y necrosis que son causadas en el endometrio (Black et al., 1979; Gilbert et al., 1992).

De las mejores evidencias científicas disponibles, una simple infusión de Cefapirina benzatínica en vacas con menos de 28 días en un sistema de partos estacionales es apropiado para tratar endometritis clínica y tan efectiva para incrementar el manejo reproductivo en vacas lecheras de alta producción con endometritis clínica posparto en un sistema anual de parto. Además, y en contraste a otros tratamientos intrauterinos, Metricure no tiene efectos de retiro

en leche (Rejean et al., 2012).

#### Procedimiento Experimental

Este experimento se llevará a cabo en el establo Florencia, ubicado en el Municipio de Francisco I. Madero Coahuila; cuenta con 2800 vacas en producción a tres ordeñas e iniciaremos a principios de julio del 2012. La población muestra será de 600 vacas recién paridas y condiciones de manejo similares, iniciando el día del parto y serán distribuidas de la siguiente manera:

**300 VACAS SIN TRATAMIENTO:** Este será nuestro grupo control y solo se les aplicará el tratamiento de rutina en el establo.

**300 VACAS TRATADAS:** Se les aplicará 500 µg de Cloprostenol (Celosil; MSD, Salud Animal) a la primera y 48 horas posparto; además de 500 mg de Cefapirina (Metricure; MSD, Salud Animal) el día 28 posparto por vía intrauterina.

A un subgrupo de 15 vacas de ambos tratamientos se les tomará una muestra de sangre a las siguientes horas posparto: 1, 3, 7, 12, y 48 horas respectivamente. Y finalmente una última muestra a los 7 días posparto para analizar niveles de Calcio.

La evaluación de metritis clínica se realizará con apoyo del Metrichack el día 28 y 35 posparto a 100 vacas de cada grupo (exudado vaginal) además de observar el estado corporal del animal y temperatura; serán revisados los siguientes órganos y los hallazgos en cada uno de ellos:

**Cérvix:** Forma, tamaño y ubicación.

**Cuernos uterinos:** Disminución del volúmen, consistencia, tono, contractibilidad, fluctuación, estrías longitudinales.

**Ovarios:** Tamaño y estructuras cíclicas o no cíclicas.

**Vulva:** Forma, edematización, lesiones, arrojamientos.

**Loquios:** Ubicación, cantidad, olor, características físicas de densidad.

Las características del moco vaginal se clasificará en cuatro categorías:

MV1; moco claro o traslúcido.

MV2; moco con flóculos o estrías de pus.

MV3; mocopurulento sin olor.

MV4; moco purulento usualmente blanco o amarillo, pero ocasionalmente sanguinolento y con olor fétido.

El día 35 se realizará una citología endometrial mediante la técnica de Cytobrush para la evaluación microscópica a 400X, para conteo y diferenciación de 200 células por preparado para obtener el porcentaje de polimorfonucleares neutrófilos (PPMN) sobre células totales y analizar endometritis subclínica a 100 vacas de cada grupo.

#### Cronograma de actividades.

Actividad a realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Selección de los animales												
Tratamiento de los animales	x	x	x									
Recolección de muestras (sangre, exudado vaginal y citología endometrial)	x	x	x									
Diagnóstico de Gestación y Recogidas de datos	x	x	x	x								
Análisis de datos					x							
Escritura de tesis de Maestría y Licenciatura					x	x						
Presentación de Tesis						x						

#### 5.-Productos esperados

Avances en una tesis de Maestría y terminación de una Tesis de Licenciatura, así como establecer un plan práctico para disminuir los casos de Metritis séptica

#### 6.-Literatura citada

- 1.- Bartlett PC, Kirk JH, Wike MA, Kaneene JB. Metritis complex in Michigan Holstein-Friesian cattle: incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact. Preventive Veterinary Medicine 1986; 4:235-248.
- 2.- Black WD, Mackay AL Doig PA, et al. A study of drug residues in milk following intrauterine infusion of antibacterial drugs in lactating cows. Can Vet J 1979;20: 354-7.
- 3.- Bondurant R. Inflammation in the bovine female reproductive tract. J Anim Sci 1999;77:101-9.
- 4.- Curtis, C.R., H.N. Erb, C.J. Sniffen, R.D. Smith, P.A. Powers, M.C. Smith, M.E. White, R.B. Hillman, and E.J.

