



ESCUELA DE DOCTORADO  
INTERNACIONAL DE LA USC

Sofía Lara  
Villar Fernández

Tesis doctoral

Síndrome de repetición de celos  
bovino: incidencia, etiología y  
tratamiento

Lugo, 2024

Programa de doctorado en Medicina y Sanidad Veterinaria

TESIS DOCTORAL

# **SÍNDROME DE REPETICIÓN DE CELOS BOVINO: INCIDENCIA, ETIOLOGÍA Y TRATAMIENTO**

Autora

Sofía Lara Villar Fernández

Directores:

Luis Ángel Quintela Arias

Carlos Carmelo Pérez Marín

Tutor: Luis Ángel Quintela Arias

## **CONFLICTO DE INTERESES**

Yo, Sofía Lara Villar Fernández, con DNI número 72044419R, declaro que esta Tesis Doctoral no presenta ningún conflicto de intereses.

En Santander, a 1 de diciembre de 2024.

Fdo: Sofía Lara Villar Fernández.

## AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis, Luis Quintela y Carlos Pérez, por ser mi guía en este trabajo y por toda la dedicación y tiempo que le han brindado.

A los propietarios y trabajadores de las ganaderías que han colaborado en los estudios, por permitirme realizar este trabajo con sus animales y por facilitar mi labor. Agradezco especialmente la paciencia a Ricardo, Ángel, Ramón y Mariano, que se prestaron a responder a todos mis interrogatorios.

A todos los amigos que han pasado por mi vida, los que están cerca y los que están (geográficamente) lejos, por la compañía y el cariño que me han impulsado en cada etapa.

A Alex, por ser mi GPS desde que tengo uso de razón (e incluso antes), por tu sentido del humor y por rescatarme cuando la tecnología se me vuelve en contra.

A mis padres, por dárme todo y por ser mi referencia permanente. A mi padre, gracias por la disponibilidad, los conocimientos y por toda la ayuda que me das a diario, todo lo que sé de esta profesión te lo debo a ti. A mi madre, gracias por dedicarme todo el tiempo del mundo, apoyarme siempre y tener soluciones para cualquier problema.

# ÍNDICE

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	<b>10</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>13</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>16</b>
<b>ABREVIATURAS</b> .....	<b>19</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>22</b>
<b>1.1 DEFINICIÓN E IMPORTANCIA</b> .....	<b>22</b>
<b>1.2 ETIOLOGÍA</b> .....	<b>23</b>
<b>1.2.1 Ambiente uterino inadecuado</b> .....	<b>23</b>
1.2.1.1 Patologías uterinas .....	24
1.2.1.2 Endometritis subclínica (ES) .....	27
1.2.1.2.1 Diagnóstico .....	31
<b>1.2.2 Alteraciones hormonales</b> .....	<b>34</b>
1.2.2.1 Progesterona (P4).....	34
1.2.2.2 Hormona anti-Mülleriana (AMH) .....	37
1.2.2.3 Factor de crecimiento epidérmico (EGF) .....	38
<b>1.2.3 Defectos anatómicos</b> .....	<b>38</b>
<b>1.2.4 Inmunización frente al semen</b> .....	<b>41</b>
<b>1.2.5 Ambiente y manejo</b> .....	<b>43</b>
1.2.5.1 Manejo de la IA .....	43
1.2.5.1.1 <i>Calidad del semen</i> .....	43
1.2.5.1.2 <i>Lugar de deposición del semen</i> .....	44
1.2.5.1.3 <i>Momento de deposición del semen</i> .....	44
1.2.5.1.4 <i>Detección del celo</i> .....	45
1.2.5.2 Estrés.....	46
1.2.5.3 Nutrición .....	49
<b>1.2.6 Muerte embrionaria temprana</b> .....	<b>51</b>
<b>1.2.7 Influencia de otras patologías</b> .....	<b>53</b>
1.2.7.1 Mastitis.....	53
1.2.7.2 Cojeras .....	54
<b>1.3 DIAGNÓSTICO</b> .....	<b>54</b>
<b>1.4 FACTORES DE RIESGO</b> .....	<b>55</b>

1.4.1 Edad .....	55
1.4.2 Número de parto.....	56
1.4.3. Patologías periparto .....	56
1.4.4 Producción láctea.....	57
1.4.5 Raza.....	57
1.4.6 Tamaño del rebaño y tipo de sistema productivo.....	57
1.4.7 Intervalo parto-1ª IA .....	58
1.4.8 Condición corporal (CC) .....	58
<b>1.5 ENFOQUES TERAPÉUTICOS .....</b>	<b>58</b>
<b>1.5.1 Tratamientos hormonales .....</b>	<b>58</b>
1.5.1.1 Hormona liberadora de gonadotropina (GnRH).....	58
1.5.1.2 Gonadotropina coriónica humana (hCG).....	60
1.5.1.3 Progesterona (P4).....	60
1.5.1.4 PGF2 $\alpha$ .....	61
1.5.1.5 Protocolos de sincronización de la ovulación.....	61
<b>1.5.2 Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) .....</b>	<b>62</b>
<b>1.5.3 Técnicas de reproducción asistida .....</b>	<b>65</b>
<b>1.5.4 Tratamientos antibióticos .....</b>	<b>66</b>
<b>1.5.5 Otros tratamientos.....</b>	<b>67</b>
1.5.5.1 Lavado uterino .....	67
1.5.5.2 Ozono.....	67
1.5.5.3 Escopolamina.....	68
1.5.5.4 Osteopontina (OPN) .....	68
1.5.5.5 Insulina.....	68
1.5.5.6 Plasma seminal .....	69
1.5.5.7 Plasma rico en plaquetas (PRP).....	69
1.5.5.8 Bacterias ácido lácticas.....	70
1.5.5.9 Enzimas proteolíticas .....	70
1.5.5.10 Fitoterapia .....	71
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>73</b>
<b>3. METODOLOGÍA .....</b>	<b>75</b>

### **3.1 EXPERIMENTO 1: EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE INMUNOGLOBULINAS EN EL MOCO CERVICAL DE VACAS**

<b>LECHERAS REPETIDORAS DE CELOS Y SU INFLUENCIA EN LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA .....</b>	<b>75</b>
3.1.1 Animales.....	75
3.1.2 Toma de muestras.....	75
3.1.3 Análisis de muestras .....	76
3.1.4 Análisis estadístico .....	76
<b>3.2 EXPERIMENTO 2: PREVALENCIA, FACTORES DE RIESGO Y OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA LA ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA Y LA OCLUSIÓN OVIDUCTAL EN VACAS HOLSTEIN REPETIDORAS DE CELOS .....</b>	<b>78</b>
3.2.1 Animales.....	78
3.2.2 Selección de los animales.....	78
3.2.3 Diagnóstico de ES .....	79
3.2.4 Evaluación de la permeabilidad oviductal.....	79
3.2.5 Recopilación de datos.....	80
3.2.6 Tratamiento.....	80
3.2.7 Análisis estadístico .....	81
<b>3.3 EXPERIMENTO 3: PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO DEL SÍNDROME DE REPETICIÓN DE CELOS EN GANADO VACUNO LECHERO DEL NORTE DE ESPAÑA.....</b>	<b>82</b>
3.3.1 Animales.....	82
3.3.2 Recogida de datos.....	82
3.3.3 Análisis estadístico .....	84
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>86</b>
<b>4.1 EXPERIMENTO 1: EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE INMUNOGLOBULINAS EN EL MOCO CERVICAL DE VACAS LECHERAS REPETIDORAS DE CELOS Y SU INFLUENCIA EN LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA .....</b>	<b>86</b>
4.1.1 Determinación de la concentración de inmunoglobulinas en el moco cervical.....	86
4.1.2 Influencia sobre la motilidad espermática .....	87
<b>4.2 EXPERIMENTO 2: PREVALENCIA, FACTORES DE RIESGO Y OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA LA ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA Y LA OCLUSIÓN OVIDUCTAL EN VACAS HOLSTEIN REPETIDORAS DE CELOS .....</b>	<b>88</b>
4.2.1 Prevalencia de ES y OO .....	88

4.2.2 Factores de riesgo para la ES .....	88
4.2.3 Efecto del tratamiento en la TC .....	89
<b>4.3 EXPERIMENTO 3: PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO DEL SÍNDROME DE REPETICIÓN DE CELOS EN GANADO VACUNO LECHERO DEL NORTE DE ESPAÑA.....</b>	<b>90</b>
4.3.1 Prevalencia del síndrome .....	90
4.3.2 Factores de riesgo en vacas lecheras primíparas.....	90
4.3.4 Factores de riesgo en vacas lecheras múltíparas .....	91
<b>5. DISCUSIÓN .....</b>	<b>95</b>
<b>5.1 EXPERIMENTO 1: EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE INMUNOGLOBULINAS EN EL MOCO CERVICAL DE VACAS LECHERAS REPETIDORAS DE CELOS Y SU INFLUENCIA EN LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA .....</b>	<b>95</b>
<b>5.2 EXPERIMENTO 2: PREVALENCIA, FACTORES DE RIESGO Y OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA LA ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA Y LA OCLUSIÓN OVIDUCTAL EN VACAS HOLSTEIN REPETIDORAS DE CELOS .....</b>	<b>96</b>
5.2.1 Prevalencia y factores de riesgo para la ES .....	96
5.2.2 Prevalencia y factores de riesgo para la OO.....	97
5.2.3 Efecto del tratamiento sobre la TC.....	98
<b>5.3 EXPERIMENTO 3: PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO DEL SÍNDROME DE REPETICIÓN DE CELOS EN GANADO VACUNO LECHERO DEL NORTE DE ESPAÑA.....</b>	<b>100</b>
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>105</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>107</b>

## **RESUMEN**

## RESUMEN

El síndrome de repetición de celos supone una importante problemática reproductiva en las granjas de vacuno lechero a nivel mundial, generando notables pérdidas económicas y aumentando el riesgo de sacrificio de los animales. Teniendo en cuenta el peso que la eficiencia reproductiva tiene en el sector de la producción láctea, debido a que está ligada a la productividad y a la viabilidad económica de las explotaciones, mejorar la detección y el control de este síndrome resulta de gran interés. Además, el elevado número de causas y factores de riesgo implicados en su desarrollo dificultan su diagnóstico y tratamiento, y las herramientas terapéuticas de las que se dispone para combatirlo son limitadas.

Por todo ello, en esta tesis se han realizado tres experimentos en granjas de producción lechera localizadas en el norte de España con el objetivo de caracterizar dicho síndrome. En primer lugar, se ha estudiado una de sus potenciales causas, la inmunización de las hembras frente al semen. Para ello, se determinó la concentración de anticuerpos presentes en el moco cervical de 47 vacas Holstein, incluyendo 15 vacas sanas y 32 vacas con síndrome de repetición de celos, así como la influencia de los mismos sobre la motilidad espermática. En segundo lugar, se han estudiado otras dos patologías consideradas causantes del síndrome, la endometritis subclínica y la oclusión oviductal, a fin de determinar su peso dentro de esta problemática. Para ello se determinó la prevalencia de ambos procesos en 99 vacas Holstein con síndrome de repetición de celos y se evaluó la eficacia de posibles tratamientos para resolverlos. Por último, se determinó la prevalencia del síndrome de repetición de celos en una población de 2370 vacas lecheras, así como los factores de riesgo implicados en su aparición en vacas primíparas y múltiparas.

En base a los resultados de este trabajo, a pesar de que se ha observado una influencia negativa de las inmunoglobulinas presentes en el moco cervical de las vacas estudiadas sobre la motilidad espermática, estas no parecen tener un efecto relevante en la etiología del síndrome, ya que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en su concentración entre ambos grupos. Por otro lado, aunque se han descrito previamente como causas del síndrome de repetición de celos, la endometritis subclínica y la oclusión oviductal no parecen ser causas principales de este problema, ya que la prevalencia observada fue del 22% para la primera y del 3% para la segunda. Además, en el caso de las vacas diagnosticadas con endometritis subclínica, se observó una mejora de las tasas de concepción en aquellas vacas tratadas con antiinflamatorios no esteroideos (14,3%) o con una combinación de estos y prostaglandina F<sub>2</sub> $\alpha$  (62,5%). La prevalencia del síndrome en la población estudiada fue del 21,1%, 18,6% en vacas primíparas y 22,8% en vacas múltiparas. En lo referente a los factores de riesgo implicados en este síndrome, se han identificado varias patologías en el caso de las vacas primíparas, incluyendo ciertas alteraciones reproductivas (distocias (OR, 5.2;  $p < 0.01$ ) y endometritis (OR, 12.23;  $p < 0.01$ )), así como las cojeras

(OR, 3.4;  $p < 0.01$ ), las cetosis (OR, 3.5;  $p < 0.01$ ) y las mastitis clínicas (OR, 4.2;  $p < 0.01$ ), además de la pérdida marcada de condición corporal entre el secado y el postparto, de 0,75 puntos (OR, 2,2;  $p < 0.01$ ), y 1 a 1,5 puntos (OR, 8.1;  $p < 0.01$ ). En lo que respecta a las vacas multíparas, estos factores incluyeron las distocias (OR, 1.9;  $p < 0.01$ ), las metritis (OR, 2.6;  $p < 0.01$ ), las endometritis (OR, 6.2;  $p < 0.01$ ), las cojeras (OR, 2.5;  $p < 0.01$ ), las cetosis (OR, 4.3;  $p < 0.01$ ), las mastitis clínicas (OR, 4.2;  $p < 0.01$ ) y las mastitis subclínicas (OR, 1.9;  $p < 0.01$ ), así como la pérdida de condición corporal acusada, de 1-1,5 puntos, entre el secado y el postparto (OR, 2.0;  $p < 0.05$ ). Asimismo, se han identificado algunos factores protectores que parecen reducir el riesgo de desarrollo del síndrome. En el caso de las primíparas estos incluyeron los partos durante el verano y el otoño (OR, 0.4;  $p < 0.01$ /OR, 0.6;  $p < 0.05$ ), mientras que para las vacas multíparas el riesgo se redujo cuando se retrasaba la primera inseminación artificial tras el parto (OR, 0.99;  $p < 0.01$ ).

Debido al escaso número de trabajos centrados en este síndrome y a los resultados variables de los que se dispone, es necesario realizar un mayor número de estudios que permitan caracterizarlo mejor. Asimismo, resultaría muy interesante desarrollar alternativas terapéuticas para su control a fin de evitar las pérdidas reproductivas que genera.

**Palabras clave:** infertilidad, eficiencia reproductiva, anticuerpos antiespermatozoides, endometritis subclínica, oclusión oviductal.

## **RESUMO**

## RESUMO

O síndrome de repetición de celos supón unha importante problemática reprodutiva nas granxas de vacún leiteiro a nivel mundial, xerando notables perdas económicas e aumentando o risco de sacrificio dos animais. Tendo en conta o peso que a eficiencia reprodutiva ten no sector da produción láctea, debido a que está ligada á produtividade e á viabilidade económica das explotacións, mellorar a detección e o control deste síndrome resulta de gran interese. Ademais, o elevado número de causas e factores de risco implicados no seu desenvolvemento dificultan o seu diagnóstico e tratamento, e as ferramentas terapéuticas das que se dispón para combatelo son limitadas.

Por todo iso, nesta tese realizáronse tres experimentos en granxas de produción leiteira localizadas no norte de España co obxectivo de caracterizar dito síndrome. En primeiro lugar, estudouse unha das súas potenciais causas, a inmunización das femias fronte ao seme. Para iso, determinouse a concentración de anticorpos presentes no moco cervical de 47 vacas Holstein, incluíndo 15 vacas sanas e 32 vacas con síndrome de repetición de celos, así como a influencia dos mesmos sobre a motilidade espermática. En segundo lugar, estudáronse outras dúas patoloxías consideradas causantes do síndrome, a endometrite subclínica e a oclusión oviductal, a fin de determinar o seu peso dentro desta problemática. Para iso determinouse a prevalencia de ambos procesos en 99 vacas Holstein con síndrome de repetición de celos e avalíouse a eficacia de posibles tratamentos para resolvelos. Por último, determinouse a prevalencia do síndrome de repetición de celos nunha poboación de 2370 vacas leiteiras, así como os factores de risco implicados na súa aparición en vacas primíparas e múltiparas.

En base aos resultados deste traballo, a pesar de que se observou unha influencia negativa das inmunoglobulinas presentes no moco cervical das vacas estudadas sobre a motilidade espermática, estas non parecen ter un efecto relevante na etioloxía do síndrome, xa que non se atoparon diferenzas estatisticamente significativas na súa concentración entre ambos grupos. Por outro lado, aínda que se describiron previamente como causas do síndrome de repetición de celos, a endometrite subclínica e a oclusión oviductal non parecen ser causas principais deste problema, xa que a prevalencia observada foi do 22% para a primeira e do 3% para a segunda. Ademais, no caso das vacas diagnosticadas con endometrite subclínica, observouse unha mellora das taxas de concepción naquelas vacas tratadas con antiinflamatorios non esteroides (14,3%) ou cunha combinación destes e prostaglandina F<sub>2α</sub> (62,5%). A prevalencia do síndrome na poboación estudada foi do 21,1%, 18,6% en vacas primíparas e 22,8% en vacas múltiparas. En canto aos factores de risco implicados neste síndrome, identificáronse varias patoloxías no caso das vacas primíparas, incluíndo certas alteracións reprodutivas (distocias (OR, 5.2;  $p < 0.01$ ) e endometrite (OR, 12.23;  $p < 0.01$ )), así como as coxeiras (OR, 3.4;  $p < 0.01$ ), as cetoses (OR, 3.5;  $p < 0.01$ ) e as mastites clínicas (OR, 4.2;  $p < 0.01$ ), ademais da perda marcada de condición corporal entre o secado e o

posparto, de 0,75 puntos (OR, 2,2;  $p < 0.01$ ), e 1 a 1,5 puntos (OR, 8.1;  $p < 0.01$ ). En canto ás vacas múltiparas, estes factores incluíron as distocias (OR, 1.9;  $p < 0.01$ ), as metrites (OR, 2.6;  $p < 0.01$ ), as endometrites (OR, 6.2;  $p < 0.01$ ), as coxeiras (OR, 2.5;  $p < 0.01$ ), as cetoses (OR, 4.3;  $p < 0.01$ ), as mastites clínicas (OR, 4.2;  $p < 0.01$ ) e as mastites subclínicas (OR, 1.9;  $p < 0.01$ ), así como a perda de condición corporal acusada, de 1-1,5 puntos, entre o secado e o posparto (OR, 2.0;  $p < 0.05$ ). Así mesmo, identificáronse algúns factores protectores que parecen reducir o risco de desenvolvemento do síndrome. No caso das primíparas estes incluíron os partos durante o verán e o outono (OR, 0.4;  $p < 0.01$ /OR, 0.6;  $p < 0.05$ ), mentres que para as vacas múltiparas o risco reduciuse cando se atrasaba a primeira inseminación artificial tras o parto (OR, 0.99;  $p < 0.01$ ).

