



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales

**Factores de riesgo y evaluación de un método diagnóstico no invasivo para
endometritis subclínica en vacas bajo un sistema de producción familiar.**

Tesis

Que como parte de los requisitos para
obtener el Grado de

Doctor en ciencias biológicas

Presenta

Fernando Villaseñor González

Dirigido por:

Dr. Héctor Raymundo Vera Ávila

Querétaro, Qro., Julio de 2025

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Doctorado en Ciencias Biológicas

Factores de riesgo y evaluación de un método diagnóstico no invasivo para endometritis subclínica en vacas bajo un sistema de producción familiar

Opción de titulación

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Doctorado en Ciencias Biológicas.

Presenta:

Fernando Villaseñor González.

Dirigido por:

Dr. Héctor Raymundo Vera Ávila.

Dr. Héctor Raymundo Vera Ávila
Presidente

Firma

Dr. Feliciano Milian Suazo
Secretario

Firma

Dra. Marina Duran Aguilar
Vocal

Firma

Dr. Luis Javier Montiel Olguín
Suplente

Firma

Dr. Mario Alfredo Espinosa Martínez
Suplente

Firma

Dr. José Guadalupe Gómez Soto
Director de la Facultad

Dr. Roberto Augusto Ferriz Martínez
Director de Investigación y Posgrado

Facultad de Ciencias Naturales
Querétaro, Qro.
Julio 2025

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la endometritis subclínica (ESC) sobre el desempeño reproductivo e identificar factores de riesgo para esta enfermedad en vacas de un sistema de producción semi-tecnificado/familiar. Además, evaluar el uso de la ultrasonografía (tiempo real y Doppler) como herramienta diagnóstica de campo no invasiva para dicha condición. En cuatro establos característicos del sistema familiar de producción, fueron monitoreadas 608 lactancias de octubre de 2021 a noviembre de 2023, desde el periodo seco hasta que se confirmó gestación; se obtuvieron datos de salud, nutricionales y de eventos reproductivos. La ESC fue diagnosticada basada en el conteo de células polimorfonucleares (PMN%) a los 30 ± 5 (ESC30) y 60 ± 5 (ESC60) días posparto realizando un raspado endometrial con la técnica de Cytobrush. El umbral de PMN% se estableció de acuerdo con el límite del tercer cuartil de sus valores en la muestra experimental; 4% para ESC30 y 2% para ESC60. Para evaluar la ultrasonografía en tiempo real y Doppler como herramienta diagnóstica para ESC, coincidente con el diagnóstico ESC30 se realizaron mediciones del perímetro (PCU), área (ACU) y diámetro de cérvix y cuernos uterinos (DCU), así como del porcentaje de irrigación en cuernos uterinos estimado por Doppler color (PIC) y poder (PIP). Las imágenes obtenidas se digitalizaron y analizaron con el “software” de procesamiento de imágenes Image J. Las variables de respuesta de frecuencia se analizaron por Chi-Cuadrada y las continuas por ANDEVA considerando en ambos casos como factor a la ESC. La identificación de factores de riesgo se realizó en dos pasos, primero mediante análisis de regresión logística univariada se identificaron factores con efecto sobre la presentación de ESC. En un segundo paso, con esos factores se construyeron modelos de regresión logística múltiple y se calculó la fracción atribuible a la población para identificar los factores de riesgo más importantes. Asimismo, se realizaron análisis de curvas ROC para determinar si alguna medición del tracto reproductivo o su porcentaje de irrigación tenían un valor predictivo como herramienta diagnóstica para ESC. Considerando los dos periodos de muestra el 40.5% de las vacas fueron positivas a ESC. Las vacas positivas a ESC30 tuvieron una tasa de concepción a 1er servicio más baja (38.9 vs 53.7 %), requirieron 0.4 más servicios por concepción y tuvieron 20.2 más días abiertos (DA) que las vacas que fueron diagnosticadas como negativas ($P < 0.05$). Las vacas positivas a ESC60 tuvieron 16 DA más que las negativas ($P < 0.05$). Los factores de riesgo más importantes para ESC30 fueron la retención de membranas fetales (RMF) y las enfermedades uterinas durante el puerperio. La época de parto, RMF y estatus de ESC30 fueron los factores de riesgo más importantes para ESC60. Las vacas positivas a ESC30 presentaron un mayor PCU y ACU que las negativas (8.68 cm vs 8.34 cm, 4.67 cm^2 vs 4.06 cm^2 , $P < 0.05$). Para el caso de PIC las vacas positivas tuvieron 3.39 % de irrigación vs 2.44 % en las negativas ($P > 0.05$), y en PIP las positivas 3.40 % vs 2.22 % en las negativas ($P < 0.05$). Los resultados de área bajo la curva (AUC) y sensibilidad en el análisis de curvas ROC mostraron una capacidad discriminante para ESC+ aceptable con los porcentajes de irrigación en cuernos uterinos evaluadas mediante Doppler color y poder (AUC 0.62 y 0.67; Sensibilidad 77 y 76%). Sin embargo, la especificidad encontrada fue baja (42 y 44%). Se concluye que la ESC presenta una prevalencia elevada en vacas del sistema de producción semi-tecnificado/familiar y que a su vez afecta el desempeño

reproductivo. Asimismo, que existen factores de riesgo para ESC bajo esas condiciones de producción que deben considerarse en el diseño de estrategias de prevención. Por último, que la ultrasonografía del tracto reproductivo en tiempo real y Doppler no representa una herramienta diagnóstica para ESC, y que, dada la importancia de esta patología, así como la dificultad para diagnosticarla, es importante continuar con investigaciones que permitan identificar biomarcadores para su diagnóstico a nivel de establo.

(Palabras clave: Factores de riesgo, ultrasonografía Doppler, endometritis subclínica, sistemas de producción de pequeña escala)

ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate the effect of subclinical endometritis (SCE) on reproductive performance and to identify risk factors for this disease in cows from a semi-technified/family production system. In addition, to evaluate the use of ultrasonography (real time and Doppler) as a non-invasive field diagnostic tool for this condition. In four herds characteristic of the family production system, 608 lactations were monitored from October 2021 to November 2023, from the dry period until gestation was confirmed; health, nutritional, and reproductive event data were obtained. SCE was diagnosed based on polymorphonuclear cell count (PMN%) at 30 ± 5 (SCE30) and 60 ± 5 (SCE60) days postpartum by performing endometrial scraping with the Cytobrush technique. The PMN% threshold was established according to the third quartile limit of its values in the experimental sample; 4% for SCE30 and 2% for SCE60. To evaluate Real Time and Doppler ultrasonography as a diagnostic tool for SCE, coincident with the SCE30 diagnosis, measurements of perimeter (PCU), area (ACU) and diameter of cervix and uterine horns (DCU) were performed, as well as the percentage of uterine horns irrigation estimated by color Doppler (PIC) and power (PIP). The images obtained were digitized and analyzed using Image J. Frequency response variables were analyzed by Chi-square and continuous variables by ANDEVA, in both cases considering SCE as a factor. Risk factors were identified in two steps: first, univariate logistic regression determined factors influencing SCE presentation. In the second step, multiple logistic regression models were constructed with these factors and the fraction attributable to the population was calculated to identify the most important risk factors. Likewise, ROC curve analyses were performed to determine if any reproductive tract measurements or their percentage of irrigation had a predictive value as a diagnostic tool for SCE. Considering the two sample periods, 40.5% of the cows were SCE positive. SCE30 positive cows had a lower conception rate at 1st service (38.9 vs 53.7 %), required 0.4 more services per conception and had 20.2 more days open (DA) than cows that were diagnosed as negative ($P < 0.05$). SCE60-positive cows had 16 more DA than negative cows ($P < 0.05$). The most important risk factors for SCE30 were retained fetal membranes (RMF) and uterine disease during the puerperium. Calving time, RMF and SCE30 status were the most important risk factors for SCE60. SCE30 positive cows had higher PCU and ACU than negative cows (8.68 cm vs 8.34 cm, 4.67 cm² vs 4.06 cm², $P < 0.05$). In the case of PIC, positive cows had 3.39 % of irrigation vs. 2.44 % in negative cows ($P > 0.05$), and in PIP, positive cows had 3.40 % vs. 2.22 % in negative cows ($P < 0.05$). The results of area under the curve (AUC) and sensitivity in the analysis of ROC curves showed an acceptable discriminant capacity for SCE+ with the percentages of irrigation in uterine horns evaluated by color and power Doppler (AUC 0.62 and 0.67; Sensitivity 77 and 76%). However, the specificity was low (42 and 44%). It is concluded that SCE has a high prevalence in cows in the semi-technified/family production system and that it affects reproductive performance. Likewise, there are risk factors for SCE under these production conditions that should be considered in the design of prevention strategies. Finally, that real-time and Doppler ultrasonography of the reproductive tract does not represent a

diagnostic tool for SCE. Given the importance of this pathology and the difficulty in diagnosing it, it is crucial to continue research to identify diagnostic biomarkers suitable for use at the herd level.

(Keywords: Risk factors, Doppler ultrasonography, subclinical endometritis, small-scale dairies)

Dedicatoria

A mi esposa e hijos: Cristina, Fernando y Cynthia Jimena, quienes han sido mi apoyo incondicional, mi alegría y mi mayor motivación para mejorar en todos los aspectos de mi vida.

A mis padres: Fernando Villaseñor Ruiz(†) y María de Jesús González Martín, por regalarme la vida, por su ejemplo y por haberme enseñado a trabajar.

A mis hermanos: Edgar, Gaby y Mymy, por ser las personas con las que siempre puedo contar para compartir mis tristezas y alegrías.

Agradecimientos

A mi tutor: Dr. Héctor Raymundo Vera Ávila, por su paciencia, entrenamiento y apoyo en mi formación académica, por su gestión en la obtención de recursos económicos para realizar la fase experimental de este estudio, además, por todos los consejos importantes que me ha brindado.

A mi comité tutorial: por su valioso aporte de experiencia y conocimientos científicos, que fueron necesarios para la retroalimentación positiva de este trabajo.

A la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ), por abrirme sus puertas y permitirme formar parte de su comunidad estudiantil, así como a todos los docentes que fueron parte de mi formación en el posgrado.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), por darme el apoyo, facilidades y la oportunidad de capacitarme para desempeñar de la mejor manera el quehacer institucional.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnologías (CONAHCyT), por el apoyo económico que me brindó durante el estudio del posgrado.

A todas las personas con las que coincidí en campo por su incondicional apoyo para realizar de la mejor manera el trabajo experimental.

Por último, agradezco a los productores cooperantes por su apoyo y por todas las facilidades que se brindaron para realizar la fase experimental de este estudio.

Tabla de contenidos

Resumen	3
Abstract	5
Dedicatoria	7
Agradecimientos	8
Tabla de contenidos	9
Índice de cuadros	12
Índice de figuras	13
1.- Prólogo	14
2.- Capítulo 1: Introducción, antecedentes, justificación, hipótesis, objetivo general y específicos, conclusiones y referencias.	14
2.1.-Introducción	14
2.2.-Antecedentes	16
2.2.1.- Contexto internacional y nacional de producción de leche.	16
2.2.2.- Sistemas de producción de leche en México.	17
2.2.3.- Proceso reproductivo en establos lecheros	18
2.2.4.- El periodo de transición de la vaca lechera.	18
2.2.5.- Principales parámetros reproductivos en ganado lechero.	19
2.2.6.- Enfermedades uterinas posparto en el ganado lechero.	19
2.2.7.- Metritis y endometritis en ganado lechero.	20
2.2.8.- Diagnóstico de endometritis clínica en ganado lechero.	21
2.2.9.- Tratamientos en endometritis clínica.	21

2.2.10.- Diagnóstico de endometritis subclínica.	22
2.2.11.- Factores de riesgo para que se presenten afecciones uterinas.	22
2.2.12.- Prevalencia de enfermedades uterinas en sistemas de producción de leche intensivos.	23
2.2.13.-Uso de ultrasonografía Doppler en la evaluación del aparato reproductor en bovinos.	23
2.3.- Justificación	25
2.4.- Hipótesis	26
2.5.- Objetivos	27
2.5.1. General	27
2.5.2. Específicos	27
2.6.- Referencias bibliográficas.	28
3. Capitulo 2: Risk factors for subclinical endometritis and its effect on reproductive performance in small-scale dairy farms.	35
3.1 ABSTRACT	36
3.2 Introduction	36
3.3.- Materials and methods	38
3.3.1.- Location and climatic conditions	38
3.3.2.- Herd management and selection criteria	38
3.3.3.- Diagnosis of subclinical endometritis	39
3.3.4.- Events of interest and reproductive performance	40
3.3.5.- Statistical analysis	41

3.4.- Results	41
3.5.- Discussion	42
3.6.- Conclusions	46
3.7.- References	47
4.- Capitulo 3.	61
4.1 Introducción	62
4.2. Materiales y métodos.	65
4.2.1 Ubicación	65
4.2.2 Selección y manejo general de establos.	65
4.2.3 Diagnóstico de Endometritis subclínica	65
4.2.4 Ultrasonografía dual en el diagnóstico de endometritis subclínica.	67
4.2.5 Análisis de información.	68
4.3 Resultados y discusión.	68
4.4. Conclusión.	81
4.5.- Referencias bibliográficas.	82
5.Capitulo 4.	
5.1 Conclusiones generales del estudio.	86

Índice de cuadros capítulo 2.

Table 1. Reproductive performance in cows negative or positive for subclinical endometritis at 30 and 60 days postpartum. 53

Table 2. Events of interest or potential risk factors and their effect on subclinical endometritis at 30 days postpartum (SCE30). 55

Table 3. Events of interest and their effect on subclinical endometritis at 60 days postpartum (SCE60). 56

Table 4. Logistic regression model for association between risk factors and subclinical endometritis at 30 days postpartum. 59

Table 5. Logistic regression model for association between risk factors and subclinical endometritis at 60 days postpartum. 60

Índice de cuadros capítulo 3.

Cuadro 1. Resultados de análisis de curvas ROC para evaluación de desempeño diagnóstico de diferentes regiones anatómicas en la detección de endometritis subclínica. 80

Índice de figuras

Figura 1. Mediciones de cérvix en vacas Holstein con diferente número de parto, evaluadas mediante ultrasonografía en tiempo real. Se muestran las medias y los errores estándar de la media. ^{a,b} Diferentes literales representa diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$). 70

Figura 2. Mediciones de cuernos uterinos en vacas Holstein con diferente número de parto, evaluadas mediante ultrasonografía en tiempo real. Se muestran las medias y los errores estándar de la media. ^{a,b} Diferentes literales representa diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$). 71

Figura 3. Porcentajes de irrigación en cuernos uterinos de vacas Holstein con diferente número de parto, evaluadas mediante ultrasonografía Doppler color y poder. Se muestran las medias y los errores estándar de la media ($P>0.05$). 72

Figura 4. Mediciones de cérvix en vacas Holstein con y sin endometritis subclínica, evaluadas mediante ultrasonografía en tiempo real. Se muestran las medias y los errores estándar de la media ($P>0.05$). 73

Figura 5. Mediciones de cuernos uterinos en vacas Holstein con y sin endometritis subclínica, evaluadas mediante ultrasonografía en tiempo real. Se muestran las medias y los errores estándar de la media. *; representa diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$). 74

Figura 6. Porcentaje de irrigación de cuernos uterinos de vacas Holstein con y sin endometritis subclínica, evaluadas mediante ultrasonografía Doppler color y poder. Se muestran las medias y los errores estándar de la media. *; representa diferencias estadísticas significativas entre número de partos ($P<0.05$). 75

Figura 7. Presencia de líquido en los cuernos uterinos de vacas Holstein con y sin endometritis subclínica. Se muestran las medias y los errores estándar de la media. *; representa diferencias estadísticas significativas entre número de partos ($P<0.05$). 77

1.- Prólogo

La presente tesis contiene tres capítulos producto de los resultados de la investigación realizada. El primer capítulo corresponde a una sección general con introducción, antecedentes, justificación, hipótesis, objetivo general y específicos, y bibliografía. En el segundo capítulo se encuentra el artículo publicado en la revista *Veterinary and Animal Science* en formato electrónico (<https://doi.org/10.1016/j.vas.2024.100422>). En esta publicación se presentan el trabajo y análisis para el primer objetivo específico, que fue conocer los factores de riesgo para la presentación de endometritis subclínica (ESC) en sistemas de producción de leche de baja escala. El tercer capítulo contiene los resultados y la discusión de los trabajos realizados para responder al segundo objetivo específico, que fue determinar la eficacia diagnóstica de la ultrasonografía en tiempo real y Doppler para ESC. Por último, el cuarto capítulo contiene las conclusiones generales del estudio.

2.- Capítulo 1: Introducción, antecedentes, justificación, hipótesis, objetivo general y específicos, y referencias.