- Pearson. 1983. Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 183:559-561.
- 5.- Dessouky, D.A. *Am. J. Obstet. Gynec.*, 1971 110, 318-329. Dubuc J, Duffield TF, Leslie KE, Walton JS, LeBlanc SJ. Randomized clinical trial of antibiotic and prostaglandin treatments for uterine health and reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci* 2011, 94: 1325-1338.
- 6.- Dubuc, J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, J. S. Walton, and S. J. LeBlanc. (2010b). Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:5764-5771.
7. Gilbert RO, Schwark WS. Pharmacologic considerations in the management of peripartum conditions in the cow. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1992;8:29-56.
- 8.- Hendricks, K.E.M., Bartolome, J.A., Melendez, P., Risco, C., Archbald, L.E. 2006. Effect of repeated administration of PgF<sub>2</sub>α in the early postpartum period on the prevalence of clinical endometritis and probability of pregnancy at first insemination in lactating dairy cows. *Theriogenology* 65: 1454-1464.
- 9.- Kasimanickam, R., Duffield, TE, Foster, R.A., Gartley, C.J., Leslie, K.E., Walton, J.S., Johnson, WH. (2005a). The effect of a single administration of cephapirin or Cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. *Theriogenology* 63: 818-830.
- 10.- Kasimanickam, R., Duffield, TE, Foster, R.A., Gartley, C.J., Leslie, K.E., Walton, J.S., Johnson, WH. (2005b). A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Can. Vet. J.*; 46: 255-259.
- 11.- Kelton DFK, Lissemore D, Martin RE. Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. *J Dairy Sci* 1998; 81:2502-2509.
- 12.- Kimura, K., T.A. Reinhardt, and J.P. Goff. 2006. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:2588-2595.
- 13.- Klucin'ski W, Targowski SP, Winnicka A, et al. Immunological induction of endometritis-model investigations in cows. *Zbl Vet MedA* 1990;37:148-53.
- 14.- LeBlanc, S.J., T.F. Duffield, T.E. Leslie, K.E., Bateman, K.G., Keefe, G.P., Walton, J.S., Johnson, WH. (2002a) Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci* 85: 2223-2236.
- 15.- LeBlanc, S.J., Duffield, TE, Leslie, K.E., Bateman, K.G., Keefe, G.P., Walton, J.S., Johnson, WH. (2002b) The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 2237-2249.
- 16.- Lewis, G.S. Uterine health and disorders. *J Dairy Sci* 1987; 80:984-994.
- 17.- McDougall, S. (2003) Effect of intrauterine treatment with cephapirin of dairy cows following peripartum disease on the subsequent reproductive performance. *Cattle Pract.* 11:271-283.
- 18.- McEntee, K. Reproductive pathology of domestic animals. Academic Press Inc, San Diego, California, USA, 1990.
- 19.- Overton, M. and J. Fetrow. (2008) Economics of postpartum uterine health. Pages 39-43 In: Proceedings of Dairy Cattle Reproduction Council Convention. Omaha, Nebraska. pp. 39-43.
- 20.- Ortega OA, Mapes G, Ortiz GO, Cruz MM, Lopez OR, Hernández-Ceron J. Patologías uterinas y fertilidad de vacas lecheras tratadas con dos inyecciones de PgF<sub>2</sub>α en las primeras 48 horas posparto. Memorias de XXXV Congreso Nacional de Buiatría León Gto. Agosto 2011.
- 21.- Potter TJ, Guitian J, Fishwick J, Gordon PJ, Sheldon IM. Risk factors for clinical endometritis in postpartum dairy cattle. *Theriogenology*, 2010; 74:127-134.
- 22.- Rejean C. Lefebvre, Angelica E. Stock; Therapeutic Efficiency of Antibiotics and Prostaglandin F<sub>2</sub> in Postpartum Dairy Cows with Clinical Endometritis: An Evidence-Based evaluation. *Vet Clin Food Anim* 28 (2012) 79-96.
- 23.- Roberts, S.J. *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases*, 1971. 2nd., Edwards Brothers, Inc., Ann Arbor, Michigan, pp. 317-336.
- 24.- Runciman, D. J., G. A. Anderson, J. Malmo, and G. M. Davis. (2008) Effect of intrauterine treatment with cephapirin on the reproductive performance of seasonally calving dairy cows at risk of endometritis following periparturient disease. *Austr. Vet. J.* 86:250-258.
- 25.- Salgado HEG, Bouda J, Velásquez Forero, Aparicio Cecilio, Castillo MA, Flores-Arambula R. El ordeño parcial en la primera y segunda ordeña posparto y la administración de borogluconato de Calcio como medida preventiva de hipocalcemia en vacas lecheras. Memorias de XXXV Congreso Nacional de Buiatría, León Gto; agosto 2011.
- 26.- Sheldon IM, Noakes DE. Comparison of three treatments for bovine endometritis. *Veterinary Record* 1998; 142:575-579.
- 27.- Sheldon IM, Dobson H. Postpartum uterine health in cattle. *AnimReprodSci* 2004; 82/83: 295-306.
- 28.- Sheldon IM, Lewis GS, Leblanc S, Gilbert RG. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 2006; 65: 1516-1530.