Debido ao escaso número de traballos centrados neste síndrome e aos resultados variables dos que se dispón, é necesario realizar un maior número de estudos que permitan caracterizalo mellor. Así mesmo, resultaría moi interesante desenvolver alternativas terapéuticas para o seu control a fin de evitar as perdas reprodutivas que xera.

**Palabras clave:** infertilidade, eficiencia reprodutiva, anticorpos antiespermatozoides, endometrite subclínica, oclusión oviductal.

# SUMMARY

## SUMMARY

Repeat breeder syndrome is a major reproductive problem in dairy cattle farms worldwide that generates considerable economic losses and increases the culling risk. Taking into account the weight that reproductive efficiency has in the dairy production sector, as it is linked to productivity and economic viability of farms, improving the detection and control of this syndrome holds great interest. Furthermore, the high number of causes and risk factors involved in its development make its diagnosis and treatment particularly challenging, and the therapeutic tools available are limited nowadays.

For all these reasons, as part of this thesis, three experiments were carried out in order to characterise this syndrome. This work was carried out on dairy production farms located in the north of Spain. Firstly, one of its potential causes, the immunisation of females against semen, was studied by analysing the concentration of antibodies present in the cervical mucus of 47 Holstein cows, including 15 healthy cows and 32 repeat breeder cows, as well as their influence on sperm motility. Secondly, two other pathologies considered to cause the syndrome, subclinical endometritis and oviductal occlusion, were studied to determine their importance in this condition, by assaying the prevalence of both disorders in a population of 99 Holstein cows suffering from repeat breeder syndrome. In this case, the effectiveness of possible treatments to resolve these disorders was also evaluated. Finally, the prevalence of repeat breeder syndrome was determined in a population of 2370 dairy cows, along with the risk factors involved in its development in primiparous and multiparous cows.

Based on the results of this work, although a negative influence of antisperm antibodies present in the cervical mucus of the studied cows on sperm motility has been observed, these do not seem to have a relevant effect on the aetiology of the syndrome, since no statistically significant differences were found in their concentration between both groups. On the other hand, while subclinical endometritis and oviductal occlusion have been previously described as causes of the repeat breeder syndrome, they do not seem to be among the main aetiologies of this condition, since the observed prevalence was 22% for the former and 3% for the latter. Furthermore, regarding cows diagnosed with subclinical endometritis, an improvement in conception rates was observed in those animals treated with non-steroidal anti-inflammatory drugs (14.3%) or with a combination of these and prostaglandin F<sub>2</sub>α (62.5%). The overall prevalence of the syndrome in the studied population was 21.1% (18.6% in primiparous cows and 22.8% in multiparous cows). With regard to the risk factors involved in this syndrome, several pathologies were identified in the case of primiparous cows, including certain reproductive disorders (dystocia (OR, 5.2;  $p < 0.01$ ) and endometritis (OR, 12.23;  $p < 0.01$ )), as well as lameness (OR, 3.4;  $p < 0.01$ ), ketosis (OR, 3.5;  $p < 0.01$ ), clinical mastitis (OR, 4.2;  $p < 0.01$ ) and a pronounced loss of body condition between dry and postpartum periods, of 0.75 points (OR, 2.2;  $p < 0.01$ ), and 1-1.5 points (OR, 8.1;  $p < 0.01$ ). In regard to multiparous cows, these factors included dystocia (OR, 1.9;  $p < 0.01$ ), metritis (OR, 2.6;  $p < 0.01$ ), endometritis (OR, 6.2;  $p < 0.01$ ), lameness (OR, 2.5;  $p < 0.01$ ), ketosis (OR, 4.3;  $p < 0.01$ ), clinical mastitis (OR, 4.2;  $p < 0.01$ ) and subclinical mastitis (OR, 1.9;  $p < 0.01$ ).

0.01), as well as a pronounced body condition loss, of 1-1.5 points, between dry and postpartum periods (OR, 2.0;  $p < 0.05$ ). Moreover, some protective factors that seem to reduce the risk of developing the syndrome were also encountered. In the case of primiparous cows, these included calving during the summer and autumn (OR, 0.4;  $p < 0.01$ /OR, 0.6;  $p < 0.05$ ), while the risk was reduced when the first artificial insemination after calving was delayed in multiparous cows (OR, 0.99;  $p < 0.01$ ).

Due to the scarce number of studies focused on this syndrome and the variable results available, it is necessary to carry out additional studies to better characterise it. Furthermore, the development of therapeutic alternatives for its control in order to avoid the reproductive losses it generates would also be of great interest.

**Keywords:** infertility, reproductive efficiency, antisperm antibodies subclinical endometritis, oviductal occlusion.

# **ABREVIATURAS**

## ABREVIATURAS

AAE: anticuerpos antiespermatozoides  
ACTH: hormona adenocorticotrópica  
AINE: antiinflamatorio no esteroideo  
AMH: hormona anti-Mülleriana  
BEN: balance energético negativo  
BHB: beta-hidroxibutirato  
BHBA: ácido beta-hidroxibutírico  
CC: condición corporal  
CD14: clúster de diferenciación 14  
CL: cuerpo lúteo  
COX: ciclooxigenasa  
CRH: hormona liberadora de hormona corticotropa  
CT: colesterol total  
DAMP: patrones moleculares asociados a daños  
DEL: días en leche  
DUMPS: deficiencia de uridina monofosfato sintasa  
E2: estradiol  
EGF: factor de crecimiento epidérmico  
ELISA: inmunoensayo enzimático  
ES: endometritis subclínica  
FSH: hormona foliculoestimulante  
GnRH: hormona liberadora de gonadotropina  
hCG: gonadotropina coriónica humana  
Hp: haptoglobina  
HSG: histerosalpingografía  
IA: inseminación artificial  
IATF: inseminación artificial a tiempo fijo  
IFNT: interferón tau  
IGF-1: factor de crecimiento insulinoide 1  
IgA: inmunoglobulina A  
IgG: inmunoglobulina G

IL: interleucina  
IPIF: intervalo parto-inseminación fecundante  
ITH: índice temperatura-humedad  
LH: hormona luteinizante  
LPS: lipopolisacárido  
MD2: factor mieloide de diferenciación 2  
MUC-1: mucina 1  
n-3 PUFA: ácidos grasos poliinsaturados n-3  
NEFA: ácidos grasos no esterificados  
NF- $\kappa$ B: factor nuclear kappa-B  
OO: oclusión oviductal  
OPN: osteopontina  
OR: odds ratio  
P4: progesterona  
PAMP: patrones moleculares asociados a patógenos  
PGE<sub>2</sub>: prostaglandina E2  
PGF<sub>2 $\alpha$</sub> : prostaglandina F2 alfa  
PMN: polimorfonucleares neutrófilos  
PT: proteínas totales  
PRP: plasma rico en plaquetas  
PRR: receptores de reconocimiento de patrones  
PSP: fenolsulfonaftaleína  
RCS: recuento de células somáticas  
RFA: recuento de folículos antrales  
RIA: radioinmunoensayo  
ROS: especies reactivas de oxígeno  
SAA: proteína amiloide sérica A  
SRC: síndrome de repetición de celos  
TC: tasa de concepción  
TE: transferencia embrionaria  
TLR: receptor Toll-like  
TNF $\alpha$ : factor de necrosis tumoral alfa

# INTRODUCCIÓN

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 DEFINICIÓN E IMPORTANCIA

El síndrome de repetición de celos (SRC) es una de las principales problemáticas reproductivas que afectan a las explotaciones de vacas lecheras a nivel mundial (Salasel et al., 2010). Incluye a aquellos animales que, a pesar de presentar ciclos estrales de duración normal (entre 17 y 25 días) y de no sufrir anormalidades anatómicas ni infecciosas aparentes, no resultan gestantes tras tres o más inseminaciones (Casida, 1961; Gustafsson y Emanuelson, 2002; Pérez-Marín et al., 2012). Se trata de un trastorno de etiología multifactorial en el que pueden confluir varias causas simultáneamente, por lo que su diagnóstico y control a nivel de granja resulta complicado. Además, se han identificado diversos factores de riesgo individuales, ambientales y de manejo asociados a su aparición (Moss et al., 2002; Yusuf et al., 2010; Jeong y Kim, 2022).

Este síndrome presenta una distribución mundial y ha sido ampliamente estudiado en diversos países. La prevalencia reportada en los diferentes estudios es muy variable: 9% en Reino Unido (Bartlett et al., 1986), 10,1% en Suecia (Gustafsson y Emanuelson, 2002), 11% en Bangladesh (Asaduzzaman et al., 2016), 12,4% en Polonia (Janowski et al., 2013), 14% en Japón (Yusuf et al., 2010), 22% en Estados Unidos (Bulman y Lamming, 1978), 23% en Australia (Moss et al., 2002) e India (Deka, 2021), 25% en España (García-Ispierto y López-Gatius, 2017), 33,9% en Etiopía (Befekadu et al., 2023) y 62% en Indonesia (Yusuf et al., 2012). Estas variaciones pueden deberse a los diversos sistemas de producción, técnicas de manejo empleadas, tamaño de los rebaños o mérito genético (Pérez-Marín y Quintela, 2023), así como a las condiciones ambientales a las que están sometidos los rebaños, entre otros factores.

La importancia económica de este problema es notable, debido a la influencia que el rendimiento reproductivo tiene sobre la producción lechera (Bartlett et al., 1986; Jaureguiberry et al., 2015). En este sentido, se describe que la subfertilidad genera costes como consecuencia de la reducción de las tasas de concepción (TC), el aumento del intervalo entre el parto y la inseminación fecundante (IPIF), una mayor tasa de eliminación, la reducción de la producción láctea, así como un incremento de los costes de reposición y de los gastos asociados a la atención veterinaria y a las repetidas inseminaciones (Levine, 1999; Gustafsson y Emanuelson, 2002; Nowicki, 2021). En un sector como el de la producción láctea, que se caracteriza por sufrir unos elevados costes de producción, la eficiencia reproductiva resulta vital para asegurar la rentabilidad de las explotaciones (Berry et al.,

2014; Cardoso Consentini et al., 2021). Por ello, y teniendo en cuenta que la eficiencia reproductiva está estrechamente ligada a la productividad de las vacas lecheras, la identificación y el tratamiento de los animales repetidores es particularmente relevante.

Además del aspecto económico, la eficiencia en la producción láctea está ligada a otras cuestiones que generan preocupación en los consumidores. En lo referente al impacto medio-ambiental atribuido al ganado lechero, se ha demostrado que el aumento en la eficiencia productiva (mediante la mejora del manejo, la nutrición, la reproducción y el bienestar) es una manera efectiva de reducir las emisiones de gases de efecto invernadero por unidad de leche (Place y Mitloehner, 2010). Por otro lado, el fracaso reproductivo es el motivo más frecuente de eliminación involuntaria de vacas lecheras a nivel mundial (Pinedo et al., 2010; Dallago et al., 2021) y, en el contexto actual de preocupación sobre el bienestar animal, es concebible que la sociedad comience a exigir esperanzas de vida productivas más largas y acordes con la esperanza de vida natural (De Vries y Marcondes, 2020).

## 1.2 ETIOLOGÍA

El éxito reproductivo de las vacas lecheras depende de un delicado equilibrio entre comportamiento estral, factores hormonales, dinámica ovárica y función uterina (Båge, 2002). La etiología del SRC es multifactorial (Ferreira et al., 2011; Yusuf et al., 2010) e incluye alteraciones hormonales, infecciones uterinas, defectos anatómicos, gestión nutricional inapropiada y manejo reproductivo inadecuado. Y se ha descrito que los fallos reproductivos asociados a este síndrome son debidos principalmente a fracaso en la fecundación y a muerte embrionaria temprana (De Kruif, 1976; Ferreira et al., 2008; Wodaje y Mekuria, 2016).

Asimismo, existen multitud de factores de riesgo que pueden afectar a la incidencia del SRC, entre los que se encuentran las patologías en el parto, la producción láctea, el número de partos, la pérdida de condición corporal postparto, la edad o el intervalo parto-primera inseminación (Salasel et al., 2010; Pothmann et al., 2015; Jeong y Kim, 2022). El carácter multifactorial de este síndrome, unido a los numerosos factores de riesgo que influyen en su aparición, dificultan su detección y tratamiento.

### 1.2.1 Ambiente uterino inadecuado

Un ambiente uterino sano es un factor clave para conseguir una fertilidad óptima (Lambertz et al., 2014) ya que promueve el desarrollo embrionario normal (Pérez-Marín et al., 2012). Por lo tanto, su alteración perjudica a los cigotos y gametos, dificultando la fecundación y el mantenimiento de la gestación, y reduciendo el éxito reproductivo de las vacas (Gilbert et al., 2011; Bogado Pascottini y Opsomer, 2016; Ribeiro et al., 2016). En condiciones normales, el útero está protegido por la barrera anatómica que supone el cérvix,

así como por diversos mecanismos que incluyen el moco, un epitelio intacto y agentes antimicrobianos, que impiden la llegada de patógenos procedentes de la vagina (Bromfield et al., 2015). Durante el parto, estos mecanismos se debilitan, lo que puede permitir la colonización bacteriana del tracto reproductivo, con la consecuente instauración de una infección uterina. Aunque el parto es el desencadenante de la infección, existen factores que aumentan el riesgo de presentación de estos procesos. Estos incluyen situaciones que incrementen el daño uterino en el parto, como las distocias, los mortinatos, la retención de membranas fetales o los partos gemelares (Pascottini, 2016). El número de parto también se ha asociado con el riesgo de infección uterina, siendo más elevado en vacas primerizas, por presentar mayor riesgo de distocia, y en vacas desde su tercer parto en adelante, debido a un aumento del riesgo de retención de membranas fetales. La asistencia del personal durante los partos se ha relacionado con el nacimiento de machos, de terneros anormalmente grandes y de gemelos, y se produce más frecuentemente en vacas primerizas (Bell y Roberts, 2007). Esta asistencia obstétrica promueve la aparición de lesiones uterinas y una mayor contaminación bacteriana del útero (Giuliodori et al., 2013; Moscuzza et al., 2015).

### 1.2.1.1 Patologías uterinas

La contaminación uterina con microorganismos ambientales es habitual tras el parto, llegando a presentarse en el 90% de las vacas durante las dos primeras semanas postparto (Földi et al., 2006; Braga Paiano et al., 2019), pero en la mayoría de los animales estos procesos se resuelven en un periodo de 3 a 5 semanas. Sin embargo, cuando los mecanismos de defensa no son capaces de eliminar esta contaminación, pueden desarrollarse enfermedades uterinas inflamatorias que llegan a afectar hasta al 50% de las vacas lecheras durante las primeras 5 semanas postparto (LeBlanc, 2014; Pascottini et al., 2023).

Las patologías uterinas han sido clasificadas y definidas en función de sus características clínicas. La **metritis** es la inflamación de todas las capas de la pared uterina (Bondurant, 1999). Se denomina metritis puerperal al proceso que ocurre durante los primeros 21 días postparto, siendo más frecuente en los 10 primeros días (Sheldon et al., 2019), y que se caracteriza por la presencia de una descarga uterina acuosa, de color rojizo o marrón y olor fétido, acompañada de distensión uterina. Se clasifica en función de la gravedad de los signos que presente el animal. Se denomina grado 1 o metritis clínica al proceso que incluye la descarga purulenta y la distensión uterina, pero en el que no se presentan otros signos clínicos. Los animales que presentan además signos sistémicos que incluyen hipertermia ( $>39,5^{\circ}\text{C}$ ), reducción de la producción láctea y apatía se clasifican dentro del grado 2. Cuando los animales presentan signos de toxemia, como anorexia, depresión y extremidades frías, se clasifican como grado 3, que implica un peor pronóstico (Sheldon et al., 2009a). Los factores de riesgo asociados a cualquier grado de metritis son la retención de membranas fetales, la distocia, la muerte fetal y las gestaciones gemelares (Bogado Pascottini y Opsomer, 2017). La metritis puerperal se ha asociado con una menor TC y un aumento del IPIF (Giuliodori et al., 2013).