2.1.-Introducción

La leche es el alimento más completo que se puede encontrar en la naturaleza, se ha descrito que un consumo moderado en niños y adultos es necesario para mantener una buena salud (Abedini *et al.*, 2014;). En el año 2019 se produjeron aproximadamente 675.6 millones de toneladas de leche a nivel mundial, donde el primer lugar en producción lo obtuvo la unión europea con 155,300 millones de toneladas (FAO, 2019). México ocupó el lugar número 8 con una producción cercana a los 12, 276 millones de litros. (SIAP, 2020). En México se identifican tres sistemas de producción de leche: el intensivo, el familiar y el de doble propósito. De ellos, el sistema familiar aporta cerca del 31 % de la producción nacional de leche (Montiel-Olguín *et al.*, 2025). Los sistemas de producción familiar en México son heterogéneos en aplicación de tecnologías y tamaños de hato, la mayoría utiliza animales de raza Holstein y suelen tener varias áreas de oportunidad en sus

procesos para mejorar su competitividad (Ruiz-López *et al.*, 2024). Para que los sistemas de producción de leche sean eficientes y rentables, deben integrar de manera ordenada y coordinada diferentes procesos para lograr un fin común, como la producción de leche. En referencia al proceso reproductivo, existen eventos que limitan el desempeño de las vacas y, en consecuencia, la eficiencia y la productividad (Robichaud y Dubuc, 2014). Las infecciones del tracto reproductivo en el posparto temprano son frecuentes y causan pérdidas económicas importantes a la industria lechera, ya que disminuyen la fertilidad, aumentan los días abiertos, incrementan los servicios por concepción y aumentan la tasa de desecho en los establos lecheros (Barajas-Merchán *et al.*, 2018). La endometritis subclínica (ESC) es una condición inflamatoria que no presenta signos clínicos, pero que puede afectar significativamente el desempeño reproductivo (Sheldon *et al.*, 2006). En sistemas intensivos, entre los días 40 al 60 posparto se ha reportado una prevalencia de entre el 35 y 40 % (Sheldon *et al.*, 2009). En los sistemas de producción a baja escala esta condición pudiera ser mayor debido a las limitaciones en recursos diagnósticos y estrategias de manejo reproductivo (FAO, 2018). Existen algunos factores que han sido asociados a la aparición de la endometritis clínica entre ellos se encuentran; los partos distócicos, partos gemelares, retención de membranas fetales, abortos y enfermedades metabólicas en el posparto temprano (Cheong *et al.*, 2011; Le Blanc *et al.*, 2002). Sin embargo, no se han reportado factores para endometritis subclínica. En los sistemas de producción de leche a baja escala estos factores pudieran estar asociados o verse exacerbados debido a las deficiencias en infraestructura, capacitación técnica y por falta de servicios veterinarios especializados. El diagnóstico de ESC representa un gran desafío, debido a que a pesar de existir un proceso inflamatorio no se manifiestan signos clínicos como las secreciones vaginales, la pirexia, anorexia o decaimiento. En la actualidad la citología endometrial es el método diagnóstico de referencia, sin embargo, su aplicación en campo es compleja por la necesidad de herramientas de laboratorio y personal altamente capacitado (Kasimanickam *et al.*, 2004). En este sentido, la ultrasonografía ha emergido como una alternativa práctica no invasiva para diagnosticar ESC. Algunos trabajos donde han evaluado algunos parámetros

uterinos y la presencia de exudado han demostrado que el uso de la ultrasonografía en tiempo real es eficaz para el diagnóstico de endometritis clínica, sin embargo, no así para la subclínica (Ghinther *et al.*, 2007). Actualmente los ultrasonidos cuentan con la herramienta Doppler, que permite detectar cambios en la circulación sanguínea, pudiendo detectar procesos inflamatorios, ayudando al diagnóstico de la ESC en campo (Yáñez *et al.*, 2022b); sin embargo, esto aún se debe evaluar y validar su factibilidad. A pesar de que la endometritis subclínica causa pérdidas económicas importantes en sistemas intensivos de producción, en sistemas de producción de leche a baja escala no se han definido su prevalencia ni los factores de riesgo que pueden aumentar la prevalencia de la enfermedad. Además, no se cuenta con herramientas diagnósticas de campo para que se pueda identificar de manera oportuna la enfermedad, por lo que el presente estudio se desarrolló para conocer la prevalencia de ESC en los animales en estudio, identificar factores de riesgo para esta patología uterina y evaluar la ultrasonografía como una herramienta no invasiva para diagnosticar esta enfermedad.

2.2.-Antecedentes

2.2.1.- Contexto internacional y nacional de producción de leche.

La leche de bovino es un alimento con alto valor nutricional, contiene agua, azúcares, grasas, proteínas, vitaminas y minerales. Se considera el alimento más completo que existe en la naturaleza (Pereira, 2014). Diversos estudios han mostrado que existen beneficios a la salud cuando se tiene un consumo moderado de lácteos (Abedini *et al.*, 2014; Da Silva & Rudkowska, 2014; Kratz *et al.*, 2013). En el año 2019 se produjeron aproximadamente 675.6 millones de toneladas de leche a nivel mundial, donde el primer lugar en producción lo obtuvo la unión europea con 155,300 millones de toneladas (FAO, 2019). México ocupó el lugar número 8 con una producción cercana a los 12,276 millones de litros, lo cual nos indica un crecimiento cercano al 2.2% en relación con el año 2018 (SIAP, 2020). En la última década la producción de leche en México ha tenido una tasa media anual de crecimiento de 1.4% (FIRA, 2019). Jalisco es el principal estado productor de leche en el país, con 2.4 mil millones de litros y una participación nacional del 20.3%,

en segundo lugar está el estado de Coahuila con 1.3 mil millones de litros y una participación de 11.3%, en tercero está Durango con 1.2 mil millones de litros y 10.2% de la producción nacional, en cuarto lugar Chihuahua con 1.1 mil millones de litros y 9.4% de la producción nacional y en quinto lugar se encuentra el estado de Guanajuato con 850 millones de toneladas con el 7.1% de participación en la producción nacional. En estos cinco estados se produce más del 50% de la producción nacional de leche (SIAP, 2019).

2.2.2.- Sistemas de producción de leche en México.

La producción de leche de bovino en México es una actividad heterogénea desde el punto de vista tecnológico, agroecológico y socioeconómico (Vera *et al.*, 2009) y es la principal fuente de ingresos de un gran número de familias dedicadas a su producción. Se pueden distinguir tres sistemas de producción: intensivo, semi-tecnificado/familiar y de doble propósito. El sistema intensivo se caracteriza por tener grandes inversiones en su infraestructura y tecnificación en los sistemas de ordeño y manejo del ganado, tiene altos costos de insumos, de alimentación y mantenimiento de los sistemas de ordeño. El ganado es de raza Holstein con bastante trabajo en mejoramiento genético, principalmente con inseminación artificial con toros probados. Su alimentación es a base de ensilados principalmente de maíz, paja (alfalfa) y concentrado. La producción se mantiene constante porque su alimentación y manejo es igual en todas las épocas del año, solamente se ve influenciada por cambios de clima (Núñez *et al.*, 2009). El sistema semi-tecnificado/familiar es el más común en la zona de los altos de Jalisco, lo favorece el clima templado, cuenta con mano de obra familiar y el manejo reproductivo se da por monta natural o inseminación artificial y en este caso no siempre se selecciona la mejor opción de semental para las características de este sistema. Se maneja al ganado semi-estabulado para poder aprovechar los recursos forrajeros de la zona principalmente durante la época de lluvias, su producción es mayor en épocas de lluvia por la disponibilidad de forraje en esta época (Vera *et al.*, 2009). El sistema doble propósito es característico de las zonas tropicales, hay mayor cantidad de forraje lo que les permite tener pastoreo todo el año, siendo la base principal de su

alimentación. Generalmente las razas utilizadas en los sistemas doble propósito son híbridas, haciendo cruzamientos por monta natural, las principales cruza se realizan entre ganado *Bos indicus* y *Bos taurus*, lo que permite la producción carne-leche (Román *et al.*, 2009).

2.2.3.- Proceso reproductivo en establos lecheros

Para que los sistemas de producción de leche sean eficientes y rentables, deben integrar de manera ordenada y coordinada diferentes procesos para lograr un fin común, en este caso la producción de leche. Los procesos que podemos identificar en los sistemas de producción de leche son el administrativo; alimentación; producción de forrajes; crianza de reemplazos, ordeño; salud y reproductivo (Vera *et al.*, 2009). El objetivo del proceso reproductivo es asegurar un flujo adecuado de vacas y vaquillas en inicio de lactación, las cuales sean capaces de concebir en un tiempo post-parto acorde a los requerimientos del sistema y mantener la gestación hasta término para contribuir a la máxima expresión del potencial individual de producción de leche y crías (De la Sota *et al.*, 2014; Le Blanc *et al.*, 2002; Vera *et al.*, 2009). La meta ideal para un establo lechero es obtener un parto por vaca por año, similar a lo que se busca en el sistema vaca cría (Villagómez *et al.*, 2018); sin embargo, en los sistemas de producción de leche esto se vuelve complicado porque existen múltiples factores que alejan a los animales de esa meta (Arana *et al.*, 2008). Según el departamento de agricultura de los Estados Unidos los problemas reproductivos en los establos lecheros son la principal causa de desecho de vientres con casi un 26.7 %, seguido de problemas de mastitis con el 25.5% y la baja producción con el 22.4% (USDA, 2018). Por lo anterior, es de gran importancia que en el manejo reproductivo se puedan identificar factores de riesgo y prevenir lo antes posible que las vacas presenten una afección reproductiva que comprometa su desempeño, afectando la productividad y rentabilidad (Montiel-Olguín *et al.*, 2018; Sheldon *et al.*, 2009).

2.2.4.- El periodo de transición de la vaca lechera.

El posparto temprano (primeros 10 días después del parto) es crítico para la vaca lechera ya que durante este periodo experimenta cambios agudos en su metabolismo, la demanda de nutrientes aumenta en medida que aumenta su producción láctea, situación que la mayoría de las veces genera un balance energético negativo, provocando descompensaciones y afecciones en diferentes sistemas de la vaca (Duque, 2011), como el sistema reproductivo causando problemas en su desempeño (Sheldon *et al.*, 2009).

2.2.5.- Principales parámetros reproductivos en ganado lechero.

Para que los sistemas de producción sean rentables deben de tener parámetros reproductivos adecuados, se sugiere que los días abiertos estén cerca 110 días posparto, que se mantenga una tasa de concepción entre 40 y 50%, una tasa de retención de membranas fetales menor al 7% y una tasa de abortos menor al 5% (Vera *et al.*, 2009); sin embargo, estos parámetros varían de acuerdo con el sistema de producción y son diferentes en la práctica. Por ejemplo, en sistemas de producción de leche intensivos es común encontrar más de 135 días abiertos en promedio (USDA, 2018), en sistemas semi-tecnificados/familiares en el estado de Jalisco se encuentran establos con rangos que van desde los 119 hasta los 139 días abiertos (Mariscal *et al.*, 2016). Por lo anterior, es importante identificar los factores que afecten de manera negativa el desempeño reproductivo en las vacas. Se debe tener en cuenta el sistema de producción, ya que existen diferencias en los manejos de cada sistema y no se puede extrapolar la información que se encuentra disponible para cada uno de ellos (Montiel-Olguín *et al.*, 2018).

2.2.6.- Enfermedades uterinas posparto en el ganado lechero.

En el aparato reproductor de la vaca suele encontrarse una carga de microorganismos de manera habitual sin que estos lleguen a presentar una infección, pero cuando se incrementa la carga microbiana, se adosan y colonizan la mucosa, penetrando los epitelios donde liberan toxinas causando la enfermedad uterina (Janeway *et al.*, 2001). El desarrollo de la enfermedad dependerá de la capacidad del sistema inmune de cada animal para hacer frente a la invasión bacteriana,

además de la especie y cantidad del agente infeccioso (Sheldon *et al.*, 2004). La aparición de enfermedades uterinas es frecuente en los sistemas de producción de leche de bovino y aunque estas enfermedades no suelen ser mortales se asocian con baja rentabilidad del hato (Lima *et al.*, 2013). Se ha descrito que las pérdidas económicas por conceptos de pérdida de leche, aumento de días abiertos y en general un pobre desempeño reproductivo puede llegar a costar hasta 231 euros por vaca enferma (Inchaisri *et al.*, 2010). Se conoce que las bacterias se pueden encontrar en el aparato reproductor desde la primera hasta la quinta semana posparto (Sheldon *et al.*, 2006). Algunos de los patógenos que causan las afecciones son; *Arcanobacterium pyogenes*, *Prevotella spp*, *Fusobacterium necrophorum*, y *Escherichia coli* (Sheldon *et al.*, 2009). En general podemos definir las afecciones del aparato reproductivo en función del lugar de la inflamación, para esto debemos recordar las capas que contiene. El útero consta de tres capas al corte transversal, la mucosa-submucosa o endometrio, la muscular o miometrio y la serosa o perimetrio (Dellmann & Brown, 1994).

2.2.7.- Metritis y endometritis en ganado lechero.

Las enfermedades más comunes que se presentan en el posparto temprano son la metritis y la endometritis (Le Blanc *et al.*, 2002). Es importante mencionar que metritis y endometritis son afecciones diferentes; en el caso de metritis todas las capas de la pared uterina muestran signos de inflamación como el edema, degeneración endometrial y la infiltración de leucocitos. Durante esta afección los animales pueden presentar pirexia, anorexia y letargo, se pueden observar descargas uterinas purulentas y fétidas (Sheldon *et al.*, 2006). La endometritis es la inflamación de la superficie del endometrio y no afecta a zonas más profundas del tracto reproductor. En esta enfermedad podemos encontrar su manifestación clínica, donde los animales no muestran signos sistémicos como la pirexia, pero, si se puede apreciar descargas uterinas con presencia de pus, en menor grado que la metritis (Sheldon *et al.*, 2009). En la afección subclínica la vaca no muestra signos sistémicos ni descargas uterinas purulentas, sin embargo, existe la infiltración de

neutrófilos polimorfonucleares que ocasiona fallas reproductivas que pueden provocar un pobre desempeño reproductivo (Lima *et al.*, 2013).

2.2.8.- Diagnóstico de endometritis clínica en ganado lechero.

Para identificar la presencia o ausencia de la endometritis clínica se ha desarrollado una técnica que consiste en evaluar el desecho uterino y categorizarlo del 0 al 3. 0 es cuando se obtiene un moco vaginal transparente; 1 cuando el moco o desecho contiene muy pocos restos de pus o el moco se encuentra turbio; 2 cuando el moco contiene pus en menos de la mitad de lo obtenido en la evaluación, generalmente suele ser blanquecino o mucopurulento; 3 cuando el moco presenta más de la mitad de material purulento o sanguinolento y es fétido (Sheldon *et al.*, 2009).

2.2.9.- Tratamientos en endometritis clínica.

Los tratamientos farmacológicos que se utilizan para endometritis clínica son el uso de diferentes antibióticos por vía sistémica o por vía intrauterina mediante infusiones, también se utilizan hormonales como las prostaglandinas, se pueden utilizar de manera independiente o combinados (Lima *et al.*, 2013; Salasel & Mokhtari, 2011). Sin embargo, estos tratamientos no han mostrado resultados favorables en el desempeño reproductivo de la vaca (Galvão *et al.*, 2008). Por lo tanto, se han estado desarrollando tratamientos que eviten el uso de antibióticos para no causar la resistencia microbiana, y ofrezcan un mejor desempeño reproductivo después de utilizarlos. Algunos de los tratamientos alternativos que se han probado es el uso de soluciones salinas ozonificadas, infusiones con soluciones hipertónicas como la dextrosa, infusiones con restos de microorganismos, el uso de antiinflamatorios u hormonales (Đuričić *et al.*, 2014; Malinowski *et al.*, 2011; Maquivar *et al.*, 2014; Morales *et al.*, 2016; Pascottini & Opsomer, 2017; Wang *et al.*, 2018). Los tratamientos para endometritis subclínica (ESC) son los mismos que se utilizan para la endometritis clínica; sin embargo, enfatizar que la ser una afección mediada por una respuesta inmune exacerbada, el uso de antibióticos, hormonas o

tratamientos no convencionales, parecen no tener un efecto favorable sobre esta afección (González, 2019).

2.2.10.- Diagnóstico de endometritis subclínica.

El diagnóstico de ESC es un reto, ya que al no mostrar signos que se pueden identificar a simple vista, no presentar afecciones sistémicas ni desechos uterinos que puedan ser apreciados dificulta su identificación (Pascottini & Opsomer, 2017; Sheldon *et al.*, 2009). Se tuvieron que desarrollar técnicas para obtener muestras uterinas y estimar el porcentaje de células polimorfonucleares infiltradas en el endometrio. Las muestras se obtienen a través de lavados uterinos con bajo volumen de solución salina (Gilbert *et al.*, 2005), por biopsias uterinas (Madoz *et al.*, 2014), raspados endometriales con cepillos especiales como el Citobrush (Kasimanickam *et al.*, 2005), por medio de ultrasonografía (Kasimanickam *et al.*, 2004) y la evaluación de las concentraciones de sustancias proinflamatorias en sangre (Ghasemia *et al.*, 2012). Estas técnicas son complicadas de realizar, costosas y requieren de entrenamiento del personal que las realiza. Sin embargo, es necesario realizarlas para identificar cuáles animales presentan dicha afección y dar un tratamiento o manejo para revertirlo ya que mientras el animal esté afectado, su desempeño reproductivo estará comprometido y se vuelve improductivo (Robichaud & Dubuc, 2014).

2.2.11.- Factores de riesgo para que se presenten afecciones uterinas.

Se debe de revisar de manera puntual los factores que puedan incrementar la presencia de la enfermedad, al conocer estos factores de riesgo se deben hacer manejos para evitar la aparición de estas enfermedades. Existen algunos factores que predisponen a que se incremente la incidencia de metritis y endometritis clínica, por ejemplo: partos distócicos, partos gemelares, retención de membranas fetales, abortos y enfermedades metabólicas en el posparto temprano por mencionar algunas (Cheong *et al.*, 2011). En sistemas de producción de baja escala se han identificado factores de riesgo para bajo desempeño reproductivo, mas no se han

identificado factores específicos para la endometritis subclínica (Montiel-Olguín *et al.*, 2018). Es necesario hacer un análisis a detalle y revisar los manejos antes, durante y después de parto de sistemas de producción a baja escala para identificar los manejos que pudieran estar aumentando la probabilidad de desarrollar la ESC.

2.2.12.- Prevalencia de enfermedades uterinas en sistemas de producción de leche intensivos.