La **endometritis** es el proceso inflamatorio que afecta exclusivamente al endometrio y se caracteriza por daño en el epitelio luminal, congestión vascular, edema e infiltración variable de células inflamatorias (Bondurant, 1999). Es un mecanismo fisiológico del postparto necesario para la reparación tisular y para evitar la disbiosis. Sin embargo, su persistencia más allá de los 21 días postparto es patológica (Foley et al., 2015; Pascottini et al., 2023). La endometritis empeora la fertilidad de las vacas lecheras ya que altera la función endometrial, genera un ambiente hostil para los embriones en el tracto genital de las hembras y altera la función folicular y la viabilidad de los ovocitos (Sheldon et al., 2019). La **endometritis clínica** se caracteriza por la presencia de una descarga purulenta o mucopurulenta a través de la vagina en ausencia de síntomas clínicos sistémicos (Sheldon et al., 2006), y afecta a alrededor del 20% de las vacas entre los 21 y los 40 días postparto (LeBlanc et al., 2002). Para su diagnóstico se puede emplear el vaginoscopio, la mano enguantada o el dispositivo *Metricheck* (Pleticha et al., 2009), que permiten evaluar la presencia de exudado vaginal anormal. Sin embargo, la presencia de dicho exudado no siempre está asociado a la inflamación endometrial (Bogado Pascottini y Opsomer, 2017), ya que también puede estar causado por otras condiciones como vaginitis, cervicitis e, incluso, cistitis o pielonefritis (Sheldon et al., 2006; McDougall et al., 2007; Dubuc et al., 2010a; Deguillaume et al., 2012). Se ha empleado el término **descarga vaginal purulenta** (DVP) para referirse a aquellas situaciones en que se observa una descarga purulenta o mucopurulenta a través de la vulva (Dubuc et al., 2010a). Cuando se realiza un examen vaginal de forma sistemática, entre el 5% y el 25% de las vacas presentan este tipo de descarga alrededor de las 4 y 5 semanas postparto (LeBlanc, 2014). Por otra parte, la **endometritis subclínica** implica la inflamación del endometrio sin signos clínicos aparentes y se caracteriza por presentar un aumento de polimorfonucleares neutrófilos (PMN) en el lumen del útero, con o sin acumulación de exudado uterino (Sheldon, 2009a). Resulta interesante mencionar que también se emplea el término **endometritis citológica** para referirse a los procesos que cursan con aumento del porcentaje de los PMN en la citología uterina (Dubuc et al., 2010a), pudiendo tratarse tanto de endometritis clínicas como subclínicas.

La **piómetra** se define como la acumulación de material purulento o mucopurulento en la luz uterina, que causa una distensión del útero y que está acompañada de un cuerpo lúteo (CL) activo. El cérvix se encuentra frecuentemente cerrado, aunque puede producirse cierta descarga purulenta a través de la vagina (Sheldon et al., 2006). La piómetra es relativamente infrecuente, suponiendo <5% de los casos clínicos de enfermedad uterina (Sheldon et al., 2008).

Las bacterias patógenas que con más frecuencia aparecen asociadas a las infecciones uterinas son *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum*, *Fusobacterium nucleatum* y *Prevotella* spp. (Bonnet et al., 1991; Sheldon et al., 2006; Carneiro et al., 2016). Cuando se produce una infección bacteriana, se desencadena una serie de cambios inmunes a nivel celular. En concreto, se activa la respuesta inmune innata, basada en los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) presentes en las células eucariotas, que son capaces de reconocer patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) y

patrones moleculares asociados a daños (DAMPs) (Takeuchi y Akira, 2010). Los PRR están presentes en las células inmunes (Herath et al, 2006) así como en las células epiteliales y estromales del endometrio (Carneiro et al, 2016). Estas células expresan receptores Toll-like (TLR), que se unen a los PAMPs producidos por las bacterias durante la infección. Los DAMPs son moléculas liberadas por las células necróticas en respuesta al daño tisular y activan una cascada de citoquinas que atraen PMN al útero en el postparto (Healy et al., 2014). Las bacterias producen PAMPs, incluyendo lipopolisacárido (LPS), lipopéptidos, flagelina y otras sustancias (Sheldon et al., 2019). Los efectos inflamatorios de *E. coli* y otras bacterias Gram-negativas están mediados por el LPS, una endotoxina que es el componente principal de su membrana celular (Herath et al., 2006; Trent et al., 2006). El LPS, que es el PAMP más estudiado, se une al complejo de receptores TLR4-CD14-MD2 presente en las células inmunes y endometriales (Herath et al., 2006; Sheldon et al., 2009a). Esta unión resulta en la translocación del factor nuclear kappa-B (NF-κB), lo que da lugar a la producción de citoquinas y quimiocinas proinflamatorias (Akira et al., 2006; Sheldon et al., 2009b), incluyendo las interleucinas IL-1α, IL-1β, IL-6, IL-8 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNFα) (Beutler et al., 2003; Herath et al., 2009; Ghasemi et al., 2012). Como consecuencia, se produce un reclutamiento a la zona de macrófagos y neutrófilos cuya función es la fagocitosis de las bacterias y la eliminación de los desechos celulares (Bromfield et al., 2015; Carneiro et al., 2016; Sheldon et al., 2019).

A nivel endometrial, la presencia de LPS estimula la producción de prostaglandina E2 (PGE2), que tiene un papel importante en la modulación de la respuesta inflamatoria (Cheon et al., 2006; Harizi y Gualde, 2006), en lugar de la prostaglandina F2α (PGF2α). Mientras que la PGF2α tiene efecto luteolítico, la PGE2 actúa como luteotrópica, lo que da lugar a fases lúteas prolongadas en las vacas con enfermedades uterinas (Herath et al., 2009; Sheldon et al., 2009b). El LPS, así como algunas citoquinas, actúan también sobre el eje hipotálamo-hipófisis-ovario, alterando la producción de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y la sensibilidad de la hipófisis a los pulsos de GnRH (Battaglia et al., 2000; Williams et al., 2001), suprimiendo la secreción de hormona luteinizante (LH).

Las células de la teca y de la granulosa expresan el complejo TLR4-CD14-MD2 (Herath et al., 2007; Magata et al., 2014), lo que sugiere que las células foliculares podrían responder al LPS. El LPS altera la actividad folicular mediante la supresión de la transcripción de enzimas esteroideogénicas, lo que deprime la síntesis de estradiol (Herath et al., 2007; Magata, 2020). Se ha observado una menor expresión de ARN mensajero (ARNm) de los receptores de gonadotropina, de LH en la teca y de hormona foliculoestimulante (FSH) en la granulosa en los folículos con alta concentración de LPS (Magata et al., 2014), lo que da lugar a una menor respuesta de los folículos a las gonadotropinas hipofisarias. Por otro lado, la reducción de la síntesis de estradiol en la fase preovulatoria da lugar a una menor producción de LH, lo que desemboca en anovulación o en un retraso en la ovulación (Suzuki et al., 2001; Gindri et al., 2019).

Se ha demostrado también un efecto perjudicial del LPS sobre el desarrollo y la competencia de los ovocitos (Asaf et al., 2014; Bromfield y Sheldon, 2011; Zhao et al., 2017). Además, se ha observado que los ovocitos madurados en presencia de LPS presentan un menor potencial de desarrollo al estadio de blastocisto (Magata y Shimizu, 2017) y una calidad embrionaria reducida (Jinagal et al., 2023). En las células de la granulosa, la apoptosis es el mecanismo subyacente en la pérdida celular durante la atresia folicular y es dependiente de la enzima caspasa-3 en los folículos antrales (Johnson y Bridgham, 2002). Se ha observado un mayor nivel transcripcional de caspasa-3 en folículos con alta concentración de LPS (Magata et al., 2014) y se ha reportado apoptosis en células de la granulosa aisladas de ovarios bovinos cultivadas con LPS (Bosu et al., 1996), por lo que la presencia de LPS en el líquido folicular podría estar asociada con la atresia folicular. Los efectos de la infección sobre la fertilidad persisten tras el proceso, ya que el desarrollo desde folículo primordial a la ovulación lleva aproximadamente 120 días. Por tanto, en las vacas inseminadas en los días 60-120 postparto, los ovocitos que se liberan durante la ovulación habrán comenzado su desarrollo en el postparto temprano, pudiendo haber estado expuestos a la enfermedad uterina (Sheldon et al., 2019). Por otro lado, Taru et al. (2024) estudiaron el fluido uterino y el tejido endometrial de vacas SRC y concluyeron que el ambiente uterino presentaba un estado inflamatorio. Además, en un modelo *in vitro*, observaron que el tratamiento de células endometriales epiteliales bovinas con el fluido uterino de vacas con SRC provocó la regulación positiva de vías y moléculas proinflamatorias, como la IL-8.

### 1.2.1.2 Endometritis subclínica (ES)

La ES está considerada como una de las causas del SRC (Janowski et al., 2013; Salasel et al., 2010). Sin embargo, su implicación en el síndrome no está clara y su incidencia reportada en vacas repetidoras es variable: 12,7% (Pothmann et al., 2015), 16,6% (Bedewy y Rahawy, 2019), 25,3% (Bogado Pascottini et al., 2017a), 29,4% (Singh et al., 2016), 40,2% (Janowski et al., 2013) y 52,7% (Salasel et al., 2010).

Las vacas afectadas por ES no presentan signos clínicos pero sí una marcada infiltración leucocitaria, principalmente de PMN (Molina-Coto y Lucy, 2018). La distocia, la retención de membranas fetales, los partos gemelares y las infecciones uterinas en el postparto aumentan la incidencia de la ES (Kasimanickam et al., 2004; Salasel et al., 2010; Lee et al., 2018). Diversos estudios han reportado los efectos negativos de la ES en el desempeño reproductivo, incluyendo un aumento del IPIF, la reducción de la TC y el aumento del número de inseminaciones por gestación (Kasimanickam et al., 2004; Gilbert et al., 2005; Salasel et al., 2010; Baranski et al., 2012; Lima et al., 2013; Lee et al., 2018). Sin embargo, Cheong et al. (2011) observaron un aumento del IPIF en vacas multíparas con ES pero no en primíparas, y algunos trabajos no han detectado efectos perjudiciales en la reproducción (Plöntzke et al., 2010; Carneiro et al., 2014; Prunner et al., 2014; Diaz-Lundahl et al., 2021).

La mayoría de los estudios realizados para determinar la prevalencia de la ES se han llevado a cabo en el postparto, con resultados muy variables, entre el 7% y el 53% (Arias et al., 2018). Esta variabilidad puede deberse al uso de técnicas diagnósticas distintas, al momento del postparto seleccionado para realizar el diagnóstico y/o al porcentaje de PMN que se establezca para considerar que la vaca es positiva a ES (Pothmann et al., 2015; Quintela et al., 2017). La prevalencia reportada en el momento de la primera IA fue similar en el caso de Bogado Pascottini et al. (2017b) y de Diaz-Lundahl et al. (2021), del 27,8% y el 28%, respectivamente.

La inflamación uterina desempeña un papel fisiológico en el útero de la vaca postparto y es un precursor clave de la involución temprana y de la reparación tisular (LeBlanc, 2014; Ryan et al., 2020). Durante las dos primeras semanas postparto se produce un aumento del número de PMN en el útero (Prunner et al., 2014), un proceso deseable ya que la migración rápida y robusta de PMN hacia el útero mejora la salud uterina y el posterior éxito reproductivo (Gilbert y Santos, 2016). Los PMNs son el mecanismo de defensa inmunológica principal en el útero (Zerbe et al., 2000; Baranski et al., 2012) y su función es necesaria para eliminar las infecciones bacterianas gracias a procesos de fagocitosis, oxidación, endocitosis y formación de trampas extracelulares de neutrófilos (LeBlanc, 2020; Lietaer et al., 2021).

Posteriormente, estas células deberían sufrir un proceso de apoptosis o de necrosis y eliminarse vía vaginal, reduciéndose su presencia en la luz uterina. Tras la eliminación de los patógenos, es importante que el animal controle la inflamación para favorecer la regeneración tisular (Chastant y Saint-Dizier, 2019). Si no se produce este proceso y, en su lugar, hay un reclutamiento persistente de PMN hacia el útero por parte de células inmunes disfuncionales, puede producirse daño celular endometrial y el desarrollo de enfermedades uterinas (Pascottini et al., 2017). Lietaer et al. (2023) observaron que los PMN endometriales de vacas con ES son viables pero su función está alterada (presentan una fagocitosis reducida), mientras que los de vacas sanas son mayoritariamente necróticos. La presencia de abundantes PMNs en la luz uterina tras la finalización del periodo de involución (5 semanas tras el parto) se ha asociado con subfertilidad (Wagener et al., 2017a; Lietaer et al., 2021) y un retraso en el reinicio de la actividad ovárica (Galvão et al., 2010; Dourey et al., 2011). Asimismo, la alteración del ambiente uterino debida a una respuesta inflamatoria excesiva del endometrio puede provocar infertilidad, ya que afecta a la calidad de los embriones (Hill y Gilbert, 2008; Hoelker et al., 2012) así como a la implantación embrionaria y/o a la placentación (Bromfield, et al. 2015). Se han relacionado las condiciones inflamatorias uterinas con una elevada expresión endometrial de mucina-1 (MUC1) (Kasimanickam et al., 2020), una glicoproteína que forma parte del moco y que en el endometrio actúa como barrera antiadhesiva y en la protección frente a microorganismos (Pluta et al., 2012). Es necesario que esta sea retirada para permitir la adhesión del trofoblasto al endometrio, por lo que una elevada expresión de MUC1 puede dificultar la implantación embrionaria y provocar fallos reproductivos (Kubota et al., 2021). Se ha sugerido también que las vacas SRC, tanto las que presentan ES como las que no, tienen comprometida su capacidad para inhibir la MUC1, lo

que puede resultar dar lugar al fallo reproductivo (Wagener et al., 2017b; Kasimanickam et al., 2020).

Uno de los factores que pueden contribuir al desarrollo de una respuesta inmunitaria e inflamatoria anormal es el estrés oxidativo propio del postparto (Miller et al., 1993; Sordillo y Aitken, 2009). En este periodo se produce un incremento del metabolismo del oxígeno que da lugar a un aumento de la tasa de producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Agarwal et al., 2005; Sordillo y Aitken, 2009). Cuando la producción de ROS es excesiva, la capacidad protectora de los mecanismos antioxidantes se ve sobrepasada y se produce daño tisular (Rizzo et al., 2012; Gilbert, 2019). Por otro lado, los procesos inflamatorios están regulados por los eicosanoides, unos mediadores lipídicos producidos por las células endoteliales y los leucocitos. En este sentido, se describe que puede producirse un proceso de inflamación descontrolada a causa de la combinación de una producción excesiva de eicosanoides proinflamatorios y una disminución de la síntesis de eicosanoides antiinflamatorios, lo que impide la resolución del proceso (Mattmiller et al., 2013). Varios estudios han descrito un aumento de la expresión de factores proinflamatorios en las vacas con ES en comparación con las vacas sanas (Gabler et al., 2009; Ghasemi et al., 2012; Janowski et al., 2013; Kasimanickam et al., 2013; Brodzki et al., 2015; Raliou et al., 2019).

En diversos estudios, el diagnóstico citológico de ES no ha sido asociado con la presencia de infección bacteriana en el útero (Baranski et al., 2012; Madoz et al., 2013; Fuentes et al., 2018) y se han observado diferencias entre el microbiota presente en el útero de vacas con ES y vacas con endometritis clínica (Madoz et al., 2013; Sens y Heuwieser, 2013; Prunner et al., 2014; Paiano et al., 2022). Además, empleando técnicas de secuenciación génica (ARNr 16S), se ha demostrado que la microbiota presente en el útero de vacas con ES es similar a la de las vacas sanas y difiere de la de las vacas con endometritis clínica (Wang et al., 2018; Pascottini et al., 2020b). Todo lo anterior sugiere que la ES tiene su origen en una alteración de los mecanismos de inflamación que persiste tras la eliminación de la contaminación bacteriana postparto o que se produce en ausencia de patógenos (Wagener et al., 2017a; Quintela et al., 2018; Pascottini et al., 2020b; LeBlanc, 2023).

Durante el periodo de transición se producen una serie de alteraciones metabólicas que pueden favorecer el desarrollo de diversas patologías. Se ha sugerido que la ES puede ser el resultado de una mala adaptación a este periodo, lo que da lugar a una disfunción inmune (Pascottini et al., 2023). Al inicio de la lactación, las vacas lecheras experimentan un aumento de las necesidades energéticas que, unido a la reducción de la ingesta de materia seca en el periparto, da lugar a un balance energético negativo (BEN) (Butler, 2003; LeBlanc, 2010). Durante el BEN se produce una respuesta adaptativa caracterizada por la movilización de las grasas (Chilliard et al., 1998), liberándose ácidos grasos no esterificados (NEFA) al torrente sanguíneo. Estos NEFA son empleados como fuente de energía en los tejidos y se metabolizan en el hígado, produciendo un aumento sérico de cuerpos cetónicos, incluyendo el ácido  $\beta$ -hidroxibutírico (BHBA) (LeBlanc, 2010), o almacenados en forma de triglicéridos, lo que afecta a la función hepática (Mulligan y Doherty, 2008). Los NEFA alteran la función de

los PMN (Hammon et al., 2006; Ster et al., 2012; Scalia et al., 2016) y pueden unirse a los receptores TLR e inducir la producción de citoquinas proinflamatorias (Zhang et al., 2018; LeBlanc, 2020). Varios estudios han asociado el desarrollo de ES en vacas postparto a niveles elevados de NEFA (Hammon et al., 2006; Galvão et al., 2010; Bogado Pascottini y LeBlanc, 2020; Lietaer et al., 2023) y de BHBA (Hammon et al., 2006; Dubuc et al., 2010b; Galvão et al., 2010; LeBlanc, 2010; Wagener et al., 2017a; Pascottini y LeBlanc, 2020; Lietaer et al., 2023; Yáñez et al., 2022). Sin embargo, algunos estudios no han encontrado asociación entre esos marcadores y la ES (Burke et al., 2010; Senosy et al., 2012). La respuesta adaptativa al BEN provoca también una reducción de la glucosa y del factor de crecimiento insulinoide 1 (IGF-1) (Butler, 2003; Wathes et al., 2009), y se sabe que los bajos niveles de glucosa alteran la función inmunitaria, ya que los PMN la necesitan como fuente de energía para la quimiotaxis y la fagocitosis (Galvão, 2012). Se han reportado niveles más bajos de glucosa (Senosy et al., 2012) y de IGF-1 (Kasimanickam et al., 2013; Bogado Pascottini y LeBlanc, 2020) en vacas postparto con ES en comparación con vacas sanas.

Por otra parte, el calcio es necesario para una correcta expulsión placentaria (Kimura et al., 2002) y para el adecuado funcionamiento de los PMN (Galvão, 2012). Debido a que las demandas de calcio para la producción de leche son muy elevadas en el periparto, durante este periodo aumenta el riesgo de aparición de hipocalcemia. Esta se ha asociado a un retraso en la involución uterina y a la retención placentaria (Melendez et al., 2004), así como a una mayor incidencia de enfermedades uterinas (Martinez et al., 2012). Se han reportado niveles bajos de calcio sérico en la semana previa al parto en vacas que después desarrollaron ES (Pascottini y LeBlanc, 2020).