En los sistemas de producción de leche intensivos, se ha descrito una prevalencia de metritis cercana al 40% entre los días 10 y 14 días posparto, esta afección presenta signos clínicos como las descargas uterinas con pus, fétidas y fiebre. Entre los días 20 y 40 posparto se ha reportado que ceca del 20% de las vacas presentan afecciones de endometritis clínica, en esta afección se pueden encontrar descargas con pus, pero sin pirexia. De los días 40 al 60 posparto se presenta una prevalencia de entre el 35 y 40 % de endometritis subclínica (Sheldon *et al.*, 2009). La prevalencia de endometritis subclínica en vacas lecheras de la región central de México es del 43 % entre los días 35 y 45 posparto, lo cual provocó una disminución de 11.4 % en la tasa de concepción en el primer servicio y 13.7 % en la tasa acumulada de gestaciones en el día 120 posparto (Barajas-Merchán *et al.*, 2018).

2-2.13.-Uso de ultrasonografía Doppler en la evaluación del aparato reproductor en bovinos.

El efecto Doppler es el efecto físico que explica el cambio de frecuencia en una onda cuando hay un movimiento entre la fuente emisora y el receptor. Existen varios tipos de ultrasonografía Doppler, entre ellos encontramos el Color y el Poder. El Doppler color calcula la velocidad media del flujo sanguíneo, el color que se obtiene indica la dirección del flujo y cuanto más brillante sea, es mayor su velocidad. El Doppler Poder tiene una mayor sensibilidad que el color lo que permite evaluar vasos de menor diámetro o con flujo lento (Henao-González *et al.*, 2023). Entonces, la ultrasonografía Doppler es una herramienta que permite evaluar la funcionalidad del tracto reproductivo, con la combinación de la ultrasonografía en tiempo real y el Doppler nos permite visualizar la irrigación en útero y ovarios (De la Sota *et al.*,

2025). Mientras el modo B o tiempo real nos proporciona imágenes que permiten medir las estructuras anatómicas como el cérvix, los cuernos u ovarios, el Doppler evalúa parámetros hemodinámicos como la velocidad, la dirección y la resistencia del flujo sanguíneo. Esto permite evaluar cuando existe una alteración en la circulación como en un proceso inflamatorio, como consecuencia de las sustancias proinflamatorias que tienen efectos hemodinámicos, provocando una mayor irrigación en los tejidos afectados (Yáñez *et al.*, 2022), lo que puede ocurrir con la ESC. Estudios previos han demostrado que las vacas positivas a ESC presentan un flujo sanguíneo alterado, con un aumento en la resistencia vascular, afectando la funcionalidad endometrial y la sobrevivencia embrionaria (Henao-González *et al.*, 2023), El uso de la herramienta Doppler puede revelar la congestión vascular lo que sugiere un endometrio inflamado (Yáñez *et al.*, 2022).

2.3.- Justificación

La endometritis subclínica es una enfermedad que afecta el desempeño reproductivo y disminuye la productividad de los hatos lecheros. Sin embargo, no se conoce su impacto en sistemas de producción de baja escala y no se tienen identificados los factores de riesgo que puedan aumentar su presentación. Además, no se cuenta con una herramienta diagnóstica no invasiva que se pueda usar a nivel de establo para hacer de manera más rápida y amigable el diagnóstico de esta patología uterina.

2.4.- Hipótesis

- Existen factores de riesgo que incrementan la presentación de endometritis subclínica durante el puerperio en vacas dentro de unidades de producción familiar de pequeña escala. Asimismo, que es factible el uso de ultrasonografía del tracto reproductivo en tiempo real y Doppler como herramienta diagnóstica no invasiva para endometritis subclínica.

2.5.- Objetivos

2.5.1. General

Identificar factores de riesgo para endometritis subclínica en vacas del sistema familiar de producción de leche de pequeña escala y evaluar un método diagnóstico no invasivo para esta condición patológica.

2.5.2. Específicos

- Identificar los principales factores de riesgo para la presentación de endometritis subclínica en vacas del sistema familiar de producción de leche.
- Determinar la eficacia diagnóstica de la ultrasonografía en tiempo real y Doppler para la detección de endometritis subclínica.

2.6.- Referencias bibliográficas.

- Abedini, M., Falahi, E., Roosta, S. 2014. Dairy product consumption and the metabolic syndrome. *Diab Met Syndr: Clin Res Rev.* 84: 110-119.
- Arana, D., Echevarría, C. L., Segura, J. C., 2008. Factores que afectan el intervalo parto-primer servicio y primer servicio-concepción en vacas lecheras del valle del Mantaro durante la época lluviosa. *Rev InvVet Perú.* 17: 108-113.
- Barajas Merchan J.L.; Hernández Cerón, J.; García A. A.; Martínez Bárcenas E.; Juárez López N. O.; Bedolla Alva M. A.; Luzbel de la Sota R. 2018. Endometritis subclínica y tasa de gestación en vacas lecheras en México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 9(1), 135-146. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v9i1.4324>
- Cheong, H. S., Nydam, V. D., Galvão, N. K., Crosier, M. B., and Gilbert, O. R. 2011. Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 94: 762–770.
- Da Silva, M. S., & Rudkowska, I. 2014. Dairy products on metabolic health: current research and clinical implications. *Maturitas*, 77(3), 221–228. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2013.12.007>
- De la Sota, R. L., Madoz, L. V., Jaureguiberry, M., Domínguez, G., Migliorisi, A. L., Albarracín, D., Alvarez, E. 2014. Endometritis subclínica en vacas de tambo: diagnóstico, prevalencia e impacto sobre la eficiencia reproductiva. *Asociación Peruana de Reproducción animal. Spermova.* 4: 105 – 111.
- Dellmann, H. D., Brown, E. 1994. Sistema Reproductor Femenino. *Histología Veterinaria.* Editorial Acribia.
- Duque, Q. M., Olivera, M., Rosero, N. R. 2011. Protected fat supplementation and energy metabolism in cows during early lactation. *Revista Colombiana Ciencia Pecuaria*; 24: 74-82.

- Đuričić, D., Lipar, M., and Samardžija, M. 2014. Ozone treatment of metritis and endometritis in Holstein cows. 84: 103-110.
- FIRA. 2019. Panorama Agroalimentario Leche y lácteos. https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2020/Atlas-Agroalimentario-2020
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2019. Dirección de estadística. Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database (FAOSTAT). <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QI>
- Galvão, K. N., Greco, F. L., Vilela, J. M., Sá Filho, F. M., and Santos, P. E. J. 2008. Effect of intrauterine infusion of ceftiofur on uterine health and fertility in dairy cows. J. Dairy Sci 92: 1532–1542.
- Ghasemia, F., Gonzalez, C. P., Griebelb, P. J., Palmera, C. 2012. Proinflammatory cytokine gene expression in endometrial cytobrush samples harvested from cows with and without subclinical endometritis. Theriogenology 78: 1538 – 1547.
- Gilbert, R.O.; Shin, S.T.; Guard, C.L.; Erb, H.N.; Frajblat, M. 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. Theriogenology 64:1879–88. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2005.04.022
- Ginther, O. J. 2007. Ultrasonic imaging and animal reproduction: Color-Doppler ultrasonography. Wisconsin (Estados Unidos), Cross Plains. Equiservices Publishing ISBN 0–9640–0728–2. <https://vetbooks.ir/ultrasonic-imaging-and-animal-reproductioncolor-doppler-ultrasonography-book-4/>
- González, A. J. B. 2019. Efecto de la solución salina ozonizada sobre la migración de neutrófilos polimorfonucleares en el útero y la endometritis subclínica. Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Ciencias Naturales. Maestría en salud y producción animal sustentable. Tesis de maestría.
- Henao-Gonzalez, M., Ferrer, M. S., Jiménez-Escobar, C., Palacio-Baena, L. G., & Maldonado-Estrada, J. G. 2023. Ultrasonographic screening of dairy cows

- with normal uterine involution or developing postpartum uterine disease using B-Mode, Color, and Spectral Doppler. *Veterinary Medicine International*, 2023, 2597332.
- Inchaisria, C.; Jorritsmaa, R.; Vosa, M.A.L.P.; Van der Weijdena, C.G.; Hogeveen, H. 2010. Economic consequences of reproductive performance in dairy cattle. *Theriogenology* 74: 835– 846. doi: 10.1016/j.theriogenology.2010.04.008
- Janeway Jr CA., Travers P., Walport M., Shlomchik MJ. 2001 Infectious agents and how they cause disease. In: *Immunobiology: the immune system in health and disease*. New York: Garland Publishing, p. 382–388.
- Kasimanickam, R.; Duffield, T.F.; Foster, R.A.; Gartley, C.J.; Leslie, K.E.; Walton, J.S.; Johnson, W. H. 2005. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *The Canadian Veterinary Journal*. 46(3), 255. PMID: PMC1082871
- Kasimanickam, R.; Duffield, T.F.; Foster, R.A.; Gartley, C.J.; Leslie, K.E.; Walton, J.S.; Johnson, W.H. 2004 Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in post-partum dairy cows. *Theriogenology*. 62: 9-23. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2003.03.001
- Kratz, M., Baars, T., Guyenet, S. 2013. The relationship between high-fat dairy consumption and obesity, cardiovascular, and metabolic disease. *Eur J Nutr* 52: 1–24.
- Le Blanc, S. J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Bateman, K. G., Keefe, G. P., Walton, J. S., Johnson, W. H. 2002. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci* 85: 2223- 2236.
- Lima, F. S., Bisinotto, R. S., Ribeiro, E. S., Greco, L., Ayres, H., Favoreto, M. G., Carvalho, M. R. 2013. Effects of 1 or 2 treatments with prostaglandin F2 α on

- subclinical endometritis and fertility in lactating dairy cows inseminated by timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 96: 6480–6488.
- Madoz, L.V.; Giulliodori, M.J.; Migliorisi, A.L.; Jaureguiberry, M.; De la Sota, R. L. 2014. Endometrial cytology, biopsy, and bacteriology for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *J Dairy Sci* 97: 195-201.
- Malinowski, E., Lassa, H., Markiewicz, H., Kaptur, M., Nadolny, M., Niewitecki, W, Zieitara, J. 2011. Sensitivity to antibiotics of *Arcanobacterium pyogenes* and *Escherichia coli* from the uteri of cows with metritis/endometritis. *The Veterinary Journal* 187: 234–238.
- Maquivar, G. M., Barragan, A. A., Velez, J. S. 2014. Bothe H and Schuenemann M G. Effect of intrauterine dextrose on reproductive performance of lactating dairy cows diagnosed with purulent vaginal discharge under certified organic management. *J. Dairy Sci.* 98: 3876–3886.
- Mariscal, A. V., Pacheco, C. A., Estrella, Q. H., Huerta, B. M., Rangel, S. R., Núñez, D. R. 2016. Indicadores reproductivos de vacas lecheras en agroempresas con diferente nivel tecnológico en los Altos de Jalisco. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo* 13: 493-507.
- Montiel, O. L. J., Estrada, C. E., Espinosa, M. M. A., Mellado, B. M., Hernández, V. J. O., Martínez, T. G., Hernández, A. L., Hernández, O. R., Alvarado, I. A., Ruiz L. F., Vera, A. H. R. 2018. Factores de riesgo a nivel de establo asociados con el desempeño reproductivo en el sistema de producción de leche a pequeña escala en México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 10: 676-691
- Montiel-Olguín, L. J., Ruiz-López, F. de J., Gómez-Rosales, S., Cantó-Alarcón, G. J., Estrada-Cortés, E., & Vera-Ávila, H. R. 2025. Comparison of different models to describe the lactation curve of Holstein cows in a small-scale dairy system. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. <https://doi.org/10.3897/ejfa.2025.129407>

- Morales, N. G. J., Silva, B. R. P., Mendonça, G. D. L., Scanavez, A. A., Silva, C. C. J., and Chebel, C. R. 2016. Effects of intrauterine infusion of *Escherichia coli* lipopolysaccharide on uterine health, resolution of purulent vaginal discharge, and reproductive performance of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100: 4772–478.
- Núñez, H.G.; Díaz, A.E.; Espinosa, G.J.A.; Ortega, R.L.; Hernández, A.L.; Vera, A.H.R.; Román, P.H.; Medina, C.M.; Ruíz, L.F. J. 2009. Producción de leche de bovino en el sistema intensivo. Veracruz. Libro Técnico Num. 23. INIFAP. Centro de Investigación Regional Golfo Centro.https://redgatro.fmvz.unam.mx/assets/leche_sistemaintensivo.pdf
- Pascottini, B., and Opsomer, G. 2017. Diagnosis and treatment of postpartum uterine diseases in dairy cows: a review with emphasis on subclinical endometritis. *Compend. cienc. vet.* 7: 29 - 40
- Pereira P. C. 2014. Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*,30(6), 619–627. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.10.011>
- Robichaud, D. J., and Dubuc, J.2014. Determination of optimal diagnostic criteria for purulent vaginal discharge and cytological endometritis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98: 6848–6855.
- Román, P. H., Ortega, R. L., Hernández, A. L., Díaz, A. E., Espinosa, G. J. A., Núñez, H. G., Vera, Á. H. R., Medina, C. M., Ruíz, L. F. J. 2009. Producción de leche de bovino en el sistema de doble propósito. Veracruz. Libro Técnico Num. 22 INIFAP. Centro De Investigación Regional Golfo Centro.
- Ruiz-López, F. de J., Cortés-Hernández, J. G., Romano-Muñoz, J. L., Villaseñor-González, F., & García-Ruiz, A. 2024. Estudio de la Estructura y Diversidad genética de ganado Holstein del sistema familiar en México. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 15 (2), 249–266. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v15i2.6366>

- Salasel, B., and Mokhtarib, A. 2011. Effect of early postpartum PGF2 treatment on reproductive performance in dairy cows with calving and puerperal traits. *Theriogenology* 76: 1723–1729.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) 2020. Panorama de la lechería en México. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/panorama-de-la-lecheria-en-mexico>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2019. Anuario Estadístico de la Producción Ganadera. SAGARPA. México. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/panorama-de-la-lecheria-en-mexico>
- Sheldon, I. M., and Dobson, H. 2004. Postpartum uterine health in cattle. *Anim Reprod Sci* 83: 295–306.
- Sheldon, I. M., Lewis, G. S., Le Blanc, S., Gilbert, R. O. 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65: 1516–1530.
- Sheldon, I.M.; Cronin, J.; Goetze, L.; Donofrio, G.; and Schuberth, J. 2009. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol Reprod.* 81: 1025–1032. DOI: 10.1095/biolreprod.109.077370
- United States Department of Agriculture (USDA). 2018. Animal and Plant Health Inspection Service Veterinary Services National Animal Health Monitoring System Report 3 Dairy. Health and Management Practices on U.S. Dairy Operations. Table of Contents. https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy14/Dairy14_dr_PartIII.pdf
- Vera, Á. H. R., Hernández, A. L., Espinosa, G. J. A., Ortega, R. L., Díaz, A. E., Román, P. H., Núñez, H. G., Medina, C. M., Ruíz, L. F. J. 2009. Producción de leche de bovino en el sistema familiar. Veracruz. Libro Técnico Num. 24. INIFAP. Centro De Investigación Regional Golfo Centro.

- Villagómez, A. M. E., Martínez, A. M., Villaseñor, G. F., Nava, R. F. 2018. Manejo del ganado de carne en zonas tropicales del estado de México para mejorar el comportamiento reproductivo de la vaca. Folleto Técnico N°1. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Microbiología Animal. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- Wang, M. L., Liu, M. C., Xu, J., An, L. G., Wang, J. F., and Zhu, Y, H. 2018 Uterine Microbiota of Dairy Cows with Clinical and Subclinical Endometritis. *Front. Microbiol.* 9: 1- 11.
- Yáñez. U., Becerra J. J., Herradón, P. G., Peña, A. I., Quintela, L. A. 2022. Ecografía Doppler y su aplicación en reproducción bovina: revisión. *ITEA-Información Técnica Económica Agraria* 118(1): 82-100. <https://doi.org/10.12706/itea.2021.019>
- Yáñez U, Herradón P. G, Becerra J. J, Peña A. I, Quintela L. A. 2022 Relationship between Postpartum Metabolic Status and Subclinical Endometritis in Dairy Cattle. *Animals (Basel)*. Jan 20;12(3):242. doi: 10.3390/ani12030242. PMID: 35158566; PMCID: PMC8833644.

3. Capítulo 2: Risk factors for subclinical endometritis and its effect on reproductive performance in small-scale dairy farms.

Fernando Villaseñor-González, Luis Javier Montiel-Olguín, Mario Alfredo Espinosa-Martínez, Marina Durán-Aguilar, Feliciano Milian-Suazo, Héctor Raymundo Vera-Ávila.

Veterinary and Animal Science

<https://doi.org/10.1016/j.vas.2024.100422>

La publicación se encuentra en: <https://www.sciencedirect.com/journal/veterinary-and-animal-science/vol/27/suppl/C>

3.1 ABSTRACT

The study aimed to evaluate the effect of subclinical endometritis (SCE) on reproductive performance and identify risk factors for this pathology in small-scale dairies. In four small-scale dairies, 608 lactations were monitored for health issues, nutritional status, and reproductive events, and SCE was diagnosed based on endometrial polymorphonuclear counting (PMN%) at 30 ± 5 (SCE30) and 60 ± 5 (SCE60) days postpartum. The threshold for diagnosis was established according to the quartile distribution of PMN%; 4 % and 2 % for SCE30 and SCE60. Conception rate at first service (CRFS), number of services per conception (SC), and days open (DO) were analyzed for SCE effect through Chi-square or ANOVA. Events of interest were considered in each lactation to perform a risk factor analysis using univariate logistic regression and multiple logistic regression model building. The population attributable fraction was calculated to identify the most important risk factors. Considering both sampling periods, 40.5 % of the cows were positive for SCE. SCE30-positive cows had lower CRFS (38.9 vs 53.7 %), required 0.4 more SC, and had 20.2 more DO than SCE30-negative cows ($P \leq 0.001$). SCE60-positive cows had 16 more DO than SCE60-negative cows ($P \leq 0.01$). The most important risk factors for SCE30 were retained fetal membranes (RFM) and uterine diseases, while calving season, RFM, and SCE30 status were the risk factors for SCE60. SCE could represent a major problem in small-scale dairies due to its prevalence and negative effect on reproductive performance. Furthermore, there are identifiable risk factors for SCE under these production conditions, which should be considered when designing prevention strategies.