Por otro lado, la ES parece estar asociada a niveles elevados en el postparto de haptoglobina (Hp) y proteína amiloide sérica A (SAA) (Cecilianí et al., 2012), proteínas de fase aguda que sirven como marcadores de la inflamación en vacas (Dubuc et al., 2010b; Brodzki et al., 2015; Foley et al., 2015; Pascottini y LeBlanc, 2020). Por otra parte, las concentraciones de albúmina se reducen tras el daño tisular (Fleck, 1989) y niveles bajos de la misma se han asociado a disfunción hepática (Burke et al., 2010). En este sentido, se han detectado niveles más elevados de albúmina sérica en vacas sanas en comparación con vacas diagnosticadas con ES (Burke et al., 2010; Pascottini y LeBlanc, 2020; Yáñez et al., 2022). Yáñez et al. (2022) observaron la asociación de altos niveles séricos de urea con una reducción del %PMN y, por tanto, de las probabilidades de desarrollo de ES, mientras que Senosy et al. (2012) observaron niveles menores de urea en vacas diagnosticadas con ES durante las semanas 5, 6 y 7 postparto.

Se han estudiado diversos factores de riesgo que podrían estar relacionados con la ES. Los partos distócicos, la enfermedad uterina postparto y la retención placentaria se han asociado con mayores incidencias de ES (Kasimanickam et al., 2004; Salasel et al., 2010). En lo que respecta a la asociación de la producción láctea con la ES, los resultados obtenidos son variables. En algunos estudios se ha relacionado una baja producción láctea con el diagnóstico de ES (Burke et al., 2010; McDougall et al., 2011), mientras que en otros se ha

observado una incidencia más alta en vacas con mayores producciones (Pascottini et al., 2017). Cheong et al. (2011) observaron una combinación de la producción láctea con el número de parto, reportando un aumento de la incidencia de ES en vacas primíparas de alta producción, mientras que en las multíparas el riesgo se reducía. Galvão et al. (2010) reportaron una menor producción láctea en vacas multíparas con ES, pero no observaron diferencias entre las vacas primíparas sanas y las que desarrollaron la condición. El efecto de la estación del año también ha sido estudiado; por un lado, se ha reportado un aumento de la incidencia de ES en el momento de la IA durante el verano (Pascottini et al., 2017), mientras que otros estudios no han observado este efecto (Prunner et al., 2014) o han reportado menor riesgo de aparición de ES en primavera y verano que en invierno (Diaz-Lundahl et al., 2021). Esta variabilidad puede deberse a las diferencias climáticas entre zonas geográficas. En lo referente al tipo de estabulación, los resultados son contradictorios. Mientras que Diaz-Lundahl et al. (2021) notaron una reducción del riesgo de ES en vacas lecheras en plaza fija, Prunner et al. (2014) describieron el efecto contrario. Una baja condición corporal en el parto se ha asociado con un mayor riesgo de ES en numerosos estudios (Dubuc et al., 2010b; McDougall et al., 2011; Senosy et al., 2012; Priest et al., 2013; Carneiro et al., 2014). También se ha reportado que un intervalo parto-primera inseminación corto se ha relacionado con una mayor probabilidad de detección de ES (Diaz-Lundahl et al., 2021), mientras que en vacas inseminadas a partir de los 123 días en leche (DEL) el riesgo era significativamente menor (Pascottini et al., 2017).

#### 1.2.1.2.1 Diagnóstico

Los métodos diagnósticos de rutina basados en la inspección de la vulva y la presencia de contenido purulento o mucopurulento en la luz uterina, como el uso de ecógrafo, vaginoscopio, mano enguantada o *Metrichheck*, permiten diagnosticar la endometritis clínica, pero algunos de ellos no son útiles en el caso de la ES debido a la ausencia de secreciones en esta patología (Quintela et al., 2017; Pothmann et al., 2015). Por ello, para el diagnóstico de la ES está indicado el empleo de la ecografía, la citología endometrial y la biopsia uterina (Kasimanickam et al., 2004; Sheldon et al., 2006; Barlund et al., 2008).

#### *Ecografía*

La ecografía es una técnica ampliamente empleada en el diagnóstico de alteraciones reproductivas por su facilidad de uso y su naturaleza no invasiva (Polat et al., 2015). Esta técnica permite el diagnóstico mediante la identificación de contenido en la luz uterina, así como incremento del diámetro del útero. Sin embargo, teniendo en cuenta que la ES cursa con ausencia de exudado uterino o con una reducida cantidad del mismo, la ecografía por sí sola no es un método fiable para su diagnóstico (Kasimanickam et al., 2004; Sheldon et al., 2006). Los resultados de la ecografía se deberían combinar con los de la

citología endometrial para hacer un diagnóstico acertado (Barlund et al., 2008). Además, existen situaciones fisiológicas en las que el diámetro del útero puede variar y aparecer una cierta cantidad de fluido en la luz, como el estro y el postparto, lo que podría afectar al diagnóstico ecográfico (Quintela et al., 2017). Guido et al. (2020) obtuvieron una fuerte correlación entre la perfusión endometrial evaluada mediante ecografía Doppler color y el porcentaje de PMN, por lo que concluyeron que el uso de esta técnica es eficiente para el diagnóstico de la ES.

### ***Citología***

La citología endometrial se emplea frecuentemente en el diagnóstico de la ES. Es una técnica rápida, específica y tiene un bajo coste (Gilbert et al., 2005). Existen principalmente tres métodos para la obtención de muestras citológicas: *cytobrush* (Raab et al., 2003; Kasimanickam et al., 2004), lavado uterino (Gilbert et al., 2005; Sheldon et al., 2006) y, más recientemente, *cytotape* (Pascottini et al., 2015):

#### **a.Cytobrush**

La toma de muestras mediante *cytobrush* consiste en la introducción a través de la vagina y el cérvix de un cepillo de pequeñas dimensiones insertado en un catéter, haciéndolo rotar en la pared uterina una vez que ha alcanzado el cuerpo uterino (Kasimanickam et al., 2004). Posteriormente, el *cytobrush* se rueda sobre un portaobjetos y la muestra se tiñe para su examen al microscopio. Durante la introducción y extracción del cepillo, este se mantiene dentro del catéter para evitar contaminaciones a nivel vaginal y/o cervical. La técnica del *cytobrush* es más fácil, más consistente y permite obtener resultados más rápidos que el lavado uterino, además de ocasionar menor distorsión celular (Kasimanickam et al., 2005a). Los frotis endometriales se evalúan mediante microscopía para determinar la proporción de PMN sobre el total de células nucleadas de la muestra, y esta ratio expresada como porcentaje se utiliza para clasificar a las vacas como sanas o con ES (Baranski et al., 2012). Durante los primeros días postparto, el porcentaje de PMN en el útero es elevado pero, a medida que se completa la involución uterina, éste se va reduciendo. Se han establecido diferentes puntos de corte en función de los días postparto en que se realice la prueba. Kasimanickam et al. (2004) establecieron el punto de corte en >18% PMN de 20 a 33 días postparto y >10% PMN de 34 a 47 días postparto. Para las vacas entre 21 y 62 días postparto se ha establecido un punto de corte de 5% PMN (Gilbert et al., 2005; Madoz et al., 2013). Diversos estudios han utilizado como referencia el umbral de 5% PMN para el diagnóstico de la ES a partir de la 5ª semana postparto (Raab et al., 2003; Gilbert et al., 2005; Plöntzke et al., 2010).

Aunque pueden producirse variaciones fisiológicas durante el ciclo estral en el porcentaje de PMN, estas no son significativas como para dar lugar a falsos positivos en el diagnóstico de la ES mediante la técnica del *cytobrush* (Madoz et al., 2013).

### **b. Lavado uterino**

La obtención de muestras para citología se puede realizar mediante el lavado uterino con suero salino (Kasimanickam et al., 2005a). Tras introducir 60 ml de esta solución en el cuerpo uterino, este se masajea y se recupera el líquido, que posteriormente se centrifuga. Se extiende una gota del sedimento en un portaobjetos y se tiñe para su evaluación por microscopía. Esta técnica tiene la ventaja de obtener células de toda la superficie endometrial, mientras que el *cytobrush* obtiene células de un punto determinado. Sin embargo, este método requiere más tiempo y la cantidad de glóbulos rojos de la muestra tiende a ser mayor. Además, los posibles daños en el útero debido a la manipulación pueden alterar los resultados obtenidos (Kasimanickam et al., 2005a). Los puntos de corte empleados para el diagnóstico de la SE mediante esta técnica son igualmente variables. Para muestras tomadas entre 40 y 60 días postparto, Gilbert et al. (2005) establecieron >5% PMN como punto de corte para determinar un diagnóstico positivo, mientras que otros autores han empleado umbrales más restrictivos: >10% PMN según Cheong et al. (2011). Barlund et al. (2008) utilizaron >8% PMN para muestras tomadas entre 28 y 41 días postparto y, en cambio, Hammon et al. (2006) establecieron un punto de corte de >25% PMN en muestras obtenidas de 25 a 31 días postparto.

### **c. Cytotape**

Pascottini et al. (2015) desarrollaron una técnica para la obtención de muestras mediante un papel adhesivo enrollado en la punta de un catéter para inseminación artificial (IA). Los resultados fueron similares a los obtenidos mediante el uso de *cytobrush* en cuanto a celularidad total y porcentaje de PMN, pero observaron que la fragmentación celular era menor, así como la contaminación con glóbulos rojos. Los autores también señalan la ventaja de poder realizar la toma de muestras a través de esta técnica en el momento de la IA, colocando la cinta adhesiva en el catéter. En estudios realizados en el momento de la IA mediante esta técnica, el punto de corte empleado por Bogado Pascottini et al. (2017b) para el diagnóstico de ES fue de  $\geq 1\%$  PMN, mientras que Diaz-Lundahl et al. (2021) tomaron como referencia  $\geq 3\%$  PMN.

### ***Tiras reactivas de esterasa leucocitaria***

Se ha planteado la posibilidad de emplear tiras reactivas de urianálisis para el diagnóstico de la ES (Cheong et al., 2012; Couto et al., 2013; Denis-Robichaud y Dubuc, 2015). Estas tiras permiten la detección de la esterasa leucocitaria, una enzima producida por los neutrófilos, por lo que pueden servir como un método indirecto para el diagnóstico de inflamación. Se pueden emplear en muestras obtenidas por lavado uterino o por *cytobrush*, sumergiéndolo durante 30 segundos en solución salina e introduciendo las tiras posteriormente en la solución (Quintela et al., 2017). La correlación de este método con los resultados de la citología endometrial es variable. Cheong et al. (2012) observaron una sensibilidad del 77% y una especificidad del 52%, mientras que Santos et al. (2006) reportaron una sensibilidad del 96% y una especificidad del 98%. La modificación de estas tiras para optimizar el diagnóstico de la endometritis bovina permitiría su empleo como herramienta diagnóstica en granja (Cheong et al., 2012; Asfar et al., 2021).

### ***Biopsia uterina***

La biopsia endometrial se ha utilizado ampliamente en el diagnóstico de las alteraciones reproductivas en yeguas (Chapwanya et al., 2010). En vacas, la biopsia endometrial y el estudio histopatológico son un método útil que aporta información más detallada sobre el grado de inflamación y las lesiones uterinas (Gilbert et al., 2005; Meira et al., 2012) y debe considerarse el gold standard para el diagnóstico de la ES (Fuentes et al., 2018). Sin embargo, su empleo en vacas lecheras es reducido debido a su elevado coste, a que es un procedimiento invasivo y que requiere de mucho tiempo (Gilbert et al., 2005; Sheldon et al., 2006), sumado a la posibilidad de afectar negativamente a la reproducción (Bonnet et al., 1993; Ahmadi et al., 2005). No obstante, se ha observado que cuando se realiza de forma apropiada y tras la finalización de la involución uterina, esta técnica no afecta al rendimiento reproductivo posterior de las vacas lecheras (Chapwanya et al., 2010; Goshen et al., 2012).

## **1.2.2 Alteraciones hormonales**

Existen diversos desequilibrios hormonales que afectan a la función reproductiva y que han sido estudiados como causas del SRC.

### **1.2.2.1 Progesterona (P4)**

La deficiencia lútea provoca una **reducción en los niveles de P4** y afecta negativamente a la fertilidad (Dar et al., 2017; Diskin y Morris, 2008; Pérez-Marín, 2012), ya que la P4 regula el desarrollo del embrión (Garret et al., 1988; Mann et al., 1998) mediante la estimulación de las secreciones uterinas que regulan su crecimiento (Geisert et al., 1992).

Estas secreciones endometriales son particularmente importantes en las vacas, ya que presentan un prolongado periodo de preimplantación previo a la placentación (Spencer y Bazer, 2002). La P4 es necesaria para el mantenimiento de un ambiente uterino adecuado y para facilitar la elongación del embrión, lo que da lugar a una adecuada secreción de interferón-tau (IFNT) y favorece el mantenimiento de la gestación (Mann y Lamming, 2001; Clemente et al., 2009). El IFNT anula el mecanismo luteolítico uterino para asegurar el mantenimiento de un cuerpo lúteo funcional (Mann y Lamming, 1995; Diskin y Morris, 2008), por lo que las bajas concentraciones de P4 circulante tras la ovulación se han asociado con reducciones en el crecimiento y elongación del embrión, una disminución de la producción de IFNT y menores TC en las vacas (Lonergan y Sánchez, 2020).

El volumen de tejido lúteo y el número y función de las células luteales grandes son factores primarios que determinan la producción de P4 (Wiltbank et al 2014). Los bajos niveles de P4 tras la concepción se han asociado con una reducción de la supervivencia embrionaria (McNeill et al., 2006; Forde et al., 2011). Además de los niveles reducidos en los días posteriores a la IA, el retraso en el aumento de la P4 durante los días 4 y 5 post-ovulación se ha asociado con reducciones en la tasa de preñez (Stronge et al., 2005). Por el contrario, como ya se ha comentado, el aumento rápido de la P4 tras la concepción estimula el crecimiento de los blastocistos y el desarrollo de embriones competentes (Lonergan et al., 2007). Varios estudios han relacionado los niveles reducidos de P4 en leche, así como un retraso en su aumento en los 5 días post-IA, con una reducción en la fertilidad en vacas con SRC (Ghanem et al., 2006; Kasrija et al., 2006; Kendall et al., 2009) y se han reportado niveles plasmáticos menores de P4 en vacas con SRC en comparación con vacas fértiles (Barui et al., 2015; Widayati et al., 2019; Husnurrizal et al., 2021; Perumal et al., 2021; Sultana et al., 2022).

Por otro lado, hay que tener en cuenta que la P4 induce la regulación negativa de MUC1 en las células endometriales bovinas, lo que puede impedir o alterar la implantación embrionaria, incrementando las pérdidas de gestación (Kubota et al., 2021).

Asimismo, una alta concentración de P4 durante el crecimiento del folículo ovulatorio se ha relacionado con una mejor calidad de los ovocitos y tasa de preñez (Lonergan, 2011) y bajos niveles de P4 durante el ciclo inmediatamente anterior a la IA se han asociado con una baja tasa de supervivencia embrionaria (Diskin y Morris, 2008). Los niveles bajos de P4 reducen la frecuencia de los pulsos de LH, lo que origina la formación de folículos grandes persistentes, así como una secreción aumentada de estradiol-17 $\beta$  y una reducción de la fertilidad (Bergfeld et al., 1996; Sánchez et al., 1995; Inskeep, 2004). El deterioro de la fertilidad se debe a que los ovocitos procedentes de folículos dominantes persistentes grandes están envejecidos y son menos fértiles que los procedentes de folículos pequeños (Austin et al., 1999; Diskin y Morris, 2008).

Los bajos niveles de P4 en vacas de alta producción pueden deberse a una reducida secreción por parte del cuerpo lúteo o a un metabolismo aumentado de la P4 secretada

(Inskeep, 2004). En las vacas lecheras de alta producción, la ingesta de materia seca es elevada, lo que provoca un aumento del flujo sanguíneo hepático (Sangsritavong et al., 2002) que, a su vez, aumenta el metabolismo de la P4 y estradiol, que es 2,3 veces mayor en vacas lactantes en comparación con las no lactantes. Esto da lugar a concentraciones de esteroides circulantes mucho menores (Wiltbank et al., 2014), lo que afecta negativamente a la manifestación del comportamiento de celo y al mantenimiento de la gestación. Rizos et al. (2010) reportaron una menor capacidad para el desarrollo de los embriones en los primeros 7 días en vacas en lactación en comparación con novillas, posiblemente a consecuencia de unas concentraciones circulantes de P4 menores en el ambiente uterino.