3.2 Introduction

Small-scale bovine milk production is crucial to global milk production (Hemme & Otte, 2010). In Mexico, this type of dairy contributes at least 30 % of the national annual output and holds significant social value, as it promotes local and regional development and supports population retention in their places of origin (Espinoza-Ortega *et al.*, 2005); Mariscal-Aguayo *et al.* (2017). It has been found that reproductive performance in small-scale dairies in Mexico is suboptimal, with

identified risk factors that represent potential control points for improving performance (Montiel-Olguín *et al.*, 2019). However, the impact of the postpartum uterine diseases, puerperal metritis, clinical metritis, clinical endometritis, and subclinical endometritis, on reproductive performance and profitability of small-scale dairies has not yet been determined. According to Sheldon *et al.* (2006), puerperal metritis is an acute systemic disease due to bacterial infection of the uterus, occurring during the first 2 weeks postpartum, and characterized by an enlarged uterus, a fetid red-brown watery uterine discharge, and fever $>39.5^{\circ}\text{C}$. The condition is classified as clinical metritis if systemic signs are absent. Clinical endometritis is characterized by the presence of purulent or mucopurulent uterine discharge, detectable in the vagina after 21 days postpartum in the absence of systemic signs. Subclinical endometritis, in turn, is defined as endometrial inflammation with an increased polymorphonuclear cell infiltration, and without an active bacterial infection or purulent material in the vagina. Small-scale bovine milk production faces challenges, including limited economic resources, restricted access to technology and technical advice (Montiel-Olguín *et al.*, 2019), and it has less intensive management than large-scale dairies. These conditions can aggravate the impact of uterine diseases, such as subclinical endometritis (SCE), which often goes unnoticed due to the absence of obvious clinical signs (Sheldon *et al.*, 2019). Inadequate detection and management of this disease can lead to lower conception rates, prolonged calving intervals, and decreased milk production, raising production costs (Barajas-Merchan *et al.*, 2018). In large-scale dairies, a high prevalence of SCE has been reported (Sheldon *et al.*, 2019), with important negative effects on reproductive performance (Barajas-Merchan *et al.*, 2018; Gilbert *et al.*, 2005). No studies have been done addressing the direct impact of SCE on dairy herd profitability, however, the negative effect of this pathology on reproductive efficiency makes it a relevant factor that could affect productivity (Inchaisri *et al.*, 2010). The causes of SCE are still under debate, including an unspecific infection of the uterus, or more probably, a decontrolled endometrial inflammatory response after a persistent bacterial infection (Wagener *et al.*, 2017). Negative energy balance, metabolic diseases, and uterine infections during the puerperium, as well as calving

assistance and retained fetal membranes, have been identified as risk factors for this pathology in large-scale dairies (Cheong *et al.*, 2011; Dubuc *et al.*, 2010; Wagener *et al.*, 2017; Yáñez *et al.*, 2022). In small-scale dairy herds in Mexico (Núñez *et al.*, 2009), the prevalence of SCE, its effects on reproductive efficiency, and the risk factors that increase its prevalence are unknown. Therefore, this study aimed to identify the rate of occurrence of SCE, assess the impact of this pathology on reproductive performance, and identify risk factors predisposing its development. These findings will serve as a basis for designing reproductive improvement programs to increase the productivity and profitability of small-scale dairies.

3.3.- Materials and methods

3.3.1.- Location and climatic conditions

The study was conducted from October 2021 to November 2023 on four dairy farms (112 to 180 cows per dairy) in the Los Altos dairy basin in the state of Jalisco, Mexico (20 ° 49 ' 01 " N, 102 ° 43 ' 59 " W, 1800 mas). The climate is sub-humid to temperate, with minimum and maximum temperatures of 4.2 C and 31.6 ° C, respectively. The average annual rainfall is 881 mm, with most precipitation from June to September (Ruiz *et al.*, 2012). The Los Altos region was selected because Jalisco is a leading milk-producing state in Mexico and because about two-thirds of the state's milk production relies on small-scale operations in this region. The farms were selected by convenience sampling looking for representativeness of typical characteristics of a small-scale dairy system (Espinoza-Ortega *et al.*, 2005). Small-scale dairies in the Los Altos region are between 10 and 150 cows in size, they are the main source of employment for family members and incorporate intermediate levels of technology (Montiel-Olguín *et al.*, 2019).

3.3.2.- Herd management and selection criteria

A total of 608 lactations (first to seventh) of Holstein cows from the four selected dairies were monitored during the experimental period. The minimum sample size was determined through a power test with an alfa error ≤ 0.05 , resulting in 450 lactations. The experimental cows were pre-selected when entering the dry period

and confirmed to stay in the study at 30 ± 5 postpartum days if they did not present clinical signs of illness at that time. If infectious or metabolic diseases occurred before the confirmation postpartum day the cows received conventional treatments until recovery or culling. Fifteen cows were culled between 30 ± 5 to 60 ± 5 postpartum days reducing the total to 593 lactations for statistical analysis. Mechanical milking was performed twice a day in herringbone parlors. Feed was offered twice a day, using total mixed rations consisting of 60 % corn silage and stubble and 40 % commercial concentrate for dairy cattle (88 % dry matter, 21 % crude protein, 12 % acid detergent fiber, 25 % neutral detergent fiber, and 1.8 Mcal/kg NEL). Vaccination programs for infectious diseases prevalent in the area are routinely applied. A voluntary waiting period of 60 days was used, and services were provided by fixed-time artificial insemination (AI) at 70 days postpartum after a double-ovsynch protocol. Pregnancy diagnosis was carried out by real-time ultrasonography at 45 days post- service.

3.3.3.- Diagnosis of subclinical endometritis

To determine the presence of SCE, cytological samples of uterine epithelium were collected in cows without clinical signs of illness at 30 ± 5 and 60 ± 5 days postpartum using the cytobrush technique. The cytobrush was screwed on a modified AI device for cows, with the brush protected by a disposable plastic catheter and plastic sleeve. Once inside the uterine body, the brush was exposed and rolled along the uterine wall. After this, the brush was drawn back into the AI device before being removed from the reproductive tract to prevent contamination. Outside the cow, the brush was removed from the AI device and a cytological imprint was made by rotating it on a microscope slide (Kasimanickam *et al.*, 2005). Thereafter the samples were fixed with alcohol and stored until stained and cell counted in the laboratory. The staining was done with a commercial dye (CAT 548 blood smear and bone marrow stain, Hy-cel®). Subsequently, by observation under the microscope at 400x magnification, the percentage of poly morphonuclear neutrophils (PMN) in a sample of 300 cells was determined, considering epithelial cells and PMN (Melcher *et al.*, 2014). The evaluation was conducted independently by two individuals, and if there was a

variation of >10 % between their determinations, the procedure was repeated. The percentage of PMN infiltration was calculated as the average of both measurements, with a sample considered positive for SCE if the percentage was equal to or greater than the third quartile limit obtained from the quartile distribution of the total observations: 4.0 % and 2.0 % infiltration for 30 (SCE30) and 60 (SCE60) days postpartum, respectively.

3.3.4.- Events of interest and reproductive performance

The herds included in the study were supervised twice a week by an experienced veterinarian who diagnosed metabolic and infectious diseases and prescribed correspondent treatments. The visiting veterinarian compiled all the information for the study's statistical analysis. The general management and registration of events were done by the herd owner. For all cows included in the study, events during the peri partum, puerperium, and service period were recorded, and specific events of interest were established to determine risk factors for SCE (Tables 2 and 3). For the same purpose, body condition score (BCS) was determined (Ferguson *et al.*, 1994) by the herd owner at dry-off, calving, and 30 and 60 days postpartum. The presence of metabolic (hypocalcemia and ketosis) and uterine infections (i.e., clinical metritis and endometritis) (Sheldon *et al.*, 2009), during the first 21 postpartum days was also registered. A cow was considered positive for hypocalcemia if she exhibited prostration, muscle tremors, a neck bent to one flank, and an inability to stand up (Arechiga-Flores *et al.*, 2022). Ketosis was diagnosed based on signs such as inappetence, acute loss of body condition, ketone-smelling breath, incoordination, and dry feces (Zhang & Ametaj, 2020). Cows diagnosed with these disorders were treated until recovery using conventional therapeutic protocols. Two calving seasons within the year were defined for statistical analysis: the rainy season, from June to October, and the dry season, from November to May. Two parity categories were also established: primiparous and multiparous (cows with two or more calving). The type of delivery was recorded as assisted when any help was required to extract the calf. Retained fetal membrane (RFM) was defined as when expulsion was not achieved in the first 12 h postpartum. The sex of the calf, occurrence of single or

twin births, and cases of abortion were also recorded. The factors of interest for 60 days were the same, with the addition of the presence or absence of SCE in the first sampling. Furthermore, the conception rate at first service (CRFS), number of services per conception (SC), and days open (DO) were calculated from the data recorded.

3.3.5.- Statistical analysis

All statistical analyses were performed with SAS version 9.4 (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA). The effects of SCE on SC and DO were determined through analysis of variance (ANOVA) for a completely randomized design on data transformed for normality using the inverse function. The appropriateness of the transformation was tested through the Shapiro-Wilk method. The effect of SCE on CRFS was determined through Chi-Square analysis. The level of statistical significance for ANOVA and Chi-Square analysis was set at $P < 0.05$. From these models, adjusted odd ratios, unbiased relative risks (Zhang & Yu, 1998), and population attributable fractions (PAF) (Lin & Chen, 2019) were calculated to identify the most important risk factors of SCE.

3.4.- Results

Based on the criteria established for classifying cows as SCE-positive, 10.3 % were positive at both 30 and 60 days postpartum ($n = 61$), 14.7 % were positive only at 30 days postpartum ($n = 87$), and 15.5 % were positive only at 60 days postpartum. Overall, 40.5 % of the cows were classified as SCE-positive. No significant differences were observed in the percentage of SCE-positive cows among the herds included in the study (36.7 to 43.9, $P > 0.05$). The effects of SCE30 and SCE60 on CRFS, SC, and DO are presented in Table 1. SCE30-positive cows had lower CRFS (38.9 % vs. 53.7 %, $P < 0.001$), required a higher number of SC (2.2 vs. 1.8 services, $P < 0.001$) and had a higher number of DO compared to negative cows (137 vs 117 days, $P < 0.001$). In contrast, SCE60-positive cows had CRFS and SC similar to negative cows (> 0.10) but had a higher number of DO (131 vs. 115 days, $P < 0.01$).

Tables 2 and 3 present selected events of interest and their effects on SCE30 and SCE60, respectively. For SCE30, parity, calving assistance (CA), abortion, RFM, metabolic disease during the first 30 days postpartum (MD30), and uterine disease during the first 30 days postpartum (UD30) were identified as events to be included in the multiple analysis. For SCE60, the selected events were calving season (CS), parity, CA, RFM, UD30, MD30, uterine disease between 31 and 60 days postpartum (UD31–60), and SCE30. Tables 4 and 5 present the logistic regression models that include the risk factors for SCE30 and SCE60 and their relative importance based on PAF. The risk factors identified for SCE30 were CA, RFM, UD30, and MD30. For SCE60, the risk factors were CS, RFM, UD31–60, and SCE30. According to the PAF, the factors with the greatest potential impact on the development of SCE were RFM and UD30 for SCE30, and CS, RFM, and SCE30 for SCE60.

3.5.- Discussion

This study is the first to investigate the SCE status of cows in a small-scale production system in Mexico utilizing a large sample size that makes the results robust. According to the criteria used and considering the samples taken at 30 and 60 days postpartum, 40.5 % of the cows were classified as SCE-positive. This prevalence is slightly lower than the 43 % reported between 35 and 45 days postpartum in intensive milk production systems in Mexico (Barajas-Merchan *et al.*, 2018) and higher than the 21 % and 32 % observed by Ochoa (2020) and Prunner *et al.* (2014), around day 30 postpartum in medium and small-scale dairy farms, respectively. In contrast, in grazing dairy cows, a prevalence of SCE of 17 % was found within a range of 21 to 62 days postpartum (Madoz *et al.*, 2013). The prevalence of SCE reported for cows in various studies is highly variable, ranging from 40 % (Barajas-Merchan *et al.*, 2018; Dubuc *et al.*, 2010; Lopdell *et al.*, 2011; Madoz *et al.*, 2014; Ochoa., 2020; Plontzke *et al.*, 2010; Kasimanickam *et al.*, 2004;). Among the factors proposed as determinants of this variability are the timing of postpartum sampling, the threshold PMN used to classify positive cases, and the production system. PMN endometrial infiltration decreases as the postpartum period progresses, regardless of whether SCE develops (Sheldon *et al.*, 2006; Wagener *et*

et al., 2017). Therefore, the threshold for PMN endometrial infiltration for SCE diagnosis is typically adjusted downward throughout the postpartum period (Madoz *et al.*, 2013; Wagener *et al.*, 2017). The threshold of PMN for SCE diagnosis and the criteria used to define it vary widely (Melcher *et al.*, 2014) indicating the absence of a universally accepted standard. The influence of herd management or production systems on the prevalence of SCE is supported by studies that have observed differences among herds (McDougall *et al.*, 2020; Prunner *et al.*, 2014). Herd-level risk factors have been identified that influence the prevalence of this pathology (Cheong *et al.*, 2011; Prunner *et al.*, 2014), with lower prevalence in pasture-based production systems than in confined intensive systems (Madoz *et al.*, 2014; Lopdell *et al.*, 2011). In our study, the production system of the experimental herds was considered small-scale (Núñez *et al.*, 2009), and there are no previous data related to SCE in this kind of herd. Thus, we chose to use the percentile distribution of endometrial PMN to diagnose SCE, as it reflects the condition of the experimental population. Additionally, because one of our objectives was to estimate the effect of ESC on reproductive performance, it was deemed inappropriate to use ROC curves for determining the diagnostic PMN threshold to avoid the circularity issue noted by McDougall *et al.* (2020) when using reproductive performance to diagnose SCE (ROC curve) and then evaluate the effect of SCE on reproductive performance (Barajas-Merchan *et al.*, 2018; Barlund *et al.*, 2008; Dubuc *et al.*, 2010; Madoz *et al.*, 2013; Kasimanickam *et al.*, 2004). Nearly 40 % of SCE30-positive cows were still considered positive at 60 days postpartum, a lower rate of spontaneous recovery than that observed by Lopdell *et al.* (2011) and Plontzke *et al.* (2010). These authors have observed significant decreases in SCE prevalence as the postpartum period progressed but did not adjust the PMN threshold at different postpartum times and worked with large-scale herds. In summary, the presence of SCE-positive cows in our study is comparable to that in large-scale dairies and is at a level that may pose a problem for reproductive and productive performance. SCE30-positive cows had lower CRFS, needed 0.4 times more SC, and had 20.2 more DO. Conversely, SCE60-positive cows showed no difference in CRFS or SC compared to negative cows but did have 16 more DO. In both cases, the average DO exceed the 110 to

120 days suggested as optimal for small-scale production systems in Mexico (Vera *et al.*, 2009), potentially affecting profitability (Inchaisri *et al.*, 2010). Other studies have also reported the negative effects of SCE on reproductive performance in both small (Barrio *et al.*, 2015; Plontzke *et al.*, 2010) and large-scale herds (Barajas-Merchan *et al.*, 2018; Barlund *et al.*, 2008; Gilbert *et al.*, 2005; Kasimanickam *et al.*, 2005). In our study, the negative effects on reproductive performance were more evident in the SCE30-positive cows than in the SCE60-positive group. The negative effects of SCE on reproductive performance might be evident in the short or medium term (Gilbert, 2011). If the medium-term effects are more significant, this could explain the greater negative effects on reproductive performance observed in SCE30-positive compared to SCE60-positive cows. The difference might also be related to the lower PMN infiltration threshold applied at 60 vs. 30 postpartum days ($\geq 2\%$ and $\geq 4\%$, respectively), suggesting that the threshold of PMN concentration required to exert negative effects is higher than our 60 postpartum threshold (Sheldon *et al.*, 2009). This observation, although speculative, underscores the need for standardized methods for SCE diagnosis. The occurrence of events considered in the risk factor analysis, such as abortion, CA, RFM, twin deliveries, UD, and MD, were 4 %, 8 %, 16 %, 1 %, 9 %, and 6 %, respectively (Tables 2 and 3), like findings by Montiel-Olguín *et al.* (2019) in small-scale dairy herds. The risk factors for SCE30 were CA, RFM, UD30, and MD30, while for SCE60, they were CS, RFM, UD31–60, and SCE30. Few studies have focused on identifying risk factors for SCE, and those that have often used different criteria for diagnosing this uterine pathology. However, conditions associated with negative energy balance (NEB) during the puerperium, such as low body condition at delivery, increased blood ketone bodies, and high milk production levels, have been identified as risk factors for SCE (Cheong *et al.*, 2011; Dubuc *et al.*, 2010; Yáñez *et al.*, 2022). The alteration in uterine immune function associated with NEB during postpartum (Wathes *et al.*, 2009) is considered a mediator that increases the prevalence of SCE. Our study did not find a relationship between low body condition during different reproductive stages and SCE (Tables 3 and 4), which could be related to the low production levels and the depth of NEB in cows in small-scale herds (Montiel-Olguín *et al.*, 2019). However, we found that