Pero también **niveles suprabasales de P4** en el momento de la IA se han relacionado con una reducción en la TC (Båge et al., 2003; Ghanem et al., 2006; Wiltbank et al., 2014). Los niveles suprabasales de P4 pueden producirse por una luteolisis incompleta y provocan alteraciones en la producción de LH y la consiguiente ovulación (Duchens et al., 1994). En estas condiciones, el periodo de dominancia folicular se alarga y se liberarán ovocitos envejecidos, que dan lugar a embriones de peor calidad, con TC reducidas (Mihm et al., 1999; Cerri et al., 2009). Se han reportado niveles elevados de P4 durante el estro en novillas repetidoras (Båge et al., 1997) y en vacas repetidoras (Dadarwal et al., 2005; Niyas et al., 2019), que podrían ser los causantes de una asincronía hormonal y un retraso posterior en la ovulación (Duchens et al., 1996; Gustafsson y Emanuelson, 2002). El retraso en la ovulación tras el estro reduce las posibilidades de éxito de la fecundación (Bloch et al., 2006) y tanto el estro prolongado como un periodo estro-ovulación prolongado se han considerado causas potenciales de repetición de celos (Sood et al., 2015). Se ha observado un periodo más prolongado entre el comienzo del celo y la ovulación en vacas con SRC en comparación con vacas control (Singh et al., 2005; Niyas et al., 2019). Además, se ha descrito que las tasas de preñez en vacas repetidoras mejoran cuando las inseminaciones se repiten cada 6 horas desde el inicio del celo hasta la ovulación espontánea (Singh et al., 2005) y mediante la realización de 2 o 3 inseminaciones en intervalos de 24 horas (Bhattacharyya y Hafiz, 2009). Tanto la ovulación retardada o asincrónica como la anovulación pueden provocar infertilidad y son causa del SRC (Parmar, 2015; Lim y Yoon, 2018). Los datos reportados sobre la incidencia de estas alteraciones son variables: Das et al. (2007) observaron un 26,7% de anovulaciones y un 29,3% de ovulaciones retardadas en vacas con SRC, mientras que Bhat y Bhattacharyya (2012) reportaron un 10% de anovulaciones y un 22,5% de ovulaciones retardadas en vacas repetidoras. Zobel et al. (2013) observaron un 18,2% de anovulaciones y un 18,4% de ovulaciones retardadas en vacas con problemas reproductivos. La incidencia de anovulación reportada en vacas lecheras en general varía del 3,4% al 6,7% (Hansen, 2020), aumentando hasta el 12,4% en periodos de estrés calórico, durante los que se ha observado un riesgo 3,9 veces mayor de fallo ovulatorio (López-Gatiús et al., 2005).

Se pueden realizar tests para determinar la concentración de P4 y evaluar la función ovárica. Las técnicas más frecuentes para la medición de esteroides en fluidos biológicos son el inmunoensayo enzimático (ELISA) y el radioinmunoensayo (RIA) (Pérez-Marín et al., 2012). A nivel clínico se pueden determinar los niveles de P4 en plasma o en leche (López-

Gatius y García-Ispierto, 2022). A principios de la década de 2010 comenzó a incluirse en algunos robots de ordeño un sistema de análisis automatizado (Herd Navigator, DeLaval) que determina el nivel de P4 en leche mediante un test ELISA (Mazeris, 2010). Este sistema realiza mediciones a intervalos frecuentes y permite el diagnóstico de gestación con alta precisión en base al perfil de P4 así como la identificación temprana de las vacas no gestantes (Bruinjé y Ambrose, 2019). Por otro lado, el empleo de la ecografía Doppler podría aportar información sobre el flujo sanguíneo en el CL, que se considera un potente indicador de la función lútea (Lüttgenau y Bollwein, 2014).

Se ha reportado una expresión de celo más intensa en vacas SRC, así como niveles más elevados de estradiol que en vacas fértiles, pero un diámetro folicular similar en ambos grupos (Sood et al., 2015). En el mismo estudio, las vacas SRC mostraron un proestro corto y un patrón de secreción moderado de LH, especialmente antes del pico de LH, lo que podría estar relacionado con el fallo reproductivo. Por otro lado, se han detectado concentraciones más elevadas de estradiol en el líquido folicular de vacas SRC en comparación con vacas sanas, pero niveles similares de androstenediona y P4 (Sood et al., 2017). Tras la obtención de ovocitos mediante *ovum pick-up* en vacas SRC y vacas fértiles, Sood et al. (2017) no observaron diferencias en el número de folículos aspirados por sesión, la tasa de recuperación de ovocitos o la tasa de división, pero la producción de blastocistos fue marcadamente reducida en el primer grupo. Concluyeron que el SRC está ligado, al menos en parte, a fallos en la foliculogénesis, lo que altera la competencia de los ovocitos, reduce la probabilidad de fecundación y disminuye el desarrollo embrionario.

### 1.2.2.2 Hormona anti-Mülleriana (AMH)

La AMH es una glicoproteína de la superfamilia de los factores de crecimiento transformantes- $\beta$  (Knight y Glister, 2006) sintetizada en las células de la granulosa de los folículos preantrales y los folículos antrales pequeños (Durlinger et al., 2002). Esta hormona es un marcador endocrino fiable de la reserva ovárica (Ireland et al., 2008; Rico et al., 2009) que, a su vez, se ha asociado con el número de folículos presentes en todos los estadios de la foliculogénesis, la función ovárica y ciertas medidas de fertilidad (Jimenez-Krassel et al., 2009; Ribeiro et al., 2014). El recuento de folículos antrales (RFA) es un biomarcador asociado positivamente con la función ovárica y la fertilidad (Mossa et al., 2012; Jimenez-Krassel et al., 2015). Se ha reportado una alta correlación positiva entre el RFA y la AMH (Ireland et al., 2008; Baruselli et al., 2015; Cardoso et al., 2018). La AMH se ha estudiado en relación a la selección de vacas donantes de embriones, ya que se ha demostrado que los niveles séricos de esta hormona están correlacionados con la cantidad de folículos sensibles a gonadotropinas y, por tanto, son un parámetro fiable para predecir la respuesta superovulatoria (Rico et al. 2009; Souza et al. 2015; Soquila y Mingala, 2017). Bajos niveles de AMH y/o RFA se han asociado con una disminución de la fertilidad en vacas (Ribeiro et al., 2014; Baruselli et al., 2015), que puede estar relacionada con una peor calidad de los ovocitos, una menor sensibilidad de las células de la teca, de la granulosa y luteales a FSH y

LH, reducida competencia de desarrollo embrionario y una concentración de P4 menor durante el ciclo estral (Ireland et al., 2009; Jimenez-Krassel et al., 2009; Rico et al., 2009; Mossa et al., 2010; Sakaguchi et al., 2018). Algunos autores describen que los animales con mejor rendimiento reproductivo son aquellos con concentraciones intermedias de AMH, y cuando se presentan niveles séricos bajos y altos de esta hormona, la fertilidad es menor; asimismo, el porcentaje de SCR es más elevado en vacas con niveles bajos de AMH (Akbarinejad et al., 2020). Kekan et al. (2020) midieron la concentración de AMH en el día 7, 14 y 21 del ciclo estral de búfalas sanas y con SRC, y obtuvieron valores más bajos en el grupo de repetidoras, aunque la diferencia no fue significativa. Debido a que se trata de un rasgo moderadamente hereditario, la AMH se podría emplear para mejorar la selección genética y el éxito reproductivo de las vacas lecheras (Jazmín et al., 2023).

### **1.2.2.3 Factor de crecimiento epidérmico (EGF)**

El EGF es una proteína implicada en el crecimiento, proliferación y diferenciación celular de varios tejidos (Takatsu et al., 2018), así como en el establecimiento de la gestación (Paria et al., 2001). El EGF se produce en el endometrio bovino y está implicado en la regulación de la función uterina y el desarrollo embrionario (Katagiri y Takahashi, 2004). Las concentraciones de este factor de crecimiento en el endometrio presentan cambios durante el ciclo estral y la alteración de este patrón cíclico puede reducir la fertilidad en las vacas lecheras (Katagiri et al., 2013). En las vacas normales, el EGF presenta dos picos, en los días 2-4 y 13-14 del ciclo estral, con una reducción de la concentración alrededor del día 7 (Katagiri y Takahashi, 2004). En un estudio que incluyó 437 vacas receptoras de embriones se observó que aquellas que presentaban una concentración baja de EGF en el día 3 del ciclo tuvieron una TC menor que las que tenían concentraciones de EGF en el rango de la normalidad (33,3% frente a 76,9%) tras la transferencia embrionaria, lo que indica una influencia del perfil de EGF sobre la fertilidad (Katagiri y Moriyoshi, 2013). En este sentido, se ha demostrado una alteración del perfil de EGF en las vacas con SRC, que presentan concentraciones reducidas los días 3 y 14 del ciclo en comparación con vacas fértiles (Katagiri y Takahashi, 2006). Esto puede deberse a las alteraciones en la producción de hormonas esteroideas en estas vacas, ya que estas hormonas regulan la expresión de los factores de crecimiento en el endometrio (Katagiri y Moriyoshi, 2013). Esta alteración se ha descrito en vacas SRC durante varios ciclos estrales seguidos y se ha reportado que el tratamiento con benzoato de estradiol junto a un dispositivo intravaginal de liberación de P4 en estos animales conlleva la restauración de los niveles normales de EGF y una mejora en la fertilidad (Katagiri y Takahashi, 2008).

### **1.2.3 Defectos anatómicos**

Las técnicas rutinarias que incluyen la exploración de las estructuras genitales externas, la palpación rectal y la ecografía permiten detectar defectos anatómicos del tracto

reproductivo. A pesar de que la mayoría de las alteraciones anatómicas del aparato reproductor son fácilmente detectables mediante estas técnicas, la detección de la oclusión oviductal resulta complicada. Esto se debe a que los métodos diagnósticos habituales permiten evidenciar alteraciones severas en las que los oviductos estén engrosados, inflamados o adheridos (Garrido et al., 2019; Shivhare et al., 2012), mientras que las lesiones leves son difíciles de identificar y los oviductos ocluidos son normales a nivel macroscópico en muchos casos (Kessy y Noakes, 1985; Shivhare et al., 2012).

El transporte de gametos y embriones no es la única función del oviducto, sino que también crea un ambiente que facilita la maduración final de los gametos, la fecundación y el desarrollo embrionario temprano (Killian, 2011; Rizos et al., 2016). Por tanto, las alteraciones en el oviducto provocan la oclusión o estenosis del lumen impidiendo la fecundación, o alteran el ambiente oviductal afectando a la supervivencia embrionaria, pudiendo causar infertilidad o esterilidad (Mohammed et al., 2015; Gautam et al., 2021). Además de limitar el movimiento de los gametos, estas condiciones dificultan el paso del embrión al útero, en caso de producirse la fecundación (Pérez-Marín y Quintela, 2023).

Las alteraciones congénitas de los oviductos incluyen la aplasia total, la aplasia segmentaria y la presencia de oviductos accesorios (Kessy y Noakes, 1985). Las patologías oviductales adquiridas, incluyendo salpingitis, hidrosálpinx, piosálpinx, adherencias y oclusiones, se han observado principalmente en estudios postmortem con órganos recuperados en matadero (Kessy y Noakes, 1985; Azawi, 2008; Ferreira et al., 2008; Stephani de Souza et al., 2010; Mekibib et al., 2013). La **salpingitis** es la inflamación de los oviductos y la incidencia reportada es variable: 0,45% (Hatipoglu et al., 2002), 1% (Simenew et al., 2011) y 9,15% (Mohammed et al., 2015). Y una complicación habitual de esta patología es el **piosálpinx**, caracterizada por la presencia de pus en el interior de los oviductos, que alcanza incidencias del 0,2% al 4,2% (Khasatiya et al., 1998; Azawi, 2009; Simenew et al., 2011; Mekibib et al., 2013; Mohammed et al., 2015). Owthor et al. (2019) demostraron que la salpingitis altera drásticamente la interacción esperma-oviducto, comprometiendo la fecundación y reduciendo la fertilidad. La salpingitis y el piosálpinx se deben principalmente a infecciones bacterianas y se ha observado una correlación entre las bacterias aisladas en el útero y en el piosálpinx, lo que podría indicar su relación con infecciones uterinas ascendentes (Azawi, 2009). Karstrup et al. (2017) estudiaron los aparatos genitales de 21 vacas con piómetra y reportaron que en 18 de los casos tenían también salpingitis, aunque sin una invasión bacteriana significativa de la pared oviductal. El **hidrosálpinx** es la acumulación de líquido en el interior de los oviductos como consecuencia de una obstrucción y provoca la distensión del oviducto y el adelgazamiento de la pared. La incidencia observada en los diversos estudios es variable: del 0,35% al 6,9% (Kessy y Noakes, 1985; Khasatiya et al., 1998; Hatipoglu et al., 2002; Saini et al., 2008; Mekibib et al., 2013; Skovorodin et al., 2022). Azawi (2009) no observó una correlación entre los cultivos bacterianos uterinos y el hidrosálpinx en el estudio de aparatos genitales de búfalas.

Por otro lado, las **adherencias** de los oviductos con las estructuras adyacentes pueden ser resultado de otras patologías y dificultan la captación de los ovocitos por la fimbria. Los diferentes estudios han reportado una frecuencia de esta alteración del 0,74% al 6,85% (Kessy y Noakes, 1985; Simenew et al, 2011; Mekibib et al., 2013; Mohammed et al., 2015; Millward et al., 2019).

En el caso de las **obstrucciones tubáricas**, la permeabilidad de los oviductos está alterada, aunque en muchos casos estos puedan parecer normales. La incidencia reportada de las oclusiones oviductales es muy variable, desde el 0,25% al 37,8% (Khasatiya et al, 1998; Saini et al., 2008; Azawi, 2009; Mekibib et al, 2013; Mohammed et al., 2015). Varios estudios han empleado especímenes procedentes de matadero para la evaluación de la permeabilidad tubárica. Stephani de Souza et al. (2010) estudiaron los aparatos genitales de 150 vacas y detectaron alteraciones en la permeabilidad en el 21,4% de los oviductos, bilateral en la mitad de los casos. En este estudio se reportó que el 60,4% de los oviductos no permeables tenían una apariencia macroscópica normal. Ferreira et al. (2008) evaluaron la permeabilidad de los oviductos de vacas de raza cárnica con SRC mediante la perfusión de una solución de cloruro de sodio al 0,9% con azul de metileno al 1% y detectaron que el 29,8% presentaban algún grado de oclusión, por lo que las disfunciones oviductales podrían tener un papel en el síndrome. Por otro lado, Annie et al. (2022) emplearon la misma técnica para el diagnóstico de la obstrucción oviductal evaluando los órganos de 100 vacas lecheras con problemas de fertilidad y detectaron obstrucción unilateral en solo 3 casos. Sin duda, el análisis de la incidencia de este tipo de patologías resulta complejo, como se refleja en el bajo tamaño muestral de estos estudios.

Sin embargo, se dispone de pocos datos recogidos en estudios *in vivo* de la permeabilidad oviductal, debido a la dificultad y/o coste que conllevan las técnicas para su evaluación. Se han empleado test de **insuflación tubárica** que pueden realizarse mediante la introducción de gas o de una solución salina a través del útero (Shivhare et al., 2012). El **test de Rubin** consiste en la introducción de gas a través de un catéter para estudiar su avance por los oviductos mediante la palpación transrectal y el uso de un manómetro situado en la parte externa de la sonda (Kawata y Koike, 1959). En otros casos se ha optado por realizar **hidrotubación**, que consiste en la introducción de una solución salina o de medicaciones líquidas con el fin de hacerlas avanzar por los oviductos y detectar o tratar posibles obstrucciones (Khasatiya et al., 1998). La **histerosalpingografía** (HSG) se ha empleado ampliamente en medicina humana y consiste en el estudio radiográfico del útero y los oviductos tras la introducción de un medio de contraste, mientras que la **sonosalpingografía** se ha empleado también en mujeres para el diagnóstico de la permeabilidad oviductal mediante el uso de una solución salina y un posterior estudio ecográfico (Tüfekçi et al., 1992). Y otro método de diagnóstico de permeabilidad tubárica ha sido la **chromopertubación** tubárica, que consiste en la introducción de azul de metileno al 2,5% a través de un catéter Foley en cada cuerno uterino y la observación, mediante laparoscopia, del paso de la tinción a través de los oviductos, así como su salida a nivel de la fimbria en caso de que éstos sean permeables (Sofi et al., 2018).

Para la evaluación de la permeabilidad *in vivo* se ha usado también una solución de **fenolsulfonaftaleína** (PSP) (Purohit, 2014). Tras introducir una sonda Foley a través del cérvix hasta el inicio del cuerno uterino e inflar el globo del catéter para fijarla en esa situación, se introduce la solución. Cuando el oviducto es permeable, el líquido avanza por él y alcanza la cavidad abdominal, donde se absorbe y pasa a la circulación, excretándose vía renal en un corto período de tiempo. De esta manera, la orina saldrá teñida de color rosa, confirmado la patencia oviductal; si, en cambio, está ocluido, la orina no cambiará de color (Sood et al., 2004). Mediante el uso de esta técnica, Garrido et al. (2019) estudiaron la permeabilidad de los oviductos en 50 vacas con SRC, reportando que el 24% de ellas presentaba obstrucción uni o bilateral. Estos resultados sugieren que las alteraciones en la permeabilidad de los oviductos contribuirían a la aparición del SRC. Alternativamente, se ha empleado la ecografía con contraste (Kauffold et al., 2009), que permite visualizar la solución de contraste dispersándose en la cavidad abdominal tras ser introducida con un catéter en los cuernos uterinos. De las 8 vacas incluidas en este estudio, 3 presentaron oclusión uni o bilateral. Hay que tener en cuenta que en dos de las vacas se realizó solo un estudio unilateral, ya que se suspendieron las manipulaciones al producirse sangrado rectal tras el estudio del primer oviducto, y los resultados de la prueba en otra de las vacas no fueron concluyentes debido a la pobre calidad de la imagen. De los 5 oviductos que se diagnosticaron como ocluidos, dos resultaron morfológicamente intactos en el estudio postmortem realizado al día siguiente de la evaluación ecográfica, mientras que dos presentaban hidrosálpinx y uno estaba inflamado. Esta técnica presenta varios inconvenientes, como su alto coste, la dificultad para estudiar los dos oviductos y el posible sangrado rectal asociado.

#### 1.2.4 Inmunización frente al semen

La inmunoinfertilidad se refiere a la condición en la cual el sistema inmune reconoce los gametos (espermatozoides y óvulos) como ajenos, desencadenando una respuesta inmune contra ellos y dificultando la concepción (Archana et al., 2019; Gupta et al., 2023).

La infertilidad sin síntomas evidentes (inexplicada) es un problema importante tanto en humanos como en animales y se ha propuesto, entre las posibles causas, que pueda deberse a los anticuerpos antiespermatozoides (AAE) presentes en el plasma seminal, el moco cervical, el fluido uterino, el líquido folicular o el suero (Lazarević et al., 2003), causando subfertilidad e infertilidad (Ahuja et al., 2016) mediante la alteración de la migración, la penetración y la capacitación espermática, así como de la reacción acrosomal, además de afectar al desarrollo de los blastocistos y a la implantación embrionaria, provocando muertes embrionarias tempranas (Zraly et al., 2003; Sarma et al., 2009).

Esta condición puede ocurrir ya sea por autoinmunidad, tanto en machos como hembras, como por isoimmunidad en las hembras (Brazdova et al., 2016). La isoimmunización de las hembras contra los antígenos del esperma se produce especialmente en relación con lesiones patológicas de los órganos reproductivos y después de la IA. Las membranas

mucosas del tracto reproductivo producen isotipos de inmunoglobulinas, siendo la inmunoglobulina G (IgG) la principal (Zrally et al., 2003). El estímulo antigénico en el tracto genital femenino puede proceder del esperma, el plasma seminal, los componentes del diluyente del semen, microorganismos y restos celulares procedentes del macho (Hunter, 1989). La infertilidad sin síntomas evidentes (inexplicada) es un problema importante tanto en humanos como en animales y puede deberse a los AAE presentes en el plasma seminal, el moco cervical, el fluido uterino, el líquido folicular o el suero (Lazarević et al., 2003). Estos anticuerpos pueden causar subfertilidad e infertilidad (Ahuja et al., 2016) mediante la alteración de la migración, la penetración y la capacitación espermática, así como de la reacción acrosomal, además de afectar al desarrollo de los blastocistos y a la implantación embrionaria, provocando muertes embrionarias tempranas (Zrally et al., 2003; Sarma et al., 2009).

Tanto el plasma seminal como las secreciones cervicales y uterinas contienen sustancias inmunosupresoras (Hunter, 1989; Milovanović et al., 2005). Sin embargo, cuando se utiliza la IA, la estructura antigénica del semen cambia debido a la adición de diferentes diluyentes, a los procedimientos de congelación y descongelación y a la reducción del volumen del plasma seminal. Además, la actividad inmunosupresora del plasma seminal se reduce significativamente durante la preparación del semen para IA (Milovanović et al., 2005).

El moco cervical actúa como guía para que los espermatozoides entren al útero y puede actuar también como un filtro para evitar el paso de aquellas células anormales a la parte alta del tracto genital. La alteración de la penetración del moco cervical es un parte importante del efecto sobre la fertilidad de los AAE (Jarora et al., 2014) y su presencia reduce la motilidad espermática (Lazarević et al., 2013).

Los estudios acerca de la influencia de los AAE presentes en el moco cervical sobre la fertilidad son escasos. Se ha demostrado un aumento de los títulos de anticuerpos aglutinantes de esperma en el moco cervical y el suero de vacas asociado al número de inseminaciones realizadas (Lazarević et al., 2003). Sarma et al. (2009) observaron la presencia de anticuerpos en vacas sin problemas reproductivos, pero con títulos menores que en vacas repetidoras, en las que además se reportó un aumento del título de anticuerpos a medida que aumentaba el número de inseminaciones realizadas. Cheema et al. (2016) observaron un aumento significativo de los AAE en el suero y el moco cervical con el aumento del número de inseminaciones, pero no observaron diferencias significativas en relación a la edad y el número de parto de los animales. Sarma et al. (2022) no observaron una asociación entre el número de lactación y el título de anticuerpos en vacas lecheras cruzadas. En 2003, Zrally et al. detectaron la presencia de AAE (y mayores títulos de anticuerpos) en un número significativamente mayor de vacas pluríparas que de primíparas. Además, reportaron una mayor presencia de AAE en vacas que resultaron gestantes tras 2 o más inseminaciones y observaron una penetración significativamente menor de los espermatozoides en el moco cervical de novillas serológicamente positivas a AAE. Por otro lado, se ha reportado un

aumento significativo en los días abiertos de vacas con títulos elevados de AEE en suero y moco cervical (Milovanović et al., 2005). Un estudio empleó estudios de inmunoperoxidasa, de aglutinación de espermatozoides y de inmovilización de espermatozoides para determinar la presencia de AAE en el suero de novillas, vacas no repetidoras y vacas con SRC (Srivastava et al., 2017). En dicho estudio se obtuvieron títulos de anticuerpos significativamente mayores en el caso de las vacas repetidoras en comparación con los demás grupos, lo que sugiere un efecto negativo de los AAE sobre la fertilidad que podría deberse a la reducción de la motilidad de los espermatozoides.

### **1.2.5 Ambiente y manejo**

#### **1.2.5.1 Manejo de la IA**

La eficiencia de la IA depende, entre otros factores, de la capacidad del inseminador para depositar el semen, de calidad adecuada, en el lugar adecuado, dentro del tracto genital de la hembra, en el momento adecuado del estro (Roelofs et al., 2010). Se ha reportado una prevalencia mayor de SRC con el empleo de la IA en comparación con la monta natural que podría estar relacionada con prácticas inadecuadas en la IA o una detección de celos deficiente (Eshete et al., 2023).

##### ***1.2.5.1.1 Calidad del semen***

Las deficiencias en las características del esperma, como la viabilidad, la morfología y los rasgos funcionales y moleculares, pueden impedir el éxito de la fecundación (Walsh et al, 2011). El empleo de semen de buena calidad y el empleo de toros de fertilidad probada es fundamental para asegurar el éxito reproductivo, ya sea con el uso de la IA como en la monta natural (Pérez-Marín et al., 2012). Cuando se emplea semen congelado, el manejo de las pajuelas debe ser apropiado, lo que incluye un almacenamiento y descongelación óptimas, así como el mantenimiento de condiciones higiénicas (Pérez-Marín y Quintela, 2023). Para asegurar la correcta conservación de las dosis de semen congelado es importante realizar un mantenimiento adecuado del tanque en el que se almacenan, reponiendo el nitrógeno líquido periódicamente, evitando golpes y corrosión, y teniendo en cuenta que los contenedores se deterioran con el paso del tiempo, lo que puede reducir su capacidad de aislamiento. Bas et al. (2011) observaron un aumento de las TC mediante el empleo de camisas sanitarias en el momento de la IA (42,7% frente al 36,1%), así como una reducción en la contaminación bacteriana del catéter.

### ***1.2.5.1.2 Lugar de deposición del semen***

Otro de los factores que pueden influir en el resultado de la IA es el lugar de deposición del semen (Crowe et al., 2018). La formación de personal para detectar el celo y realizar la IA ha permitido el uso generalizado de esta técnica en las explotaciones de vacuno lechero (Sturman et al., 2000). Sin embargo, hay que tener en cuenta el efecto que puede tener la habilidad del inseminador sobre la fertilidad (López-Gatius, 2012). En muchos casos, estos técnicos no tienen la formación suficiente en la exploración del útero y los ovarios, lo que puede limitar el éxito de la IA (López-Gatius, 2000).

Tras la IA o la monta natural, los espermatozoides deben alcanzar los oviductos, donde se produce la fecundación, actuando la unión útero-tubárica como reservorio funcional para los espermatozoides (Hunter, 2003). La IA profunda a nivel de cuernos uterinos podría favorecer la fertilidad al permitir la deposición del semen más cerca de la unión útero-tubárica (López-Gatius, 2000). Sin embargo, diversos estudios han comparado la IA convencional a nivel de cuerpo uterino con la IA en los cuernos uterinos, con resultados variables (Dalton, 2014).

En un estudio realizado en nulíparas, se comparó el éxito de la IA tras la deposición del semen en 3 puntos diferentes (cerca de la unión útero-tubárica, en mitad del cuerno uterino y en el cuerpo uterino), no reportando diferencias significativas en las tasas de preñez obtenidas (Kurykin et al., 2007). Seidel y Schenk (2008) tampoco notaron diferencias al comparar inseminaciones en el cuerpo y los cuernos uterinos de novillas y vacas Angus. En ese mismo sentido, Verberckmoes et al. (2005) evaluaron el uso de un dispositivo que permitía la IA a nivel de la unión útero-tubárica, no obteniendo diferencias significativas en las tasas de preñez en comparación con la IA en el cuerpo uterino. En contraste con lo anterior, Meirelles et al. (2012) obtuvieron una tasa de preñez mayor mediante la IA profunda en los cuernos uterinos (67,4%) frente a la IA tradicional (48,8%) en vacas de raza Nelore. A la vista de estos resultados, no parece haber diferencias en la efectividad de la IA entre la deposición del semen en el cuerpo y en los cuernos uterinos.

### ***1.2.5.1.3 Momento de deposición del semen***

El momento en que se realiza la IA es un factor importante a tener en cuenta para el éxito reproductivo, ya que la elección de un momento incorrecto reduce las tasas de gestación (Roelofs, 2008). La monta y su aceptación indican el inicio del estro y la ovulación se produce  $28 \pm 5$  horas después (Walker et al., 1996). Si transcurren demasiadas horas entre el comienzo del estro y la IA, se producirá la fecundación de ovocitos envejecidos y esto dará lugar a la formación de embriones de peor calidad (Dalton et al., 2014). Por el contrario, si la IA se realiza demasiado pronto, los espermatozoides pueden morir antes de que el ovocito llegue a la ampolla, lo que reduce el éxito de la fecundación (Hawk, 1987; Saacke et al.,

2000). El momento óptimo para la IA se sitúa 7-18 horas antes de la ovulación, es decir, 4-18 horas tras el inicio del estro o 6-8 horas tras el final del mismo (De Rensis et al., 2024).

En las explotaciones de vacuno lechero se emplea generalmente la regla “AM/PM” (Pérez-Marín, 2012), por la que se realiza la IA 12 horas tras la detección del celo, lo que supone un compromiso entre una baja tasa de fecundación en inseminaciones muy tempranas y una reducida calidad de los embriones en las muy tardías (Dalton et al., 2014). Cuando la detección de celos es adecuada, este sistema permite realizar inseminaciones exitosas (De Rensis et al., 2024). Singh et al. (2005) observaron un intervalo mayor desde el comienzo del celo a la ovulación en novillas con SRC en comparación con los animales control, lo que podría reducir la eficacia de esta práctica.

#### ***1.2.5.1.4 Detección del celo***

Como hemos visto, el momento en el que se realiza la IA es muy relevante para obtener una buena fertilidad y, para determinar con exactitud este momento, es necesaria una buena detección del celo. Una deficiente detección de celos empeora el rendimiento reproductivo de los rebaños y es una de las causas del SRC (Heuwieser et al., 1997; Pérez-Marín y España, 2007). La ineficiencia en la detección tiene efectos económicos perjudiciales, ya que resulta en una reducción de la producción láctea, el incremento de días abiertos y un aumento de la eliminación de animales por causas reproductivas (Walker et al., 1996). La detección inadecuada puede provocar errores en el momento de la IA o llevar a la inseminación de vacas que no están en celo (Sturman et al., 2000; Yusuf et al., 2010). Además, la manifestación de celos durante la gestación ha sido reportada extensamente (Thomas y Dobson, 1989; López-Gatius, 2012) y la inseminación de vacas gestantes puede provocar muertes embrionarias y abortos (Roelofs et al., 2010). La correcta identificación de las vacas en celo tiene como objetivo la determinación precisa del momento de la ovulación (Stevenson et al., 2014) y supone un reto en las explotaciones de vacuno lechero (Senger, 1994; Denis-Robichaud et al., 2018).

Los enfoques tradicionales para la gestión reproductiva y el empleo de la IA han incluido la observación visual del comportamiento de celo, así como el empleo de protocolos de IA a tiempo fijo (IATF) (Crowe et al., 2018). Los protocolos de IATF son tratamientos hormonales que se desarrollaron en los años 90 del siglo pasado (Pursley, 1995) y tienen como objetivo controlar el crecimiento folicular, la luteolisis y la ovulación (Chebel, 2011), permitiendo la sincronización de los celos. Se emplean habitualmente en las granjas ya que evitan la necesidad de la detección de celos y facilitan el manejo de la IA (Kim et al., 2005; Lamb et al., 2010; Bo y Baruselli, 2014), y actualmente existen numerosos protocolos basados en diferentes combinaciones hormonales (Rodrigues et al., 2011). Por otro lado, es posible llevar a cabo la detección visual del celo, cuya eficiencia es muy variable entre granjas, pudiendo ir del 30% al 70% (Diskin y Sreenan, 2000), aunque está limitada porque requiere mucho tiempo y habilidad por parte del personal encargado (Denis-Robichaud,

2016). Aunque puede llegar a permitir tasas de detección del 90% cuando se realiza de forma óptima en periodos de 20 minutos, 5 veces al día (Diskin y Sreenan, 2000), estas tasas disminuyen cuando los tiempos de observación son menores, reduciéndose a un 74% cuando la observación se limita a 2 periodos de 30 minutos al día (Van Eerdenburg et al., 1996). Para mejorar la detección de celos se han desarrollado tecnologías que permiten el monitoreo y un registro de datos continuo. Estos sistemas incluyen dispositivos sensibles a la presión, dispositivos de control de la actividad, como podómetros, acelerómetros y cámaras de vídeo, y sistemas automáticos de monitoreo de la temperatura corporal y de medida de la concentración de P4 en leche (Silper et al., 2015; Reith y Hoy, 2018).

Por otro lado, las variaciones en la expresión de celo pueden afectar a la efectividad en su detección. Los comportamientos relacionados con el celo incluyen monta y aceptación de la monta, inquietud, apoyo de la barbilla en el lomo de otra vaca, reflejo de flehmen, olfateo de la vulva de otras vacas, etc. (Roelofs et al., 2010; Holman et al., 2011). Sin embargo, la expresión de estos comportamientos se ha modificado en las últimas décadas y la monta y su aceptación, considerado el comportamiento más característico del celo, se ha reducido tanto en el porcentaje de animales que lo presentan como en el tiempo que dura esta conducta (Dobson et al., 2008). En las vacas de alta producción se ha reducido también la duración del celo (Dolecheck et al., 2015; Holman et al., 2011), lo que puede dificultar aún más su detección. Existen además muchos factores que afectan a la manifestación del comportamiento de celo, algunos de ellos están relacionados con los animales, incluyendo la alta producción de leche, el número de parto, la genética, las cojeras o el periodo de postparto. Hay también factores ambientales que pueden modificar la expresión de celos, como la presencia de un toro en la explotación, la estación de año, el tipo de estabulación, la nutrición o el tamaño del rebaño (Roelofs et al., 2010; Walsh et al., 2011; Reith y Hoy, 2018). Todos estos factores influyen en la variabilidad en la expresión del celo que, a su vez, puede dar lugar a una detección ineficiente del mismo y aumentar el riesgo de aparición de SRC. En este sentido, en un estudio realizado con vacas repetidoras, Pérez-Marín y España (2007) reportaron que el 50% de los animales mostraban estro silencioso o retrasado.

### **1.2.5.2 Estrés**

El estrés se produce cuando los animales perciben una amenaza a su homeostasis de forma consciente o inconsciente (Goldstein y Kopin, 2007) y genera un gran número de respuestas biológicas adaptativas (Duval et al., 2010). Existe un amplio rango de factores estresantes que afectan a los animales de producción, incluyendo aspectos climáticos y nutricionales, así como las enfermedades, las manipulaciones, el transporte y la presión social (Lee, 1993; Grandin, 1997; Bova et al., 2014). Los cambios inducidos por el estrés se originan a nivel del sistema nervioso central y desde aquí se activa el sistema nervioso autónomo y el sistema neuroendocrino, en donde interviene el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (Brown y Vooslo, 2017). Durante una situación de estrés, el eje hipotalámico-hipofisario-adrenal tiene efectos inhibitorios sobre el eje reproductivo (Chrousos y Gold,

1992; Dobson et al., 2003), ya que se produce un aumento la liberación de hormona liberadora de corticotropina (CRH), lo que a su vez estimula la producción de péptidos opioides y hormona adenocorticotrópica (ACTH) y, como consecuencia, la síntesis de glucocorticoides, principalmente cortisol, en las glándulas adrenales. La CRH inhibe la liberación de GnRH y los glucocorticoides inhiben la secreción de GnRH, LH y FSH, y reducen la sensibilidad de los tejidos frente a las hormonas sexuales (Chrousos, 1998; Hughes et al., 2014). Debido a esto, cualquier situación de estrés que se produzca en el postparto puede afectar al reinicio de la actividad ovárica como consecuencia del bloqueo en la síntesis y liberación de gonadotropinas (Mastorakos e Ilias, 2003). Por otro lado, los glucocorticoides tienen efecto inmunodepresor y alteran la función de los leucocitos (Burton y Kehrlí, 1995; Chrousos y Kino, 2007; Waldron y Revelo, 2008), lo que puede dar lugar a la instauración de infecciones uterinas. Se han detectado niveles elevados de cortisol en vacas repetidoras (Da Costa Freitas et al., 2017; Perumal et al., 2021; Rajamanickam et al., 2022) y se ha demostrado una mayor producción de cortisol en novillas con SRC sometidas a estrés inducido, así como un aumento en la producción de P4 adrenal, que podría dar lugar a niveles suprabasales (Båge et al., 2000; Båge, 2002), alterando la ovulación.

El **estrés calórico** ocurre cuando los animales no son capaces de disipar una cantidad adecuada de calor sin modificar su temperatura corporal (Samal, 2013; Giannone et al., 2023). El efecto combinado de elevada humedad y temperatura determina, en última instancia, el nivel de estrés calórico (De Rensis et al., 2017; Naranjo-Gómez et al., 2021). El estrés calórico tiene efectos negativos en la salud, la productividad y la eficiencia reproductiva de las vacas (Habeeb et al., 2018; Kasimanickam y Kasimanickam, 2021; Roth, 2008), lo que genera grandes pérdidas económicas en el sector de la producción láctea (Penev et al., 2021; Skliarov et al., 2022; Rhoads, 2023). Estos efectos pueden acentuarse en el futuro, ya que el cambio climático continuará exacerbando las ya graves consecuencias del estrés térmico estacional (Rhoads, 2023).

Las vacas lecheras son particularmente sensibles a los efectos del estrés por calor durante los meses cálidos debido a la intensa selección genética a la que se han sometido para conseguir una elevada producción láctea (Roth, 2008; Berling et al., 2022; Kawano, 2023). Los efectos perjudiciales del estrés por calor en la fertilidad se deben a su efecto sobre la función ovárica, el desarrollo folicular, la manifestación de celos y el desarrollo embrionario temprano (Pérez-Marín et al., 2012; Wolfenson y Roth, 2019; Penev et al., 2021).