metabolic diseases during postpartum constitute a risk factor for SCE, similar to observations by other authors (Cheong *et al.*, 2011; Dubuc *et al.*, 2010; Yáñez *et al.*, 2022). Additionally, uterine infections have been identified as risk factors for SCE (Cheong *et al.*, 2011; Dubuc *et al.*, 2010), in agreement with our study. The relationship between these uterine pathologies and SCE seems to be associated with a persistent inflammatory condition that develops after the uterine infection (Sheldon *et al.*, 2006) rather than the persistence of an active bacterial infection (Madoz *et al.*, 2014; Prunner *et al.*, 2014). In the case of CA as a risk factor for SCE, injury to the uterine epithelium during obstetric procedures may facilitate the development of uterine infections and SCE (Cheong *et al.*, 2011; Dubuc *et al.*, 2010). Likewise, tissue damage can initiate an inflammatory response with PMN infiltration characteristic of SCE (Mohammed *et al.*, 2017) or generate a sequence of RFM (Montiel-Olguín *et al.*, 2019), uterine infection (Dubuc *et al.*, 2010; Han & Kim, 2005; T.J. Potter *et al.*, 2010;), and SCE. However, CA and RFM were not displaced from the model by UD during the multiple regression analysis, suggesting that their effect on SCE might be independent of UD. In the case of RFM, the altered immune status predisposing subjects to its presentation (Chebel, 2021) could be the mediator for increasing the risk of SCE. The risk factors for SCE60 were similar to those identified for SCE30, including SCE30. As previously mentioned, 40 % of SCE30-positive cows remained positive at 60 days postpartum, indicating a limited recovery rate that may explain the relationship between SCE30 and SCE60. The occurrence of calvings during the rainy season increased the probability of SCE60, through factors that are difficult to explain, but which might be related to a less sanitary environment increasing the risk of uterine contamination (Sheldon *et al.*, 2006). Other authors have not observed a relationship between CS and SCE (Prunner *et al.*, 2014), although they did not specify whether the seasons compared were related to the rainfall patterns. The magnitude of OR and RR for the identified risk factors partially indicates the degree of impact this risk factor has on SCE (Tables 4 and 5). However, this impact will also depend on the proportion of the risk factor in the population, a relationship that can be estimated by calculating the PAF. The PAF values in Tables 4 and 5 estimate the percentage of SCE cases that could be avoided if exposure to

the corresponding risk factor is eliminated (Llorca *et al.*, 2001). The highest PAF values for SCE30 were those corresponding to UD30 (0.24) and RFM (0.14), suggesting that prevention strategies for SCE30 should focus on reducing these risk factors. For SCE60, the strategy should aim to reduce RFM (PAF=0.10) and SCE30 (PAF=0.16). As to the effect of CS on SCE60 (PAF=0.22), an important issue should be to identify the specific factors mediating this effect before suggesting a correspondent prevention strategy. The study of SCE presents significant challenges, particularly due to the lack of a universal criterion for defining the PMN threshold and determining the optimal postpartum timing for sample collection. In this study, population-specific PMN thresholds were applied instead of standardized diagnostic criteria, and the analysis was restricted to two postpartum windows (30 and 60 days). These limitations may affect the comparability of the results with those of other studies. Additional limitations include the study's focus on a limited number of small-scale dairy farms within a specific region of Mexico, which restricts the generalizability of the findings to other regions or production systems. Moreover, critical factors such as milk production and its relationship to SCE were not evaluated, leaving a gap in understanding its influence on production efficiency. Despite these limitations, the findings of this study are consistent with results from other research and provide new evidence on potential risk factors for SCE. Continued research is essential, particularly within this production system and across a broader range of dairy farms, to validate these findings further and enhance our understanding of SCE and its management.

3.6.- Conclusions

The prevalence of subclinical endometritis is significant in small- scale dairy herds in Mexico and negatively impacts reproductive performance. The key cow-level risk factors for this condition that should be considered when developing preventive strategies include retention of fetal membranes and uterine infections. Additionally, due to the impact of the rainy season on the occurrence of subclinical endometritis, an important issue should be to identify the specific factors mediating this effect before suggesting a correspondent prevention strategy.

3.7.- References

Arechiga-Flores, C. F., Cortés-Vidauri, Z., Hernández-Briano, P., Lozano-Domínguez, R. R., López-Carlos, M. A., Macías-Cruz, U., et al. 2022. La hipocalcemia en la vaca lechera. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 13 (4), 1025–1054. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v13i4.5277>. Epub 11 de noviembre de 2022.

Barajas-Merchan, J. L., Hernández Cerón, J., García Alfonso, A., Martínez Bárcenas, E., Juárez López, N. O., Bedolla Alva, M. A., et al. 2018. Endometritis subclínica y tasa de gestación en vacas lecheras en México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 9 (1), 135–146. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v9i1.4324>

Barlund, C. S., Carruthers, T. D., Waldner, C. L., & Palmer, C. W. 2008. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology*, 69 (6), 714–723. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.12.005>

Barrio, M., Vigo, M., Quintela, L. A., Becerra, J. J., García-Herradón, P. J., Martínez-Bello, D., et al. 2015. Short communication: Influence of subclinical endometritis on the reproductive performance of dairy cows. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 13(4), e05SC02. <https://doi.org/10.5424/sjar/2015134-8129>

Chebel R.C. 2021. Predicting the risk of retained fetal membranes and metritis in dairy cows according to prepartum hemogram and immune and metabolic status. *Preventive Veterinary Medicine*, 187, 105204. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105204>.

Cheong, S. H., Nydam, D. V., Galvao, K. N., Crosier, B. M., & Gilbert, R. O. 2011. Cow- level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 94(2), 762–770. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3439>

Dubuc, J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Walton, J. S., & LeBlanc, S. J. 2010. Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93, 5225–5234. <http://doi.org/10.3168/jds.2010-3428>.

Espinoza-Ortega, A., Álvarez-Macías, A., del Valle, M. D., & Chauvete, M. 2005. La economía de los sistemas campesinos de producción de leche en el Estado de México. *Técnica Pecuaria en México*, 43(1), 39–56.

Ferguson, J. D., Galligan, D. T., & Thomsen, N. 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 77(9), 2695–2703. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77212-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77212-X)

Gilbert, R. O 2011. The effects of endometritis on the establishment of pregnancy in cattle. *Reproduction, Fertility, and Development*, 24(1), 252–257. <https://doi.org/10.1071/RD11915>

Gilbert, R. O., Shin, S. T., Guard, C. L., Erb, H. N., & Frajblat, M. 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 64(9), 1879–1888. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.04.022>

Han, I. K., & Kim, I. H. 2005. Risk factors for retained placenta and the effect of retained placenta on the occurrence of postpartum diseases and subsequent reproductive performance in dairy cows. *Journal of Veterinary Science*, 6(1), 53–59. PMID: 15785124.

Hemme, T., & Otte, J. 2010. Status and prospects for smallholder milk production: A global perspective. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (Chapter 2).

Inchaisri, C., Jorritsma, R., Vos, P. L., Van Der Weijden, G. C., & Hogeveen, H. 2010. Economic consequences of reproductive performance in dairy cattle. *Theriogenology*, 74(5), 835–846. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.04.00>

Kasimanickam, R., Duffield, T. F., Foster, R. A., Gartley, C. J., Leslie, K. E., Walton, J. S., et al. 2005. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, 46(3), 255–259. PMID: PMC1082871.

Kasimanickam, R., Duffield, T. F., Foster, R. A., Gartley, C. J., Leslie, K. E., Walton, J. S., et al. 2004. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 62(1–2), 9–23. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.03.001>

Lin, C. K., & Chen, S. T. 2019. Estimation and application of population attributable fraction in ecological studies. *Environmental Health: A Global Access Science Source*, 18 (1), 52. <https://doi.org/10.1186/s12940-019-0492-4>

Llorca J., Fariñas-Álvarez C., & Delgado-Rodríguez M. 2001. Fracción atribuible poblacional: Cálculo e interpretación, *Gaceta Sanitaria*, 15, 1, 61–67, ISSN 0213-9111, DOI:10.1016/S0213-9111(01)71519-1.

Lopdell, T., Berg, M. C., Green, M. P., & Back, P. J. 2011. Effect of sub-clinical uterine infection on plasma amino acid concentrations in early lactation dairy cows. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 71, 291–295. <https://www.nzsap.org/system/files/proceedings/2011/ab11066.pdf>.

Madoz, L. V., Giuliadori, M. J., Jaureguiberry, M., Plöntzke, J., Drillich, M., & de la Sota, R. L. 2013. The relationship between endometrial cytology during estrous cycle and cutoff points for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96(7), 4333–4339. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6269>

Madoz, L. V., Giuliadori, M. J., Migliorisi, A. L., Jaureguiberry, M., & de la Sota, R. L. 2014. Endometrial cytology, biopsy, and bacteriology for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 195–201. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6836>

Mariscal-Aguayo, V., Pacheco-Cervantes, A., Estrella-Quintero, H., Huerta-Bravo, M., Rangel-Santos, R., & Núñez-Domínguez, R. 2017. Estratificación de productores lecheros en los altos de Jalisco. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*, 14(4), 547–563. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-54722017000400547&lng=es&tlng=es.

McDougall, S., Aberdein, D., Bates, A., & Burke, C. R. 2020. Prevalence of endometritis diagnosed by vaginal discharge scoring or uterine cytology in dairy cows and herds. *Journal of Dairy Science*, 103(7), 6511–6521. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-18048>

Melcher, Y., Prunner, I., & Drillich, M. 2014. Degree of variation and reproducibility of different methods for the diagnosis of subclinical endometritis. *Theriogenology*, 82 (1), 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.03.003>

Mohammed, S., Aarti, K., Kalyan, A., Alhussien, M. N., Manjari, P., Yadav, M., et al. 2017. Fluctuation in the number, type and activity of blood neutrophils in cows exhibiting successful and unsuccessful completion of gestation cycle. *Biological Rhythm Research*, 48(6), 855–865. <https://doi.org/10.1080/09291016.2017.1311984>

Montiel-Olguín, L. J., Estrada-Cortés, E., Espinosa-Martínez, M. A., Mellado, M., Hernández-Vélez, J. O., Martínez-Trejo, G., et al. 2019. Risk factors associated with reproductive performance in small-scale dairy farms in Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 51(1), 229–236. <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1681-9>

Núñez, H. G., Díaz, A. E., Espinosa, G. J. A., Ortega, R. L., Hernández, A. L., Vera, A. H. R., et al. 2009. Producción de leche de bovino en el sistema intensivo. Veracruz. libro técnico num. 23. INIFAP. (Capítulo 1), 2009. Centro de Investigación Regional Golfo Centro. https://redgatro.fmvz.unam.mx/assets/leche_sistemaintensivo.pdf.

Ochoa, A.R.L. 2020. Prevalencia de endometritis subclínica en vacas Holstein Friesian mestizas en el montano alto de la provincial del Cañar. Universidad Nacional de Cordoba. Tesis para obtener el grado de Maestro en reproducción bovina. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Instituto de reproducción animal Córdoba. Argentina 2020. <https://iracbiogen.com/wp-content/uploads/2021/06/>

Plöntzke, J., Madoz, L. V., De la Sota, R. L., Drillich, M., & Heuwieser, W. 2010. Subclinical endometritis and its impact on reproductive performance in grazing dairy cattle in Argentina. *Animal Reproduction Science*, 122(1–2), 52–57. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.07.006>

Potter, T. J., Guitian, J., Fishwick, J., Gordon, P. J., & Sheldon, I. M. 2010. Risk factors for clinical endometritis in postpartum dairy cattle. *Theriogenology*, 74, 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.01.023>

Prunner, I., Wagener, K., Pothmann, H., Ehling-Schulz, M., & Drillich, M. 2014. Risk factors for uterine diseases on small- and medium-sized dairy farms determined by clinical, bacteriological, and cytological examinations. *Theriogenology*, 82(6), 857–865. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.06.015>

Ruiz, C. J. A., Flores, L. H. E., Regalado, R. J. R., & Ramírez, O. G. 2012. Estadísticas climáticas normales del estado de Jalisco. libro técnico núm. 2. INIFAP-CIRPAC-Campo experimental centro altos de jalisco, 2012 pp. 350–352). Jalisco: Tepatitlán de Morelos.

Sheldon, I. M., Lewis, G. S., LeBlanc, S., & Gilbert, R. O. 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65(8), 1516–1530. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.08.021>

Sheldon, I. M., Cronin, J., Goetze, L., Donofrio, G., & Schuberth, H. J. 2009. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biology of Reproduction*, 81(6), 1025–1032. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.077370>

Sheldon, I. M., Cronin, J. G., & Bromfield, J. J. 2019. Tolerance and Innate Immunity Shape the Development of Postpartum Uterine Disease and the Impact of Endometritis in Dairy Cattle. *Annual Review of Animal Biosciences*, 7, 361–384.

<https://doi.org/10.1146/annurev-animal-020518-115227>

Vera, Á. H. R., Hernández, A. L., Espinosa, G. J. A., Ortega, R. L., Díaz, A. E., Román, P. H. 2009. Producción de leche de bovino en el sistema familiar. Veracruz. libro técnico num. 24. INIFAP. (Capítulo 1). Centro De Investigación Regional Golfo Centro.

Wagener, K., Gabler, C., & Drillich, M. 2017. A review of the ongoing discussion about definition, diagnosis and pathomechanism of subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology*, 94, 21–30.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.02.005>

Wathes, D. C., Cheng, Z., Chowdhury, W., Fenwick, M. A., Fitzpatrick, R., Morris, D. G., et al. 2009. Negative energy balance alters global gene expression and immune responses in the uterus of postpartum dairy cows. *Physiological Genomics*, 39(1), 1–13. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00064.2009>

Yáñez, U., Herradón, P. G., Becerra, J. J., Peña, A. I., & Quintela, L. A. 2022. Relationship between postpartum metabolic status and subclinical endometritis in dairy cattle. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 12(3), 242. <https://doi.org/10.3390/ani12030242>

Zhang, G., & Ametaj, B. N. 2020. Ketosis an Old Story Under a New Approach. *Diary*, 1 (1), 42–60. <https://doi.org/10.3390/dairy1010005> Zhang, J., & Yu, K. F. (1998). What's the relative risk? A method of correcting the odds ratio in cohort studies of common outcomes. *JAMA*, 280(19), 1690–1691. <https://doi.org/10.1001/jama.280.19.1690>

Table 1. Reproductive performance in cows negative or positive for subclinical endometritis at 30 and 60 days postpartum.

SCE diagnosis	Reproductive	Indicator	
	Conception rate at first service % (95% C.I.)	Services for conception mean $\pm$ sd	Days Open mean $\pm$ sd
Negative to SCE30 (n=454)	53.7 (49.5-57.6)	1.8 $\pm$ 0.05	117.1 $\pm$ 5.3
Positive to SCE30 (n=154)	38.9 (34.8-42.7)	2.2 $\pm$ 0.10	137.3 $\pm$ 5.3
P	<0.001	<0.001	<0.001
Negative to SCE60 (n=440)	51.5 (47.3-55.5)	1.8 $\pm$ 0.05	115 $\pm$ 2.7
Positive to SCE60 (n=153)	47.0 (42.9-51.1)	2.0 $\pm$ 0.10	131 $\pm$ 4.1
P	0.33	0.24	<0.01

SCE, subclinical endometritis; 95% C.I., 95% confidence interval; P, probability value; sd, standard error of the mean.

Table 2 (A). Events of interest and their effect on subclinical endometritis at 30 days postpartum (ESC30).

Event of interest or potential risk factor	SCE30 positive cows % (95% C.I)	P
BCS at dry-off		
BCS ≤2.75	27.9 (20.9-34.9)	0.36
BCS >2.75	24.3 (20.1-28.4)	
BCS at calving		
BCS ≤2.75	27.8 (21.0 – 34.6)	0.34
BCS >2.75	24.2 (20.0 – 28.4)	
BCS at 30 d post calving		
BCS ≤2.75	25.8 (21.7 – 29.6)	0.54
BCS >2.75	22.7 (13.4 – 32.0)	
Calving season		
Rain (Jun–Oct)	25.9 (20.5 – 31.3)	0.76
Dry (Nov–May)	24.8 (20.0 – 29.6)	
Parity		
Multiparous	21.4 (16.1 – 26.7)	0.07
Primiparous	27.9 (23.2 – 32.7)	
Calving assistance		
Yes	57.1 (42.2 – 72.0)	<.0001
No	21.3 (17.8 – 24.9)	

BSC, body condition score; RFM, retained fetal membranes; C.I., 95% confidence interval; P, probability value.

Table 2 (B) continued. Events of interest and their effect on subclinical endometritis at 30 days postpartum (ESC30).

Event of interest or potential risk factor	SCE30 positive cows % (95% C.I)	P
Abortion		
Yes	46.1 (25.0 – 67.2)	0.01
No	24.4 (20.8 – 27.9)	
RFM		
Yes	52.0 (41.7 – 62.2)	<.0001
No	20.0 (16.4 – 23.6)	
Calf sex		
Female	24.0 (19.2 – 28.7)	0.56
Male	26.1 (20.5 – 31.6)	
Twin birth		
Yes	40.0 (5.2 – 85.3)	0.45
No	25.2 (21.6 – 28.7)	
Uterine disease in the first 30 d postpartum		
Yes	91.4 (81.0 – 97.1)	<.0001
No	18.3 (15.0 – 21.6)	
Metabolic disease in the first 30 d postpartum		
Yes	47.4 (30.1 – 64.5)	<0.001
No	23.9 (20.2 – 27.4)	

BSC, body condition score; RFM, retained fetal membranes; C.I., 95% confidence interval; P, probability value.

Table 3 (A). Events of interest and their effect on subclinical endometritis at 60 days postpartum (ESC60).

Event of interest or potential risk factor	SCE60 positive cows % (95% C.I)	P
BCS at dry-off		
BCS ≤2.75	26.8 (19.7 – 33.7)	0.73
BCS >2.75	25.9 (21.1 – 29.6)	
BCS at calving		
BCS ≤2.75	27.9 (21.0 – 34.7)	0.43
BCS >2.75	24.9 (20.05 – 29.1)	
BCS at 30 d post calving		
BCS ≤2.75	25.6 (21.7 – 29.5)	0.88
BCS >2.75	26.4 (16.5 – 36.2)	
BCS at 60 d post calving		
BCS ≤2.75	25.9 (22.0 – 29.7)	0.77
BCS >2.75	24.3 (13.5 – 35.0)	
Calving season		
Rain (Jun–Oct)	31.5 (27.5 – 39.3)	<0.001
Dry (Nov–May)	19.7 (15.2 – 24.1)	
Parity		
Multiparous	21.6 (16.2 – 26.9)	0.05
Primiparous	28.7 (23.8 – 33.6)	

BSC, body condition score; RFM, retained fetal membranes; C.I., 95% confidence interval; P, probability value.