El estrés calórico en las vacas lecheras afecta al eje hipotalámico-hipofisario-ovárico, alterando los patrones de secreción hormonal y generando efectos negativos en el desarrollo folicular (De Rensis et al., 2017; Roth, 2021). Se producirá una reducción en la amplitud y frecuencia de los pulsos de LH, comprometiendo la maduración de los folículos dominantes (Wilson et al., 1998; Wolfenson et al., 2000). En cuanto a la viabilidad de las células de la teca y la granulosa, se verá comprometida, lo que conduce a una reducción de la producción de estradiol y androstenediona (Wolfenson y Roth, 2019; Berling, 2022). Los potenciales efectos negativos de la baja producción de estradiol incluyen una reducción de la intensidad y

duración del celo (Khan et al., 2016; Wolfenson y Roth, 2019), produciéndose fenómenos de anestro y ovulaciones silentes (García-Ispuerto y López-Gatius, 2013). El estrés calórico también reduce la expresión del celo asociada a una reducción de las montas y de la actividad motora como un modo de limitar la producción de calor endógeno (Samal, 2013), lo que dificulta la detección de celos. Cuando las vacas están sometidas a un estrés calórico crónico, como ocurre durante los meses de verano, los niveles de P4 plasmática se ven reducidos (Howell et al., 1994; Wolfenson et al., 2000), debido a la alteración en la formación y función del CL (Kasimanickam y Kasimanickam, 2021; López-Gatius y García-Ispuerto, 2022). Por otro lado, hay una pronunciada reducción de los niveles de inhibina, que a su vez provoca un aumento de la concentración de FSH (Roth et al., 2000), alterando el mecanismo de dominancia folicular, incrementando el porcentaje de ovulaciones dobles (Wolfenson et al., 1995).

Diversos estudios *in vivo* e *in vitro* apoyan la idea de que los ovocitos bovinos son sensibles al estrés térmico durante varios estadios del desarrollo folicular (Roth, 2008). Los ovocitos pueden ser dañados por el estrés calórico durante las primeras etapas de la foliculogénesis y continúan siendo sensibles hasta el periodo periovulatorio (Hansen, 2019). Estos ovocitos dañados presentan una competencia reducida para la fecundación y para su desarrollo posterior (Roth, 2008; Rhoads, 2023). Gendelman y Roth (2012) reportaron que la exposición del conjunto de ovocitos ováricos al estrés ambiental parece afectar el almacenamiento del ARNm materno y/o el mecanismo de renovación de la transcripción, lo que a su vez afecta la expresión genética en el embrión en desarrollo. A esto hay que añadir el efecto del calor sobre la acumulación de ROS, que provoca estrés oxidativo (Roth, 2017) en los ovocitos (Nabenishi et al., 2012; Sakatani, 2017) y en los embriones preimplantacionales (Sakatani et al., 2004). Se sabe que la calidad de los ovocitos es una de las principales causas de infertilidad en las vacas repetidoras (Ferreira et al., 2016). Ferreira et al. (2011) observaron que la tasa de fragmentación de los blastocistos de vacas repetidoras estaba aumentada durante el verano en comparación con el invierno y otros grupos, lo que sugiere que la asociación de los problemas de fertilidad de estas vacas y el estrés térmico del verano podría reducir la calidad de los ovocitos. Se ha observado que los ovocitos de vacas SRC recolectados durante el verano presentan una posible disfunción mitocondrial y son más propensos a sufrir apoptosis, lo que podría estar asociado con su menor potencial de desarrollo (Ferreira et al., 2016).

Aunque gran parte del efecto del estrés calórico implica alteraciones en el folículo y el ovocito que contiene (Wolfenson y Roth, 2019), se ha observado un efecto directo en la supervivencia de los embriones durante la gestación temprana (De Rensis et al., 2017). Los embriones son sensibles a los efectos del estrés térmico, principalmente durante el periodo peri-implantación (García-Ispuerto et al., 2006). En el estadio de 2 células, los embriones son más sensibles al estrés calórico, pero a medida que se desarrollan, su resistencia será mayor (Hansen, 2007). En las vacas expuestas a estrés calórico se produce además una redistribución sanguínea hacia la piel como mecanismo de termorregulación (Ferreira et al., 2011), lo que genera una reducción del flujo sanguíneo en el útero y un aumento de la

temperatura uterina (Gwazdauskas et al., 1975; Roman-Ponce et al., 1978). Esto da lugar a una alteración del ambiente intrauterino, que inhibe el desarrollo embrionario y provoca muertes embrionarias tempranas (Rivera y Hansen, 2001). Bosque et al. (2023) observaron también un efecto perjudicial del estrés por calor durante el parto sobre la salud de las vacas Holstein de alta producción. Las vacas sometidas a estrés por calor al parto tuvieron más probabilidades de presentar retención placentaria, metritis puerperal y cetosis.

### 1.2.5.3 Nutrición

Los desequilibrios nutricionales pueden afectar al rendimiento reproductivo y estar relacionados con el desarrollo del SRC. El **BEN** que se produce en el periparto debido a la elevada demanda energética y a la reducción de la ingestión de materia seca (Butler, 2003) da lugar a una disminución de los niveles séricos de glucosa y de insulina, junto con una movilización de las reservas lipídicas que provoca un aumento de los NEFA y de los cuerpos cetónicos, principalmente  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) (LeBlanc, 2010). Los niveles elevados de NEFA y BHB afectan a la función de los PMN (Hammon et al., 2006; Grinberg et al., 2008) y pueden inducir la producción de citoquinas proinflamatorias (Zhang et al., 2018), aumentando el riesgo de enfermedades en el postparto. El BEN puede afectar además a la maduración de los ovocitos y al desarrollo de los blastocistos (Leroy et al., 2008), así como provocar una disminución de la producción de IGF-1, que está asociada a alteraciones en la foliculogénesis y la esteroidogénesis (Lucy et al., 1992; Butler et al., 2004). Un deficiente estatus nutricional se ha asociado a las alteraciones metabólicas en el postparto y una peor fertilidad, con retrasos en la ovulación, mayores pérdidas de gestación y peores tasas de gestación (Bisinotto et al., 2012).

Por otro lado, hay que tener en cuenta el efecto sobre la reproducción de posibles deficiencias de **vitamina A** y su precursor, el  $\beta$ -caroteno. Su función principal, de la que derivan la mayoría de sus efectos, es su acción antioxidante (Kleczkowski et al., 2004; Quintela et al., 2008), que protege al organismo de los radicales libres producidos en el metabolismo oxidativo. A nivel reproductivo, estos antioxidantes tienen numerosos efectos. Intervienen en el crecimiento folicular (Schweigert y Zucker, 1988) y la esteroidogénesis (Graves-Hoagland et al., 1988), así como en la maduración y la competencia de los ovocitos (Shaw et al., 1995; Ikeda et al., 2005). Se ha reportado una correlación entre los niveles de vitamina A intrafoliculares y la concentración de  $\beta$ -estradiol (Schweigert y Zucker, 1988), por lo que ésta puede favorecer la expresión de celo y reducir el riesgo de alteraciones en la ovulación. Por otro lado, el  $\beta$ -caroteno puede tener efectos sobre la función lútea, ya que se encuentra en concentraciones mucho mayores en el cuerpo lúteo que en otros tejidos (Chew et al., 1984; Graves-Hoagland et al., 1988; Arikan y Rodway, 2001) y se ha observado una correlación entre los niveles del éste y de la P4 plasmática (Rapoport et al., 1998). La vitamina A favorece el desarrollo embrionario y placentario (Liu et al., 1993; Clagett-Dame y Knutson, 2011), y mejora el ambiente oviductal y uterino (Liu et al., 1990; Mackenzie et al., 1997), lo que reduce la mortalidad embrionaria. Se ha descrito también un efecto estimulador

en el sistema inmune del  $\beta$ -caroteno (Chew, 1993; Michal et al., 1994; Jin et al., 2014) y la deficiencia de  $\beta$ -caroteno y vitamina A, junto con la de vitamina E, también con efecto antioxidante, se ha relacionado con un mayor riesgo de desarrollo de patologías postparto (LeBlanc et al., 2004). Además, estos antioxidantes ejercen un efecto protector frente al estrés térmico (Arechiga et al., 1998), cuyos efectos negativos sobre la reproducción se han comentado previamente. Por todo ello, se ha propuesto la suplementación con estos compuestos con el objetivo de mejorar el rendimiento reproductivo en vacas con SRC. Se ha observado una mejora en la tasa de gestación en estas vacas, así como un aumento de los niveles séricos de estradiol y P4 mediante la administración de vitamina A junto a la primera GnRH del protocolo Ovsynch (Manokaran et al., 2019). Se ha descrito una mejora significativa de la tasa de gestación mediante la suplementación con  $\beta$ -caroteno en vacas con SRC sometidas a estrés calórico, posiblemente debido a su efecto reductor del estrés oxidativo (Khemarach et al., 2021). Se ha reportado un aumento de los niveles de P4 y estradiol con la administración de  $\beta$ -caroteno en el mismo momento de la sincronización (Çelik et al., 2009) y, tras la administración a vacas con SRC de dos dosis 10 mL de palmitato de retinol (100.000 UI/mL) vía intramuscular con una diferencia de 30 días, se ha observado un aumento significativo del número de folículos mayores de 10 mm. en las vacas tratadas en comparación con el grupo control (Dehkordi y Amanlou, 2023). Aunque en ambos estudios se reportó una mejora de la TC en las vacas tratadas, esta no fue estadísticamente significativa. Asimismo, se ha obtenido un aumento de la TC en vacas suplementadas con vitamina A, D3 y E + ácidos grasos Omega 3 durante 20 días (Gocher et al., 2020), comenzando la suplementación el primer día del protocolo de sincronización de celos.

La suplementación con ácidos grasos poliinsaturados n3 (n-3 PUFA), presentes en el aceite de pescado, se ha propuesto para reducir la incidencia del SRC por su efecto sobre la función útero-ovárica y la supervivencia embrionaria (Teeli et al., 2019). La administración de n-3 PUFA desde 2 semanas antes hasta 2 semanas después de la IA se ha asociado a un tamaño mayor del folículo preovulatorio, niveles más altos de P4 y a un aumento de la transcripción de ARNm de genes estimulados por IFNT.

La **leptina** es una hormona proteica secretada por el tejido adiposo que tiene una función central en la regulación del consumo de alimentos y la homeostasis energética (Ninpetch et al., 2022). Además, la leptina tiene diversos efectos sobre la reproducción, describiéndose un papel estimulante sobre la secreción de GnRH desde el hipotálamo (Caprio et al., 2001) y sobre el desarrollo embrionario (Madeja et al., 2009). Se ha relacionado la reducción de los niveles de leptina durante el postparto en vacas de alta producción con alteraciones en el reinicio de la ciclicidad ovárica (Kadokawa et al., 2000; Mann et al., 2005). Guzel y Tanriverdi (2014) observaron niveles reducidos de leptina en vacas SRC en comparación con vacas fértiles. Sin embargo, otro estudio no encontró esas diferencias entre los grupos comparados (Ninpetch et al., 2022), lo que podría deberse a variaciones respecto al momento de la lactación de las vacas incluidas en ambos estudios.

Se han analizado los perfiles metabólicos de las vacas con SRC en busca de marcadores que caractericen este síndrome, con resultados variables. Se han reportado niveles más bajos de glucosa (Guzel y Tanriverdi, 2014; Ahmed et al., 2017a; Widayati et al., 2018; Barson et al., 2019; Sultana et al., 2022; Thangamuthu et al., 2024), de proteínas totales (PT) y colesterol (CT) (Mondal y Paul, 2012; Amle et al., 2014; Widayati et al., 2018) en vacas con SRC en comparación con vacas fértiles. Se han observado también niveles significativamente menores de albúmina en vacas con SRC (Pandey et al., 2009; Amle et al., 2014; Thangamuthu et al., 2024). Sin embargo, algunos estudios no han observado diferencias significativas en el CT (Guzel y Tanriverdi, 2014) o en las PT (Guzel y Tanriverdi, 2014; Barson et al., 2019; Rahman et al., 2020). Asimismo, se han observado niveles más bajos de insulina en estas vacas (Mimoune et al., 2017). Por otro lado, en vacas con SRC se han detectado niveles de urea más elevados (Pandey et al., 2009; Ahmed et al., 2017a; Mimoune et al., 2017; Widayati et al., 2018; Barson et al., 2019; Thangamuthu et al., 2024). En este sentido, Kurykin et al. (2011) relacionaron niveles elevados de urea en vacas SRC con un mayor porcentaje de ovocitos anormales. Jung et al. (2021) observaron niveles más elevados de gamma-glutamil transferasa, indicador de alteraciones hepáticas; pero, a diferencia de otros estudios, no encontraron variaciones significativas en otros parámetros, incluyendo, glucosa, creatinina, albúmina, bilirrubina, urea, NEFA, PT, CT, triglicéridos, calcio, magnesio, lactado deshidrogenasa, fosfatasa alcalina y creatina quinasa.

Por otra parte, las **deficiencias minerales** tienen un impacto negativo en la fertilidad (Talukdar et al., 2016) y varios estudios han reportado niveles más bajos de ciertos minerales en vacas con SRC: zinc (Barui et al., 2015; Ahmed et al., 2017a), calcio y fósforo (Pandey et al., 2009; Amle et al., 2014; Rahman et al., 2020), manganeso y hierro (Ahmed et al., 2017a) y magnesio (Rahman et al., 2020).

### 1.2.6 Muerte embrionaria temprana

Una de las principales causas de SRC es la muerte embrionaria temprana (De Kruif, 1976; Levine, 1999). Existen múltiples factores que afectan al desarrollo y reducen la supervivencia embrionaria, como las alteraciones hormonales, ambiente uterino inadecuado que impida o dificulte la implantación del embrión, o ciertos factores ambientales, como el estrés térmico. Además de estas condiciones, desarrolladas previamente, la mortalidad embrionaria puede deberse a alteraciones genéticas. Por un lado, se sabe que la **consanguinidad** tiene efectos negativos sobre el éxito reproductivo (Diskin y Morris, 2008; Pérez et al., 2017). En vacas de raza Guernsey se observó que cada incremento del 1% en la consanguinidad supone un aumento de 0,7 inseminaciones por gestación, una reducción de la tasa de gestación del 3,3% y un incremento de 2 días en los días abiertos (Herms et al., 1987). Se ha reportado que la consanguinidad materna está asociada a reducciones en las tasas de no retorno, con una disminución del 1% a los 56 días (Wall et al., 2003) y del 2% a los 70 días (Cassel et al., 2003) por cada aumento del 10% de consanguinidad. Del mismo modo, se ha reportado que la consanguinidad de los embriones tiene un impacto negativo en

la tasa de no retorno a los 70 días, con una reducción del 1% por cada aumento del 10% en la consanguinidad (VanRaden y Miller, 2006). Además, se ha descrito un peor desarrollo embrionario durante las dos semanas posteriores a la fecundación en embriones de raza pura y con alta consanguinidad, en comparación con embriones procedentes de cruces (Lazzari et al., 2011), lo que puede reducir la fertilidad.

Por otro lado, las **anomalías cromosómicas** pueden provocar muertes embrionarias y se estima que éstas pueden ser la causa de aproximadamente el 20% de las pérdidas embrionarias y fetales (King, 1990). En los embriones, los cambios cromosómicos se asocian habitualmente con una reducción del potencial de desarrollo o una menor viabilidad (Kawarsky et al., 1996; King et al., 2006). Mediante el estudio cromosómico de los embriones obtenidos tras la superovulación de novillas Holstein, se observó que el 13% de los embriones de 2-4 días que pudieron ser estudiados presentaban alteraciones cromosómicas (King et al., 1995). El mismo estudio señaló que probablemente estas anomalías se producían durante o poco después de la fecundación, como consecuencia de que la fecundación era realizada también por un segundo espermatozoide o por fallo en la extrusión del corpúsculo polar. Las anomalías cromosómicas pueden estar presentes en el genoma de la madre o del padre y provocar infertilidad. Estas anomalías pueden presentarse como errores en el proceso de formación de gametos, en la fertilización o en el desarrollo temprano (Bilodeau-Goeseels y Kastelic, 2003). El cambio cromosómico estructural más comúnmente detectado en bovinos es la denominada translocación robertsoniana o fusión céntrica, donde dos cromosomas se fusionan en la región del centrómero (Larkin y Farré, 2015). La translocación 1/29, la más extendida de las translocaciones robertsonianas detectadas en el ganado vacuno, fue descrita por primera vez en 1964 (Gustavsson y Rockborn, 1964) y posteriormente observada en diversas razas de varios países (Ducos et al., 2008). Los animales que la sufren presentan una reducida fertilidad debido a que producen gametos y cigotos anormales, lo que da lugar a muertes embrionarias tempranas (Gustafsson, 1979; Schmutz et al., 1991; Lonergan et al., 1994). Un estudio en vacas con SRC reportó que el 14.3% de los animales presentaban aberraciones cromosómicas, incluyendo la translocación 1/29 así como anomalías de los cromosomas sexuales (Maurer y Echterkamp, 1985). Se ha descrito también la deficiencia de uridina monofosfato sintasa (DUMPS), una condición genética recesiva (Robinson et al., 1984) que provoca muertes embrionarias alrededor del día 40 de gestación (Shanks y Robinson, 1989). En el caso de este defecto, las pruebas en toros empleados en IA para detectar DUMPS han reducido significativamente la frecuencia de toros heterocigotos y de embriones homocigotos recesivos (VanRaden y Miller, 2006). Además, en los últimos años se han identificado varios haplotipos recesivos que no se presentan en homocigosis en la población, por lo que se considera que albergan alelos letales (VanRaden et al., 2011b). Estos haplotipos afectan a la fertilidad y provocan mortalidad pre y postnatal en varias razas (Fritz et al., 2013; McClure et al., 2014), y se ha reportado que varios de ellos dan lugar a muertes embrionarias (VanRaden et al., 2011a; Cooper et al., 2014; McClure et al., 2014; Fritz et al., 2018; Hozé et al., 2020). Actualmente, es posible detectar a los animales portadores de estos

haplotipos mediante técnicas genómicas para evitar su empleo en reproducción (Cole et al., 2022; Wiggans y Carrillo, 2022).