Table 3 (B) continued. Events of interest and their effect on subclinical endometritis at 60 days postpartum (ESC60).

Event of interest or potential risk factor	SCE60 positive cows % (95% C.I)	P
Calving assistance		
Yes	45.8 (30.6 – 60.9)	0.002
No	24.2 (20.4 – 28.0)	
Abortion		
Yes	19.2 (6.5 – 39.3)	0.43
No	26.1 (22.3 – 29.8)	
RFM		
Yes	42.2 (31.9 – 52.6)	<0.001
No	22.5 (18.6 – 26.3)	
Calf sex		
Female	26.9 (21.9 – 32.0)	0.45
Male	24.21 (18.7 – 29.6)	
Twin birth		
Yes	40.0 (5.2 – 85.3)	0.47
No	25.7 (22.0 – 29.2)	
Uterine disease in the first 30 d postpartum		
Yes	53.6 (39.6 – 67.5)	<0.001
No	22.9 (19.2 – 26.5)	

BSC, body condition score; RFM, retained fetal membranes; C.I., 95% confidence interval; P, probability value.

Table 3 (C) continued. Events of interest and their effect on subclinical endometritis at 60 days postpartum (ESC60).

Event of interest or potential risk factor	SCE60 positive cows % (95% C.I)	P
Metabolic disease in the first 30 d postpartum		
Yes	43.2 (25.9 – 60.5)	0.001
No	24.6 (20.9 – 28.3)	
Subclinical Endometritis at 30 d postpartum		
Yes	41.2 (32.9 – 49.4)	<0.001
No	20.6 (16.7 – 24.5)	
Uterine disease between 31 to 60 d postpartum		
Yes	86.4 (65.0 – 97.0)	<0.001
No	23.5 (19.9 – 27.0)	
Metabolic disease between 31 to 60 d postpartum		
Yes	40.0 (5.2 – 85.3)	0.46
No	25.6 (22.0 – 29.2)	

BSC, body condition score; RFM, retained fetal membranes; C.I., 95% confidence interval; P, probability value.

Table 4. Logistic regression model for association between risk factors and subclinical endometritis at 30 days postpartum.

Risk Factor	Comparison	OR	OR 95% C.I.	RR	RR 95% C.I.	Pe	Pe 95% C.I.	PAF
Calving assistance	Yes vs. No	2.4	1.1–5.3	1.9	1.1–2.9	0.08	0.06–0.10	0.06
RFM	Yes vs. No	2.6	1.3–4.9	2.0	1.3–3.0	0.16	0.13–0.19	0.14
Uterine disease in the first 30 d postpartum	Yes vs. No	46.0	17.5–120.7	4.6	4.1–4.8	0.09	0.07–0.11	0.24
Metabolic disease in the first 30 d postpartum	Yes vs. No	3.4	1.6–7.2	3.6	1.5–4.0	0.06	0.04–0.08	0.08

RFM, retained fetal membranes; OR, adjusted odd ratio; 95% C.I., 95% confidence interval; RR, unbiased relative risk; Pe, proportion of cows exposed to each risk factor; PAF, population attributable fraction; The P value for retention in the model was ≤ 0.10 .

Table 5. Logistic regression model for association between risk factors and subclinical endometritis at 60 days postpartum.

Risk Factor	Comparison	OR	OR 95% C.I.	RR	RR 95% C.I.	Pe	Pe 95% C.I.	PAF
Calving season	Rain vs. dry	2.1	1.4–3.1	1.8	1.3–2.4	0.44	0.40–0.48	0.22
RFM	Yes vs. No	2.0	1.2–3.3	1.7	1.2–2.4	0.16	0.13–0.19	0.10
Uterine disease between 31 to 60 d postpartum	Yes vs. No	15.8	4.4–56.5	3.7	2.5–4.3	0.04	0.02–0.06	0.07
Subclinical endometritis at 30 d postpartum	Yes vs. No	2.1	1.3–3.3	1.8	1.3–2.4	0.25	0.21–0.28	0.16

RFM, retained fetal membrane; OR, adjusted odd ratio; 95% C.I., 95% confidence interval; RR, unbiased relative risk; Pe, proportion of cows exposed to each risk factor; PAF, population attributable fraction; The P value for retention in the model was ≤ 0.10 .

- **4.- Capítulo 3:** Determinación de la eficacia diagnóstica de la ultrasonografía en tiempo real y Doppler para la detección de endometritis subclínica.

4.1 Introducción

La endometritis subclínica, como enfermedad uterina del puerperio, presenta una prevalencia elevada en hatos bovinos lecheros y representa un factor de importancia que afecta el desempeño reproductivo y la rentabilidad (Barajas-Merchan *et al.*, 2018; Sheldon *et al.*, 2019). Los métodos de diagnóstico para esta patología, se basan en la determinación del grado de infiltración endometrial de células polimorfonucleares a partir de lavados uterinos, raspados endometriales o biopsias de la pared uterina (Wagener *et al.*, 2017), lo que los hace imprácticos para su uso extensivo a nivel de establo.

Los diferentes componentes del tracto reproductor de la vaca desempeñan un rol importante en la fisiología reproductiva, desde la ovulación hasta la adhesión embrionaria. La evaluación anatómica con técnicas como la palpación rectal, la ultrasonografía en tiempo real y Doppler ayuda a identificar variaciones morfológicas funcionales que están asociadas a la presencia de enfermedades, como pudiera ser el caso de la ESC. Es necesario y de suma importancia que ocurra la involución uterina en tiempo y forma para que se recupere la actividad ovárica y lograr un buen desempeño reproductivo. Se ha reportado que fallos en la involución uterina pueden retrasar el reinicio de la actividad ovárica y por ende afecta de manera negativa el desempeño reproductivo (baja fertilidad, aumento de servicios por concepción y aumento de días abiertos). Existen múltiples factores que pueden retrasar la involución uterina, pero entre los más relevantes, encontramos las enfermedades uterinas, la condición corporal (Domínguez *et al.*, 2008) y el número de partos (Rekwot *et al.*, 2000). Aunque este último factor es controversial, ya que algunos estudios muestran efecto y otros no (Tanaka *et al.*, 2008). Las vacas con mayor número de partos tienen el tracto reproductivo de mayor tamaño por lo que se han descrito algunos mecanismos por los cuales este mayor tamaño pudiera disminuir su fertilidad (Martin *et al.*, 2022). Independientemente de la edad, se ha reportado que las vacas positivas a ESC tienen ligeramente aumentado el tamaño del útero, con paredes más gruesas y la posible presencia de líquido en la luz uterina indicativo de exudado inflamatorio, en contraste con las vacas negativas con

paredes más delgadas, uniformes y sin líquido en la luz uterina (Báez *et al.*, 2016). Con las medidas de ultrasonografía, podemos observar que en general las vacas positivas a ESC presentan estructuras anatómicas ligeramente más grandes, esta condición se puede explicar por un retraso en el puerperio, ya que, al estar afectado el endometrio, retrasa volver a su tamaño habitual, además de que la evaluación del desempeño reproductivo sugiere que también existe un retraso en la reconstitución tisular funcional (Kasimanickman *et al.*, 2004). El tracto reproductor de las vacas sufre cambios importantes en función del número de partos que ha tenido, por ejemplo, el cérvix crece y cambia su forma con los partos, el útero se expande de manera significativa para alojar al producto, y aunque durante el puerperio experimenta una involución se ha reportado que los partos pueden influir en la velocidad de involución, teniendo como consecuencias cuernos de mayor tamaño en vacas con mayor número de partos (Báez *et al.*, 2016). En general en cada parto se esperarían variaciones en el tamaño de estructuras como el cérvix, los cuernos uterinos y que esto ocasione una falla en la función reproductiva lo que implica poner atención en la gestión y cuidado de la salud reproductiva de las vacas. En un estudio se analizó la relación que existe entre el tamaño de los cuernos uterinos con el número de partos y su relación con la fertilidad, mostrando que las vacas multíparas tuvieron mayor volumen uterino vs primíparas; además, se observó una asociación negativa entre el tamaño del útero y la tasa de concepción. En general, vacas con úteros más grandes tuvieron una menor fertilidad, esto se lo atribuyen a que con el incremento de tamaño del útero se presenta una disminución de la elasticidad y el tono muscular del miometrio, lo que tendría consecuencias en la involución uterina retrasando el puerperio y el reinicio de la actividad ovulatoria (Báez *et al.*, 2016). Sin embargo, contrastando con estos resultados otro estudio donde se evaluó también la paridad y la raza, no se observó un efecto del número de partos sobre la cantidad de servicios por concepción, ni los días abiertos (Corea-Guillen *et al.*, 2008). Otros estudios han categorizado vacas en función de la posición de los cuernos uterinos y cérvix en la cavidad pélvica o abdominal, donde se clasifica con un valor de uno cuando el cérvix y los cuernos están en la cavidad pélvica, dos cuando el cérvix está en la pelvis, pero los cuernos están en la cavidad abdominal y tres cuando ambas

estructuras anatómicas están en la cavidad abdominal (Madureira *et al.*, 2020; Young *et al.*, 2017). En estos estudios se ha demostrado que aquellas vacas que muestran categorías uno y dos presentan mejor desempeño reproductivo que las de categoría tres. Aunque hay una tendencia a que vacas con mayor número de partos califiquen en categoría tres, también animales jóvenes con pocos partos pueden caer en esta categoría, lo que sugiere que el tamaño del útero también debe ser incluido en un programa de mejoramiento genético para tener vacas con tractos más pequeños y mejorar su fertilidad (Martin *et al.*, 2022).

La ultrasonografía Doppler ha emergido como una herramienta prometedora en la valoración funcional del aparato reproductor en bovinos, con la ventaja de que es una técnica no invasiva. En estudios previos con el uso del Doppler se pudo evaluar la función lútea en base al grado de irrigación de esta estructura y se concluyó que se pueden hacer diagnósticos de gestación más precoces (18-21 días post-servicio), con una confiabilidad bastante alta. En otro estudio se reporta la aplicación del Doppler para mejorar la tasa de producción *in vitro* de embriones, utilizando esta herramienta, previo a la recolección *in vivo* de ovocitos (*ovum pick up*, OPU). Se observó que, a mayor irrigación ovárica, estimada mediante la ultrasonografía Doppler, se aumentaba la producción *in vitro* de blastocitos (Villaseñor *et al.*, 2021). Al determinar el grado de irrigación de un tejido, la ultrasonografía Doppler podría identificar incrementos en ésta asociados a procesos inflamatorios como ocurre en la metritis y endometritis clínica. La endometritis subclínica, como un proceso inflamatorio crónico (Sheldon *et al.*, 2006), podría a su vez provocar cambios en el patrón de irrigación uterina detectables a través de la ultrasonografía Doppler, sin embargo, esto aún no se ha evaluado.

Derivado de lo anterior, el objetivo de este trabajo fue el de determinar la eficacia diagnóstica de la ultrasonografía en tiempo real y Doppler para la detección de endometritis subclínica.

4.2. Materiales y métodos.

4.2.1 Ubicación

El estudio se realizó entre octubre de 2021 y noviembre de 2023 en cuatro establos de la cuenca lechera de los Altos en el estado de Jalisco, en el municipio de Tepatitlán de Morelos, seleccionadas por un criterio de conveniencia y con características del sistema de lechería familiar (Núñez *et al.*, 2009). La zona donde se encuentran los establos se localiza entre los 20 y 21° de latitud norte y los 102° de longitud oeste, con un rango de altitud de 1522 a 1850 metros sobre el nivel del mar. El clima es de subhúmedo a templado, con temperaturas mínimas de 4.2°C y máximas de 31.6°C. La media de precipitación pluvial es de 881 mm, concentrados en los meses de junio a septiembre (Flores *et al.*, 2012).

4.2.2 Selección y manejo general de establos.

Se trabajó en 4 establos característicos del sistema semi-tecnificado/familiar (Núñez *et al.*, 2009), con un rango entre 70 y 120 vacas en producción de la raza Holstein; se obtuvo la información de 608 lactaciones. Las vacas se alojaron en corrales techados con lamina o plástico con zonas de descanso común y echaderos individuales en tres de ellos. La alimentación de las vacas se basa en mezclas con forrajes y concentrados comerciales (con un 88% de materia seca, 21% de proteína cruda, 12% de fibra detergente ácido, 25 de fibra detergente neutra y 1.8 Mcal/kg de ENL). En todos los establos se ofrecen raciones mezcladas totales dos veces al día. Todas las unidades de producción cuentan con calendarios de vacunación contra complejo abortivo, brucelosis, clostridiasis y ántrax. Las vacas que presentaron enfermedades metabólicas o reproductivas en el posparto recibieron tratamientos convencionales por parte de los veterinarios encargados en cada establo, y esta información fue recabada por nuestro equipo de trabajo. Las vacas que mostraron signos de enfermedades uterinas en los días de muestreo fueron excluidas del estudio.

4.2.3 Diagnóstico de Endometritis subclínica

Para determinar si la vaca presentó o no endometritis subclínica se tomaron muestras citológicas de epitelio uterino a los 25-35 días posparto mediante la

técnica de Citobrush (González, 2019). Se utilizó un aplicador de inseminación artificial que fue modificado en un taller de torno. Al embolo de un aplicador de inseminación artificial se le hizo rosca en la parte que presiona las pajillas, la fracción con rosca fue de medio centímetro. A los cepillos Citobrush se les realizó un corte en una parte para que quedaran aproximadamente de 10 centímetros de longitud y con una broca pequeña se hizo una pequeña abertura donde posteriormente se introducirá el aplicador con la rosca. Una vez ensamblado el cepillo se colocó una funda para inseminación artificial donde se protegió el cepillo de contaminación vaginal ocultándolo dentro del estilete. Ya armado, se colocó una camisa sanitaria la cual se rompió una vez que el aplicador se encontraba dentro del cuerpo del útero. Antes de introducir el aplicador se limpió con agua el área perivulvar, con la ayuda de una persona se abrieron los labios vulvares y se introdujo el aplicador modificado en un ángulo de 45° durante los primeros 10 centímetros, posteriormente se colocó en posición horizontal hasta llegar al cérvix. El cérvix fue atravesado tal y como se hace cuando se realiza una inseminación artificial siempre manipulándolo de manera gentil. Una vez que la punta del aplicador llegó hasta el cuerpo del útero, se rompió la camisa sanitaria y se presionó el embolo del aplicador para exponer el Citobrush, en este lugar se giró el embolo tres ocasiones en dirección de las manecillas del reloj. Se volvió a introducir el cepillo en el aplicador retrayendo el embolo para evitar contaminación durante su trayecto hacia el exterior. A partir de estas muestras se realizaron improntas en portaobjetos, que se fijaron y tiñeron mediante una tinción comercial (hemocolorante rápido para tinción de frotis sanguíneo y médula ósea CAT 548, Hycel®). Posteriormente, por observación a 400 X, se determinó el porcentaje de células polimorfonucleares (PMN) en una muestra de 300 células, considerando células epiteliales y PMN (Melcher *et al.*, 2014). La determinación se hizo de manera independiente por dos personas y, en caso de haber una variación mayor al 10 % entre estas determinaciones, se repitió el procedimiento. El porcentaje de infiltración de PMN se obtuvo como el promedio de las dos determinaciones, considerando como positiva una muestra cuando el porcentaje era igual o mayor al límite del tercer cuartil, obtenido a partir de la distribución por cuartiles del total de observaciones; 4.0 %.

4.2.4 Ultrasonografía dual en el diagnóstico de endometritis subclínica.

En paralelo a la obtención de muestras para citología endometrial se realizó una exploración ultrasonográfica del aparato reproductor con una sonda lineal de 7.5 MHz Doppler (Chison 3 Expert®). Lo anterior, para revisar la presencia de líquido y obtener mediciones del diámetro del cérvix y cuernos uterinos. Para medir el cérvix se colocó la sonda en la parte media del cérvix, para los cuernos uterinos las mediciones se realizaron a una pulgada después de la bifurcación, utilizando el promedio de ambos cuernos como medida para el análisis estadístico. En el mismo sitio se tomó una imagen con la herramienta Doppler color y Doppler poder hasta obtener una imagen sin ruido ocasionado por el movimiento del sujeto experimental. El Doppler color convierte las ondas sonoras en diferentes colores que representan la velocidad y dirección del flujo sanguíneo (Mohammed *et al.*, 2024). Mientras que el Doppler poder muestra la energía de amplitud del flujo sanguíneo, pero no la dirección ni la velocidad. El Doppler poder es más sensible que el Doppler color para detectar el flujo sanguíneo, incluso en vasos sanguíneos más pequeños y con circulación más lenta (Henao-González *et al.*, 2023). Todas las imágenes fueron guardadas en la memoria del ultrasonido, para su posterior medición y determinación del porcentaje de irrigación. La medición se realizó con las herramientas incluidas en el equipo de ultrasonido donde se accedió a la imagen guardada y se determinó su diámetro, área y perímetro por un mismo técnico. Las imágenes que se obtuvieron con la herramienta Doppler color y poder, fueron analizadas con un software de procesamiento de imagen (Image J) que permite estimar el porcentaje de irrigación del útero a través de los cambios de coloración. Primero se calibró el software con una imagen real del ultrasonido para determinar su escala, cada imagen se recortó para limpiar las zonas que no eran de interés, se procedió a calcular su porcentaje de área con toda la imagen transformada a un código binario (todo negro), posteriormente se realizó el mismo procedimiento, pero ahora se calculó en blanco las zonas que previamente estaban en color azul, rojo o naranja por la herramienta Doppler. Se volvía a calcular el área total menos el área irrigada para obtener el porcentaje de irrigación en cada imagen ($\% \text{irrigación} = \text{área}$

irrigadax100/área total) Este procedimiento se repitió en las imágenes que se obtuvieron con Doppler color y Doppler poder a 30 días postparto en promedio. Una vez que se obtuvo el porcentaje de irrigación y las medidas anatómicas de cérvix y cuernos uterinos, se realizaron análisis de varianza para determinar el efecto la endometritis subclínica sobre estas variables. Asimismo, se hicieron análisis de curvas ROC para estimar la sensibilidad y especificidad de estas variables para identificar a los animales positivos y negativos a ESC. Como prueba de oro diagnóstica se usó el porcentaje umbral de infiltración endometrial de células PMN, correspondiente al valor máximo del tercer cuartil, considerando la distribución de este porcentaje en la muestra experimental.

4.2.5 Análisis de información.

Los análisis estadísticos se realizaron mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS 9.4. Se realizó un análisis de varianza para evaluar las diferencias de medidas anatómicas en relación con el número de partos, para determinar si el análisis final consideraba la inclusión de todas las observaciones o se separaban por número de partos. Para validar la utilidad de la ultrasonografía en el diagnóstico de endometritis subclínica se realizaron análisis de varianza para cada una de las mediciones obtenidas por ultrasonografía, considerando como variable independiente a la presencia o ausencia de endometritis clínica (citología endometrial). Asimismo, las mediciones obtenidas por ultrasonografía se analizaron mediante curvas ROC con el software SPSS 25 para identificar a posibles predictores de la endometritis subclínica. Para hacer la evaluación de frecuencias entre vacas positivas y negativas con presencia o ausencia del líquido se utilizó el procedimiento de Chi2 del paquete estadístico SAS 9.4.

4.3 Resultados y discusión.

En el estudio quedaron incluidas vacas con uno a siete partos y como el número de parto puede tener efecto sobre las dimensiones del aparato reproductivo

consideradas como variables de respuesta, se realizó un análisis de varianza para ver si éstas eran afectadas por el número de parto. El número de parto solo tuvo un efecto menor en algunas de las variables en estudio, sin que a su vez se detectara una relación lineal entre este factor y las mediciones consideradas. Debido a lo anterior, no se hizo algún tipo de ajuste o segmentación de los análisis por número de parto. Asimismo, no encontramos una diferencia importante entre primíparas y multíparas, posiblemente porque en su mayoría los animales experimentales fueron animales con pocos partos (promedio 1.8 partos).

En las figuras 1 a 3 se encuentran los resultados de las diferentes medidas anatómicas del tracto reproductivo y porcentajes de irrigación por el efecto de número de partos. En el caso de mediciones de cérvix (Figura 1), en nuestro estudio se encontró un diámetro promedio de 3.21 cm a los 30-35 días posparto para primíparas y multíparas y en un estudio en vacas Holstein de China fue de 3.5 cm, también considerando primíparas y multíparas (Zhang *et al.*, 2010).

El promedio de diámetro de los cuernos uterinos (Figura 2) en nuestro estudio fue de 2.99 cm a los 30-35 días posparto de manera similar a lo reportado por Zhang *et al.* (2010) en donde encontraron valores entre 2.8 y 2.9 cm, para primíparas y multíparas. Estos hallazgos refuerzan la conclusión de que las diferencias entre paridades son mínimas para esas mediciones y que no es necesario segmentar por paridad para hacer el análisis de estas variables de respuesta (Zhang *et al.*, 2010).

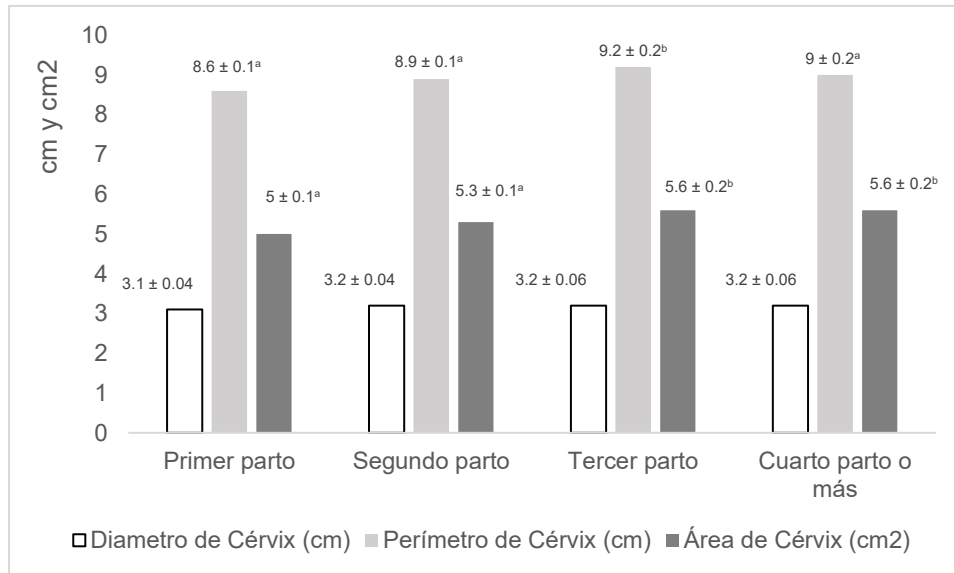


Figura 1. Mediciones de cérvix en vacas Holstein con diferente número de parto, evaluadas mediante ultrasonografía en tiempo real. Se muestran las medias y los errores estándar de la media. ^{a,b} Diferentes literales representa diferencias estadísticas significativas entre número de partos ($P < 0.05$).

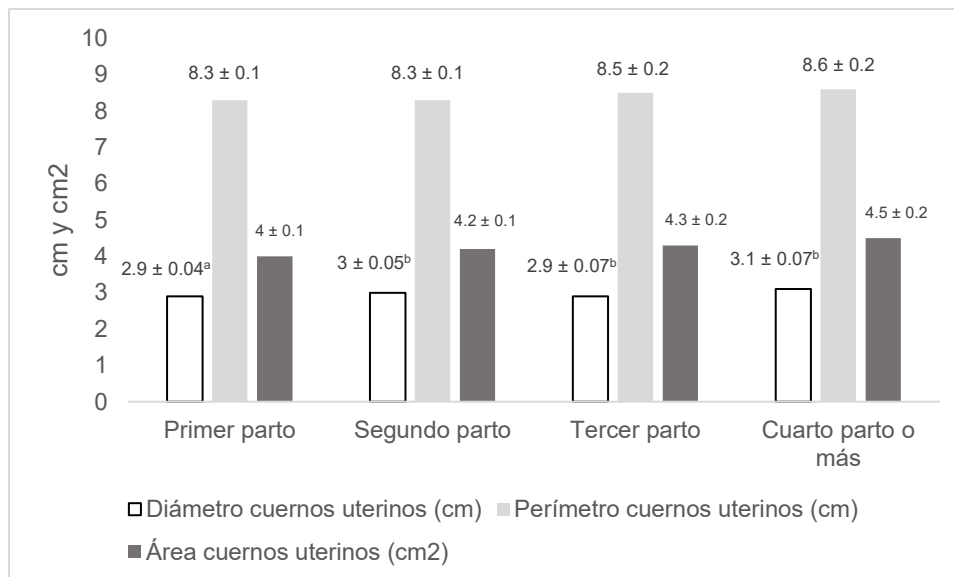


Figura 2. Mediciones de cuernos uterinos en vacas Holstein con diferente número de parto, evaluadas mediante ultrasonografía en tiempo real. Se muestran las medias y los errores estándar de la media. ^{a,b} Diferentes literales representa diferencias estadísticas significativas entre número de partos ($P < 0.05$).

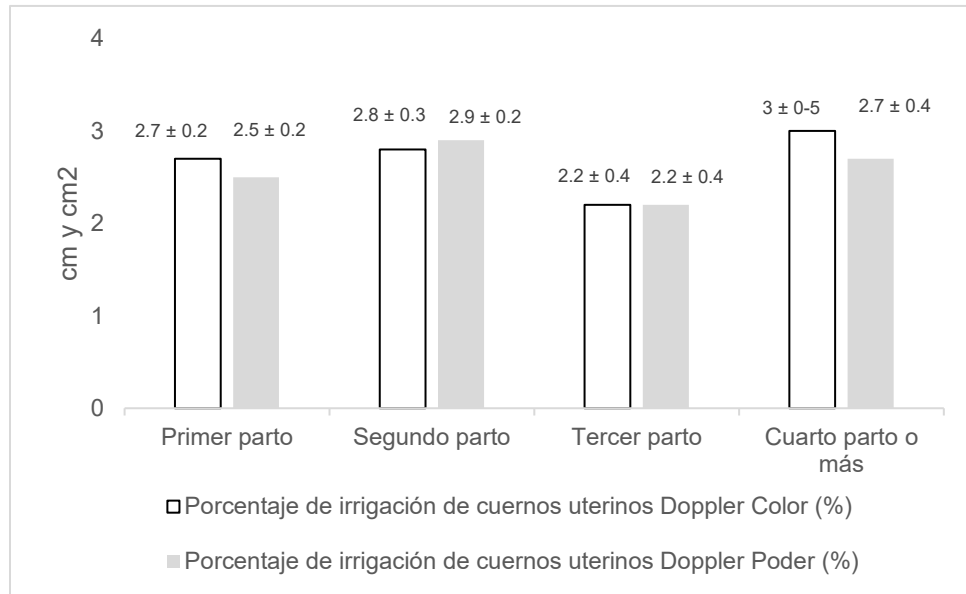


Figura 3. Porcentajes de irrigación en cuernos uterinos de vacas Holstein con diferente número de parto, evaluadas mediante ultrasonografía Doppler color y poder. Se muestran las medias y los errores estándar de la media ($P > 0.05$).

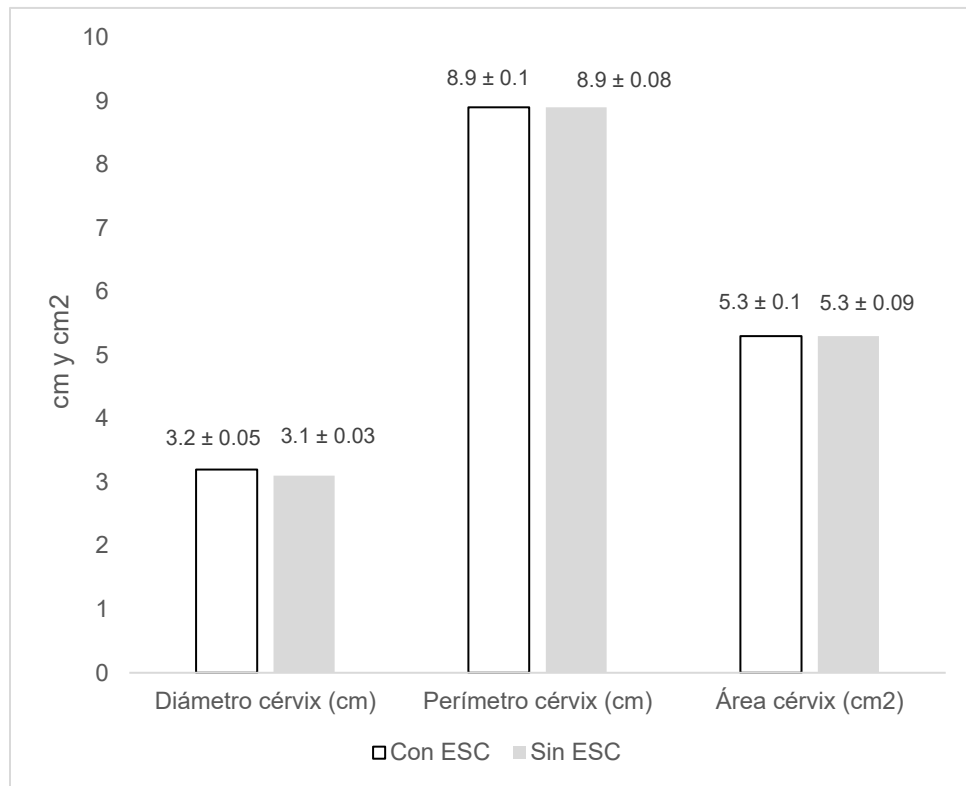


Figura 4. Mediciones de cérvix en vacas Holstein con y sin endometritis subclínica, evaluadas mediante ultrasonografía en tiempo real. Se muestran las medias y los errores estándar de la media ($P>0.05$).

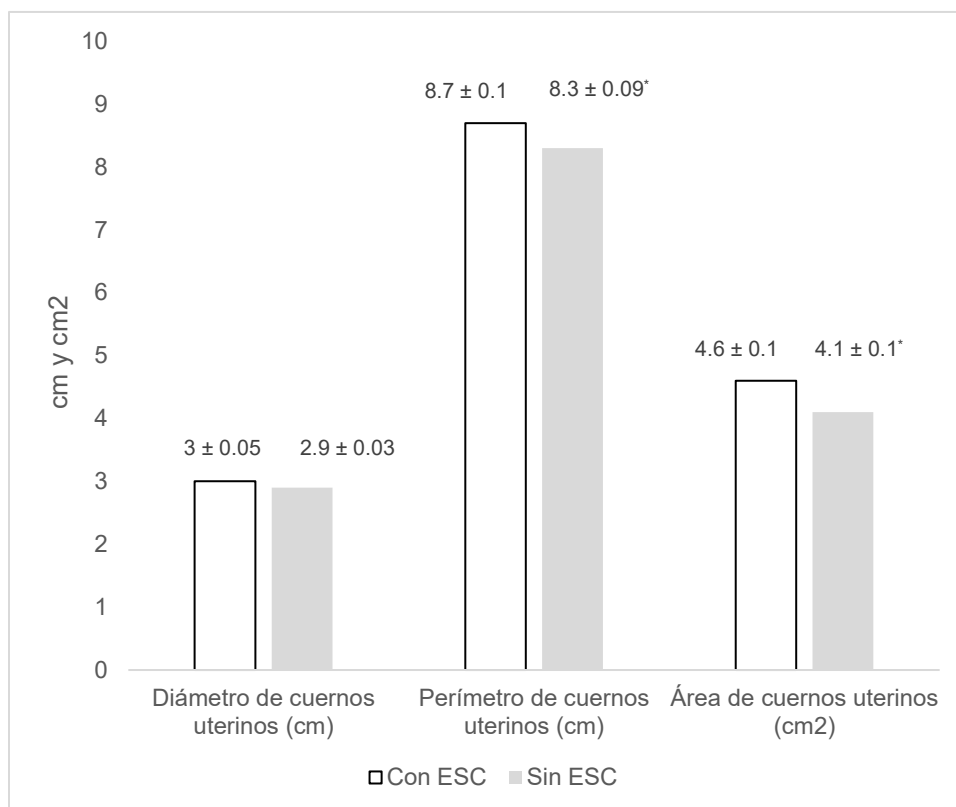


Figura 5. Mediciones de cuernos uterinos en vacas Holstein con y sin endometritis subclínica, evaluadas mediante ultrasonografía en tiempo real. Se muestran las medias y los errores estándar de la media. *; representa diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$).

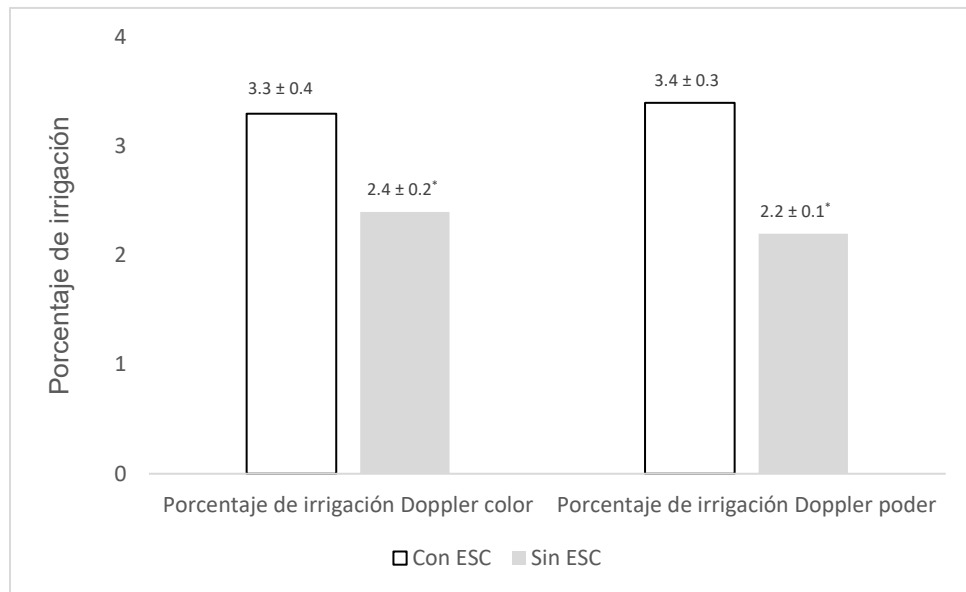


Figura 6. Porcentaje de irrigación de cuernos uterinos de vacas Holstein con y sin endometritis subclínica, evaluadas mediante ultrasonografía Doppler color y poder. Se muestran las medias y los errores estándar de la media. *; representa diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$).

En las Figuras 4 a 6 se muestran los resultados para las diferentes mediciones anatómicas del aparato reproductor y sus flujos sanguíneo en vacas positivas o negativas a ESC. Se debe considerar que la ESC es una afección con una respuesta inmune exacerbada sin signos clínicos y que la principal manera de diagnosticarla es haciendo una estimación de la infiltración de células polimorfonucleares (PMN) mediante pruebas citológicas como el Citobrush (Kasimanickam *et al.*, 2004). Aunque existe evidencia en la literatura y en nuestro estudio de que la ESC afecta negativamente el desempeño reproductivo, al parecer no existen cambios importantes en las dimensiones anatómicas del tracto reproductivo, específicamente en el cérvix y los cuernos uterinos. En un estudio se evaluó la prevalencia de ESC en vacas y su relación con la fertilidad, mostrando que las vacas positivas a ESC disminuyeron su tasa de concepción a primer servicio y la tasa de gestación acumulado a 120 días posparto. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en las mediciones anatómicas del tracto reproductivo entre vacas negativas y positivas a ESC (Painemilla, 2018). Aunque en nuestro estudio si se observaron algunas diferencias entre vacas positivas y negativas a ESC, estas diferencias fueron mínimas y sin utilidad para usarlas como herramienta diagnóstica. Se confirma entonces que la ESC puede causar alteraciones funcionales que afectan el desempeño reproductivo, pero sin modificaciones en las dimensiones anatómicas del tracto reproductivo en vacas lecheras del sistema semitecnificado, confirmando que las alteraciones por ESC son microscópicas y sistémicas (Sheldon *et al.*, 2009).

En la literatura se ha reportado que es posible detectar con el ultrasonido en tiempo real la presencia de líquido en el útero y que esto puede ser un predictor de infección uterina, principalmente para metritis y endometritis clínica. En el caso de ESC, aunque hubo diferencia estadística en el porcentaje de vacas con presencia de líquido en el útero entre animales positivos y negativos, 64 % de las positivas no presentaron líquido por lo que este indicador no tendría valor diagnóstico (Figura 7).

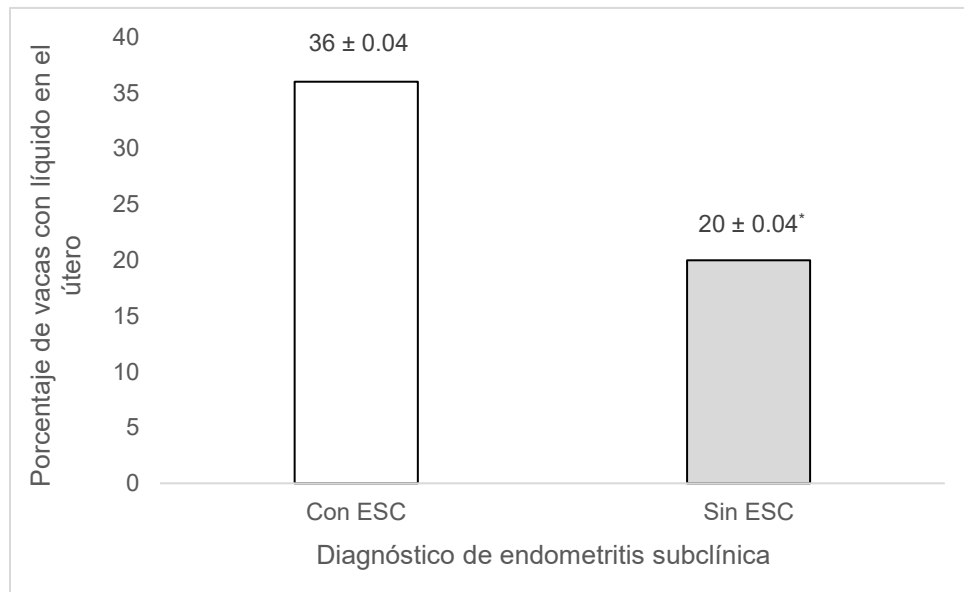


Figura 7. Presencia de líquido en los cuernos uterinos de vacas Holstein con y sin endometritis subclínica. Se muestran las medias y los errores estándar de la media. *; representa diferencias estadísticas significantes ($P < 0.05$).

En un estudio para diagnosticar la ESC con el Doppler, no se encontró correlación entre los resultados citológicos con las variables ecográficas (Carulla, 2019). En nuestro estudio, como se puede observar en la Figura 3, existen diferencias estadísticas en los porcentajes de irrigación evaluados por Doppler color y poder entre vacas positivas y negativas para ESC. Sin embargo, estas diferencias son pequeñas lo que las invalida para usarse como herramienta diagnóstica para ESC a nivel de establo; las variaciones entre técnicos que hacen la evaluación podrían ser de la misma magnitud que las diferencias observadas entre animales positivos y negativos a ESC. En otro estudio en que se midieron parámetros uterinos espectrales Doppler a diferentes momentos de la involución uterina, no se encontró a su vez una relación entre estos parámetros y los cambios asociados a la involución uterina (Haeno-González *et al.*, 2023). A pesar de que la herramienta Doppler puede ayudar en el diagnóstico de gestación y predicción de resultados en el procedimiento OPU, las diferencias que encontramos en los porcentajes de irrigación entre vacas positivas y negativas a ESC no son de suficiente magnitud como para ser consideradas como herramienta diagnóstica.

Los análisis de curvas ROC se muestran en el Cuadro 1. Las curvas ROC (Receiver Operating Characteristic) son herramientas que utilizan gráficas para evaluar el desempeño diagnóstico de una prueba, específicamente en medicina se utilizan para conocer la capacidad de una prueba para discriminar entre individuos sanos y enfermos (Zhou *et al.*, 2011). Representan en una gráfica bidimensional la sensibilidad (verdaderos positivos) y la especificidad (falsos positivos), cada punto que se encuentra en la curva representa un umbral de corte diferente para cada prueba evaluada, lo que permite visualizar como cambia la sensibilidad y especificidad al modificar dicho umbral (Zweib & Campbell, 1993). El proceso de hacer análisis con curvas ROC incluye las siguientes acciones; primero se genera una curva donde se ponen a los animales categorizados como positivos y negativos mediante un estándar de referencia (Gold standard), posteriormente se grafican los puntos para formar la curva ROC y se toma como referencia aquel valor que tenga la mejor sensibilidad y especificidad (que reconozca los verdaderos positivos y tenga menos falsos positivos), por último se calcula el área bajo la curva que es la

capacidad global de discriminar entre los positivos de los negativos; un área bajo la curva de 0.5 a 0.6 nos indica que la prueba no tiene capacidad discriminadora, de 0.6 a 0.7 tiene una discriminación aceptable, 0.7 a 0.8 es una buena discriminación, 0.8 a 0.9 es muy buena discriminación, mientras que la de 1.0 representa una prueba perfecta (Metz, 1978; Zhou *et al.*, 2011).

Cuadro 1. Resultados de análisis de curvas ROC para evaluación de desempeño diagnóstico de diferentes regiones anatómicas en la detección de endometritis subclínica.

Medidas anatómicas y de irrigación	Umbral	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Área bajo la curva
Cérvix				
Diámetro (cm)	3.42	40	62	0.546±0.022
Perímetro (cm)	8.65	58	45	0.511±0.026
Área (cm ²)	4.7	57	42	0.504±0.026
Cuernos uterinos				
Diámetro (cm)	2.96	60	52	0.596±0.027
Perímetro (cm)	8.61	44	61	0.556±0.027
Área (cm ²)	3.81	59	56	0.601±0.026
Irrigación de cuernos uterinos medidos con Doppler Color				
(%)	1.96	77	42	0.625±0.033
Irrigación de cuernos uterinos medidos con Doppler Poder				
(%)	2.18	76	44	0.674±0.033

Se muestra diámetro, perímetro y área de cérvix y cuernos uterinos, así como el porcentaje de irrigación con mediciones Doppler color y poder, además del umbral de evaluación, sensibilidad y especificidad y el área bajo la curva de cada curva ROC.

Como puede observarse en el Cuadro 1, solamente los porcentajes de irrigación en cuernos uterinos pudieran tener un valor diagnóstico de acuerdo con los resultados de AUC ($AUC > 0.6$). Los valores de sensibilidad en el punto de corte umbral para porcentajes de irrigación evaluados por Doppler color y poder también se consideran como medianamente aceptables para identificar a los animales positivos a ESC. Sin embargo, los valores correspondientes de especificidad indican una baja capacidad discriminatoria para identificar a los animales negativos a esta patología uterina. Si bien las curvas ROC suelen ser una buena herramienta, presenta algunas limitaciones, por ejemplo, no considera la prevalencia de la enfermedad, lo que puede afectar la interpretación en poblaciones con diferente porcentaje de prevalencia, además de que un área bajo la curva alta no garantiza una utilidad clínica si la especificidad o sensibilidad no son adecuadas para un diagnóstico específico (Pepe, 2003).

4.4. Conclusión

En conclusión, la ultrasonografía en tiempo real o Doppler, a pesar de ser de aplicación no invasiva, no representan una herramienta diagnóstica para ESC en vacas lecheras.

La dificultad para aplicar a nivel de establo la prueba diagnóstica de oro para ESC (infiltración endometrial de PMN), así como la elevada prevalencia de esta patología uterina y sus repercusiones negativas sobre la eficiencia reproductiva y rentabilidad, implican la necesidad de continuar la investigación para identificar biomarcadores que con buena sensibilidad y especificidad permitan el diagnóstico de ESC a nivel de establo.

4.5.- Referencias bibliográficas.

- Barajas Merchan J.L.; Hernández Cerón, J.; García A. A.; Martínez Bárcenas E.; Juárez López N. O.; Bedolla Alva M. A.; Luzbel de la Sota R. 2018. Endometritis subclínica y tasa de gestación en vacas lecheras en México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 9(1), 135-146. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v9i1.4324>
- Baez, G. M., Barletta, R. V., Guenther, J. N., Gaska, J. M., & Wiltbank, M. C. 2016. Effect of uterine size on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology*, 85(8), 1357–1366. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.04.022>
- Carulla, P. P. 2019. Evaluación y comparación de tres métodos para el diagnóstico de endometritis subclínica en vacuno lechero. Tesis de maestría. Universidad Católica de Valencia.
- Corea-Guillén, E. E., Alvarado-Panameño, J. F., & Leyton-Barrientos, L. V. 2008. Efecto del cambio en la condición corporal, raza y número de partos en el desempeño reproductivo de vacas lecheras. *Agronomía Mesoamericana*, 19(2), 251-259.
- Domínguez, C., Ruiz. Z. A., Pérez, R., Martínez, N., Drescher, K., Pinto, L., Araneda, R. 2008. Efecto de la condición corporal al parto y del nivel de alimentación sobre la involución uterina, actividad ovárica, preñez y la expresión hipotalámica y ovárica de los receptores de leptina en vacas doble propósito. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, 49(1), 023-026.
- Flores, L.H.E.; Chávez, D.A.A.; De la Mora, O. C.; Ruíz, C. J. A. 2012. Zonificación Agroclimática de los Altos de Jalisco, México. Tepatitlán de Morelos, Jalisco. Folleto técnico. Num1. INIFAP-CIRPAC. Páginas 18-42.
- González, A. J. B. 2019. Efecto de la solución salina ozonizada sobre la migración de neutrófilos polimorfonucleares en el útero y la endometritis subclínica. Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Ciencias Naturales. Maestría en salud y producción animal sustentable. Tesis de maestría.

- Henao-Gonzalez, M., Ferrer, M. S., Jiménez-Escobar, C., Palacio-Baena, L. G., & Maldonado-Estrada, J. G. 2023. Ultrasonographic Screening of Dairy Cows with Normal Uterine Involution or Developing Postpartum Uterine Disease Using B-Mode, Color, and Spectral Doppler. *Veterinary medicine international*, 2023, 2597332.
- Kasimanickam, R.; Duffield, T.F.; Foster, R.A.; Gartley, C.J.; Leslie, K.E.; Walton, J.S.; Johnson, W.H. 2004. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in post partum dairy cows. *Theriogenology* 62: 9-23. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2003.03.001
- Madureira, A. M. L., R. K. Poole, T. A. Burnett, T. G. Guida, J. L. Edwards, F. N. Schrick, J. L. M. Vasconcelos, R. L. A. Cerri, and K. G. Pohler. 2020. Size and position of the reproductive tract impacts fertility outcomes and pregnancy losses in lactating dairy cows. *Theriogenology* 158:66–74. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.08.022>.
- Martin, A. A. A., de Oliveira, G., Jr, Madureira, A. M. L., Miglior, F., LeBlanc, S. J., Cerri, R. L. A., Baes, C. F., & Schenkel, F. S. 2022. Reproductive tract size and position score: Estimation of genetic parameters for a novel fertility trait in dairy cows. *Journal of dairy science*, 105(10), 8189–8198. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21651>
- Melcher, Y.; Prunner, I.; Drillich, M. 2014. Degree of variation and reproducibility of different methods for the diagnosis of subclinical endometritis. *Theriogenology*. Jul 1;82(1):57-63. doi: 10.1016/j.theriogenology.2014.03.003. Epub 2014 Mar 12. PMID: 24703764.
- Metz, C. E. 1978. Basic principles of ROC analysis. *Seminars in Nuclear Medicine*, 8(4), 283-298.
- Mohammed A; Bollwein, Heinrich; Mostagir, Amira M; Samy, Alaa; Adlan, Fatma; Shalapy, Sara; Helmy, Amal; Lenis, Yasser Y.; Rabie, Mariam M; Gohar, Mohamed; Tawfik, Walid; and Sharawy, Heba A 2024. "The Targeted

application of Colour Doppler Ultrasonography in Dairy Cows Management," *Mansoura Veterinary Medical Journal*: Vol. 25: Iss. 3, Article 4. DOI: <https://doi.org/10.35943/2682-2512.1238>

Núñez, H.G.; Díaz, A.E.; Espinosa, G.J.A.; Ortega, R.L.; Hernández, A.L.; Vera, A.H.R.; Román, P.H.; Medina, C.M.; Ruíz, L.F. J. 2009. Producción de leche de bovino en el sistema intensivo. Veracruz. Libro Técnico Num. 23. INIFAP. Centro de Investigación Regional Golfo Centro. https://redgatro.fmvz.unam.mx/assets/leche_sistemaintensivo.pdf

Painemilla, V. A., Marro, O., Cantatore, S., Moscuazz, H. 2018. Incidencia de endometritis subclínica en vacas vacías al diagnóstico de preñez. Tesis de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional Del Centro De La Provincia de Buenos Aires.

Pepe, M. S. 2003. The Statistical Evaluation of Medical Tests for Classification and Prediction. Oxford University Press.

Rekwot, P.; Ogwu, D.; Oyedipe, E. 2000. Influence of bull biostimulation, season and parity on resumption of ovarian activity of zebu (*Bos indicus*) cattle following parturition. *Anim. Reprod. Sci.* 63(1-2): 1-11.

Sheldon, I. M., Lewis, G. S., Le Blanc, S., Gilbert, R. O. 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65: 1516–1530.

Sheldon M.I.; Cronin J. G.; Bromfield J. J. 2019. Tolerance and innate immunity shape the development of postpartum uterine disease and the impact of endometritis in dairy cattle. *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, 7, pp. 361-384. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-020518-115227>

Sheldon, I.M.; Cronin, J.; Goetze, L.; Donofrio, G.; and Schuberth, J. 2009. Defining Postpartum Uterine Disease and the Mechanisms of Infection and Immunity in the Female Reproductive Tract in Cattle. *Biol Reprod.* 81: 1025–1032. DOI: 10.1095/biolreprod.109.077370

- Tanaka, T., M. Arai, S. Ohtani, S. Uemura, T. Kuroiwa, S. Kim, and H. Kamomae. 2008. Influence of parity on follicular dynamics and resumption of ovarian cycle in postpartum dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 108:134–143.
- Villaseñor-González. F., Álvarez-Gallardo. H., Kjelland. M., Velázquez-Roque, A., Romo, S. 2021. Colour Doppler ultrasonography as a tool for oocyte donor selection. *Reproduction, Fertility and Development*. Vol. 33. Numbers 1 & 2. Pag 122.
- Wagener, K.; Gabler, C.; Drillich, M. 2017. A review of the ongoing discussion about definition, diagnosis and pathomechanism of subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology*. 94: 21-30. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2017.02.005
- Young, C. D., Schrick, F. N., Pohler, K. G., Saxton, A. M., Di Croce, F. A., Roper, D. A., Wilkerson, J. B., Edwards, J. L. 2017. Short communication: A reproductive tract scoring system to manage fertility in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 100: 5922-5927.
- Zhang, J., Deng, L. X., Zhang, H. L., Hua, G. H., Han, L., Zhu, Y., Meng, X. J., & Yang, L. G. 2010. Effects of parity on uterine involution and resumption of ovarian activities in postpartum Chinese Holstein dairy cows. *Journal of dairy science*, 93(5), 1979–1986. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2626>
- Zhou, X. H., Obuchowski, N. A., & McClish, D. K. 2011. *Statistical Methods in Diagnostic Medicine*. 2 nd ed. John Wiley & Sons.
- Zweig, M. H., & Campbell, G. 1993. Receiver-operating characteristics (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clinical Chemistry*, 39(4), 56-577.

5.- Capítulo 4. Conclusiones.

5.1. Conclusiones generales del estudio.

1) La prevalencia de endometritis subclínica (ESC) es elevada en vacas dentro de unidades de producción familiar de leche de pequeña escala y afecta negativamente el desempeño reproductivo.

2) Los principales factores de riesgo para ESC, que deben considerarse al desarrollar estrategias preventivas, incluyen la retención de membranas fetales y las infecciones uterinas durante el puerperio. Además, debido al impacto de la temporada de lluvias en la prevalencia de esta condición patológica, sería importante identificar los factores específicos que median este efecto para incluirlos dentro de las estrategias de prevención.

3) A pesar de que se identificaron diferencias en mediciones ultrasonográficas del tracto reproductor y su porcentaje de irrigación entre animales positivos y negativos a ESC, estas diferencias resultan demasiado pequeñas como para ser la base de un método de diagnóstico no invasivo para esta condición patológica. Asimismo, la capacidad discriminante de esas mediciones para el diagnóstico de ESC es limitada, lo que confirma la imposibilidad de utilizarlas como base para un método diagnóstico alternativo al estándar de oro. La elevada prevalencia de ESC en hatos lecheros independientemente del sistema de producción, sus repercusiones negativas sobre eficiencia reproductiva y la carencia de un método de diagnóstico no invasivo para uso a nivel de establo, hacen deseable continuar la investigación para identificar biomarcadores que puedan ser la base de un método de diagnóstico alternativos.