## 1.2.7 Influencia de otras patologías

### 1.2.7.1 Mastitis

La mastitis es una infección muy frecuente en las vacas lecheras (Schrick et al., 2001) que genera grandes pérdidas económicas y afecta negativamente a la producción y la reproducción (Soto et al., 2003; Hansen et al., 2004; Halasa et al., 2007). Se ha demostrado que la mastitis reduce la fertilidad (Hertl et al., 2010), provocando el aumento del IPIF (Schrick et al., 2001; Santos et al., 2004a; Wilson et al., 2008), un mayor riesgo de pérdida de gestación (Chebel et al., 2004; Santos et al., 2004a) y reduciendo la TC (Santos et al., 2004a; Hertl et al., 2014) un 23% en el caso de la mastitis clínicas y un 14% en las mastitis subclínicas (Lavon et al., 2011a). El recuento de células somáticas (RCS) está ligado a la actividad inmunológica celular y su aumento en leche es un indicador de inflamación intramamaria. Altos RCS se han asociado a una reducción en la TC, mayor riesgo de pérdida de gestación y un aumento del intervalo parto-1ª IA (Schrick et al., 2001; Lavon et al., 2011a; Lomander et al., 2013; Bijker et al., 2015). Se ha reportado una correlación positiva entre el SRC y una elevada incidencia de mastitis clínicas en el rebaño (Gustafsson y Emanuelson, 2002) y un riesgo 2,63 veces mayor de desarrollo de SRC en vacas que habían sufrido mastitis (Befekadu et al., 2023).

Los efectos de la mastitis sobre la reproducción se deben a varios mecanismos. Por un lado, durante la infección se estimula la síntesis de citoquinas proinflamatorias, particularmente TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6 e IL-8 (Rambeaud et al., 2003; Soto et al., 2003; Herath et al., 2009). Estas citoquinas alteran la función ovárica así como la actividad endocrina del hipotálamo y la hipófisis (Sheldon et al., 2014), aumentan la mortalidad embrionaria (Hansen et al., 2004) e inducen la producción de PGF2 $\alpha$  (Skarzynski et al., 2000), que afecta a la maduración de los ovocitos y provoca luteolisis (Huszenicza et al., 2005); y óxido nítrico, que perjudica el desarrollo embrionario (Risco y Dahl, 2018). Por otro lado, las endotoxinas producidas por las bacterias, como el LPS, fomentan la producción factores proinflamatorios y actúan sobre el eje hipotalámico-hipofisario-ovárico inhibiendo de la producción de GnRH (Battaglia et al., 2000), reduciendo o impidiendo el pico de LH y alterando así la ovulación. Se ha demostrado también que la mastitis provoca una disminución de los niveles de estrógenos, que a su vez disminuyen o suprimen el pico de LH (Hockett et al., 2005; Lavon et al., 2010). En vacas con mastitis subclínica, se ha reportado una reducción a nivel folicular de las enzimas esteroidogénicas, lo que da lugar a una baja concentración folicular de hormonas esteroideas (androstenediona y estradiol) y de estradiol plasmático alrededor del estro (Lavon et al., 2011b). Además, el LPS tiene efectos perjudiciales sobre el desarrollo embrionario, reduciendo su calidad y viabilidad (Soto et al., 2003). Por otra parte, durante estos procesos se

produce un aumento de los niveles de cortisol, que reduce la secreción de GnRH y la producción de LH (Dobson et al., 2003; Wolfenson et al., 2015).

### 1.2.7.2 Cojeras

La cojera influye negativamente en el rendimiento reproductivo de las vacas lecheras (Collick et al., 1989; Melendez et al., 2003; Garbarino et al., 2004; Walsh et al., 2007; Alawneh et al., 2011; Dogra et al., 2020). Kara et al. (2011) observaron un aumento de la incidencia del SRC en vacas que presentaban cojera. Varios estudios han observado un intervalo parto-1ª IA mayor (Barkema et al., 1994; Kilic et al., 2007; Charfeddine y Pérez-Cabal, 2017; Mellado et al., 2018), un IPIF más prolongado (Bakerma et al., 1994; Hernández et al., 2001; Kilic et al., 2007; Mellado et al., 2018) y un mayor número de servicios por concepción (Hernandez et al., 2001; Melendez et al., 2003) en vacas que presentaban cojera que en vacas sanas. Se ha observado también que las vacas que presentan cojeras en los primeros 30 días postparto tienen una mayor probabilidad (2,6 veces) de desarrollar quistes ováricos (Melendez et al., 2003).

Además de la influencia de los procesos inflamatorios e infecciosos, comentada previamente, el efecto perjudicial de las cojeras sobre la reproducción puede deberse también a que generan dolor y estrés (Whay et al., 1997; Melendez et al., 2003). Esto produce un aumento plasmático de glucocorticoides y catecolaminas, que alteran la regulación hormonal del desarrollo folicular y la ovulación. Walker et al. (2008) estudiaron el efecto como estresor crónico de la cojera sobre el celo y concluyeron que esta no afectaba a la frecuencia de presentación del estro, pero observaron una reducción de su intensidad que atribuyeron a una concentración de P4 menor en los días previos al estro en las vacas cojas. La reducción de la actividad motora de las vacas cojas puede llevar a que permanezcan tumbadas durante periodos más prolongados y alteren sus patrones de alimentación (Olechnowicz y Jaskowski, 2011). Esto puede conducir hacia una pérdida de peso y presentación de BEN, que tiene efectos perjudiciales sobre el desarrollo folicular (Butler, 2003). Morris et al. (2011) estudiaron el efecto de las cojeras sobre la respuesta reproductiva de vacas entre 30 y 80 días postparto sincronizadas con GnRH y seguida de PGF2 $\alpha$  7 días después. En ese estudio, el 21% de las vacas cojas no expresó celo o no ovuló y el 29% no produjo un folículo funcional en respuesta a la estimulación hormonal exógena, debido a una frecuencia reducida de los pulsos de LH, concentraciones bajas de estradiol o a la ausencia del pico de LH.

## 1.3 DIAGNÓSTICO

La variedad de causas implicadas en el desarrollo del SRC requiere el empleo de numerosas técnicas para su correcto diagnóstico (la mayoría descritas en los apartados correspondientes). En primer lugar, sería necesario contar con la **historia clínica** detallada de los animales y llevar a cabo una **exploración física completa**. Diversas técnicas permiten

evidenciar alteraciones de las estructuras del tracto reproductivo y la presencia de infecciones clínicas o secreciones anormales, así como evaluar la actividad ovárica, y algunas de ellas se emplean de forma rutinaria en las explotaciones de ganado vacuno. Estas técnicas incluyen la inspección visual de los genitales, el empleo de la mano enguantada, un vaginoscopio y/o metrichcheck (McDougall et al., 2007; Pleticha et al., 2009; Ryan et al., 2020), la palpación rectal de las estructuras reproductivas (Lewis, 1997; Hanzen et al., 2000) y su estudio ecográfico (Edmondson et al., 1986; Jones y Beal, 2003). Sin embargo, el diagnóstico del SRC requeriría, en muchos casos, la inclusión de **técnicas adicionales**. La realización de cultivos bacterianos permite el diagnóstico de infecciones del tracto reproductivo (Studer y Morrow, 1978; Lewis, 1997; Bondurant, 1999). La citología es una técnica útil para el diagnóstico de ES (Kasimanickam et al., 2004; Barlund et al., 2008; Madoz et al., 2013), así como la biopsia uterina, que permite evidenciar de forma precisa las alteraciones endometriales y evaluar el grado de infiltración celular y/o los cambios morfológicos celulares (Gilbert et al., 2005; Fuentes et al., 2018; Parikh et al., 2022). Asimismo, se pueden evaluar las alteraciones hormonales y la función ovárica mediante la realización de perfiles hormonales y la determinación de los niveles de P4 en leche, para lo que existen tests de ELISA (Claycomb et al., 1998; Waldmann et al., 2001; Samsonova et al., 2018). Por otro lado, la evaluación de la permeabilidad oviductal permitiría detectar animales con obstrucciones tubáricas (Kauffold et al., 2009; Garrido et al., 2019). Sin embargo, ya sea por su complejidad técnica o por el tiempo y/o recursos que requieren, el uso de estas técnicas a nivel de granja resulta inviable en muchas ocasiones. Además del estudio individual de los animales, es fundamental **evaluar el manejo reproductivo y nutricional** de la explotación, así como los **factores ambientales** que pudieran estar implicados en el desarrollo del síndrome.

## 1.4. FACTORES DE RIESGO

### 1.4.1 Edad

La edad avanzada afecta negativamente la fertilidad y se ha asociado a un mayor riesgo de aparición del SRC (Moss et al., 2002; Asaduzzaman et al., 2016; Hasib et al. 2020; Eshete et al, 2023). Una de las causas de este efecto puede ser la reducción en la calidad de los ovocitos que se ha observado en vacas de más edad (Alvarez et al., 2018). La edad avanzada también se ha relacionado con anomalías ováricas y fallos en la ovulación, que pueden estar debidos a alteraciones en la producción de hormonas hipotalámicas o hipofisarias, o a la incapacidad de los ovarios para responder adecuadamente (Bulman y Lamming, 1978). El efecto de la edad sobre la incidencia del SRC puede deberse también a una mayor incidencia de patologías como la hipocalcemia, distocia y retención de placenta en vacas más viejas (Moss et al, 2002), que afectan negativamente a la fertilidad posterior.

### **1.4.2 Número de parto**

Diversos estudios han relacionado el número de parto con la incidencia del SRC, que aumenta en vacas con 3 o más partos (Moss et al., 2002; Nishi et al., 2018; Bonneville-Hébert et al., 2011; Asaduzzaman et al., 2016; Balasundaram et al., 2016; Eshete et al., 2023). Posiblemente, este efecto sea debido al riesgo de desarrollo de patologías reproductivas durante el parto (distocia, cesárea, retención de placenta) y el postparto (involución uterina inadecuada, inflamación) (Pérez-Marín y Quintela, 2023), que pueden producirse en los sucesivos partos. Por otro lado, en algunos estudios se ha observado una mayor incidencia de SRC en el primer parto (Gustafsson y Emanuelson, 2002; Yusuf et al., 2010; Asaduzzaman et al., 2016; Crivei et al., 2019), que podría deberse a una mayor dificultad de las vacas primíparas para adaptarse a las demandas metabólicas de la lactación. Sin embargo, en algunos estudios no se ha observado una asociación entre este factor y un aumento en la incidencia del SRC (Matubber et al., 2018; Malik et al., 2019; Hasib et al., 2020; Jeong y Kim, 2022).

### **1.4.3. Patologías periparto**

Las alteraciones reproductivas, como la distocia, la retención placentaria, la metritis y la endometritis aumentan el riesgo de aparición del SRC (Bonneville-Hébert et al., 2011; Nath et al., 2014; Matubber et al., 2018; Crivei et al., 2019; Hasib et al., 2020; Jeong y Kim, 2022; Eshete et al., 2023), probablemente debido a una alteración del ambiente uterino. El periparto es un periodo de alto riesgo para el desarrollo de enfermedades, debido que se producen una serie de adaptaciones metabólicas y hormonales que dan lugar a una inmunodepresión que abarca aproximadamente desde 2 semanas preparto hasta 3 semanas postparto (Leblanc et al., 2011). Además, las infecciones retrasan la involución uterina y están asociadas a alteraciones en la concentración de P4 y al retraso en el reinicio de la actividad ovárica (Mateus et al., 2002). Patologías como la hipocalcemia puerperal (Crivei et al., 2019) y otras alteraciones metabólicas (Jeong y Kim, 2022) han sido asociadas al SRC. En otros estudios se ha observado el efecto negativo sobre la fertilidad de las alteraciones metabólicas, incluyendo la hipocalcemia y el desplazamiento de abomaso (Loeffler et al., 1999; Brodzki et al., 2015). Estas patologías afectan a la activación del sistema inmune y a la función de los neutrófilos (Hammon et al., 2006; LeBlanc, 2014), por lo que favorecen el desarrollo de enfermedades uterinas (Dubuc et al., 2010b; Cheong et al., 2011; Williams, 2013). Asimismo, la reanudación anormal de la ciclicidad ovárica en el postparto se ha asociado con un aumento de la incidencia del SRC (Bulman y Lamming, 1978; Yusuf et al., 2010). Estas alteraciones pueden estar relacionadas con el BEN que ocurre en el periparto y que puede dar lugar a desequilibrios hormonales que, a su vez, provocan alteraciones en la ovulación, fallos en la fertilización y muertes embrionarias tempranas (Bulman y Lamming, 1978; Båge et al., 2002; Diskin y Morris, 2008). Además, se ha observado un riesgo mayor de desarrollo de SRC en las vacas que habían sido repetidoras en la lactación anterior (Gustafsson y Emanuelson, 2002; Moss et al., 2002).

#### 1.4.4 Producción láctea

La alta producción láctea se ha relacionado con un mayor riesgo de SRC (Gustafsson y Emanuelson., 2002; Nath et al., 2014; Asaduzzaman et al., 2016; Malik et al., 2019; Befekadu et al., 2023). Las vacas de mayor producción están sometidas a un mayor estrés y a elevadas demandas nutricionales, lo que puede dar lugar a una mayor incidencia de alteraciones metabólicas (Gustafsson y Emanuelson, 2002). El estatus metabólico afecta a la función reproductiva a nivel sistémico, modulando la producción de GnRH y/o de gonadotropinas hipofisarias, y a nivel ovárico, alterando el crecimiento folicular y la esteroidogénesis (García-García, 2012). Además, las vacas de alta producción presentan un elevado aclaramiento hepático de las hormonas esteroideas, lo que provoca alteraciones en la manifestación de celo y en el establecimiento de la gestación (Sangsritavong et al., 2002; Wiltbank et al., 2014). Sin embargo, otros estudios no han encontrado asociación entre la producción láctea y la incidencia de SRC (Jeong y Kim, 2022). En este sentido, otros autores no han observado asociación entre una reducida fertilidad y la elevada producción láctea, reportando de hecho mejores parámetros reproductivos en los animales más productores y concluyendo que los efectos negativos en el desempeño reproductivo pueden deberse a un manejo inadecuado de este tipo de vacas (Santos et al., 2004b; López-Gatius et al., 2006; LeBlanc, 2010).

#### 1.4.5 Raza

Algunos estudios han asociado ciertas razas con una mayor incidencia del SRC. Particularmente, se ha observado que en países con climas cálidos las vacas cruzadas con raza Holstein sufren una mayor incidencia de SRC en comparación con las razas locales (Nishi et al, 2018; Mandefro y Negash, 2014; Asaduzzaman et al., 2016; Malik et al., 2019). Este efecto posiblemente se debe a una peor adaptación a las condiciones climáticas de las vacas de raza Holstein, así como a su menor rusticidad.

#### 1.4.6 Tamaño del rebaño y tipo de sistema productivo

En rebaños extensivos y semi-intensivos, así como en los de mediano y gran tamaño se ha observado una mayor incidencia de SRC (Eshete et al., 2023), lo que podría deberse a aspectos de manejo, como una mejor detección de celos en los rebaños pequeños (Asaduzzaman et al., 2016) o una mayor capacidad de los ganaderos para atender a los animales en el momento del parto, así como para detectar animales enfermos. Otros estudios observaron una reducción de la incidencia del SRC a medida que aumentaba el tamaño del rebaño (Gustafsson y Emanuelson, 2002; Befekadu et al., 2023) y lo atribuyeron a una posible dedicación a tiempo parcial de los ganaderos en los rebaños más pequeños. Por otro

lado, Jeong y Kim (2022) no observaron relación entre el tamaño del rebaño y la incidencia de SRC.

#### **1.4.7 Intervalo parto-1ª IA**

Un intervalo corto entre el parto y la primera IA se ha asociado con una mayor incidencia de SRC (Gustafsson y Emanuelson, 2002; Yusuf et al., 2010) y se ha reportado un riesgo significativamente menor de sufrir el SRC en aquellas vacas inseminadas después de los 80 días postparto en comparación con las inseminadas  $\leq 80$  días después del parto (Jeong y Kim, 2022). Esto puede deberse a que periodos de espera más largos permiten el establecimiento de una mejor salud uterina, la reducción de la inflamación sistémica y el restablecimiento de la ciclicidad ovárica (Stangaferro et al., 2018). Además, los intervalos parto-IA cortos se han asociado con una mayor posibilidad de diagnóstico de ES (Diaz-Lundahl et al., 2021), que se reduce significativamente a partir de los 123 DEL (Pascottini et al., 2017).

#### **1.4.8 Condición corporal (CC)**

Se ha reportado una incidencia mayor de SRC en vacas con una CC pobre que en aquellas con una CC media o buena (Asaduzzaman et al., 2016; Malik et al., 2019; Eshete et al., 2023; Befekadu et al., 2023; Datrianto et al., 2024). La pérdida de CC en el postparto se ha relacionado con una reducción de la fertilidad (Gillund et al., 2001; Pryce et al., 2001). Una CC baja en el momento de la primera IA ( $\leq 2.50$ ) y una pérdida de CC en las tres primeras semanas postparto se han relacionado con una reducción de la TC, así como con una reducción de la calidad de los embriones (Carvalho et al., 2014). La baja CC está relacionada con el BEN que sufren las vacas lecheras al inicio de la lactación y que tiene efectos negativos sobre la fertilidad (Butler, 2003). Sin embargo, en varios estudios no se ha observado asociación de la CC con la incidencia de SRC (Yusuf et al., 2010; Jeong y Kim, 2022) o su influencia no era significativa (Nishi et al., 2018).

### **1.5 ENFOQUES TERAPÉUTICOS**

#### **1.5.1 Tratamientos hormonales**

##### **1.5.1.1 Hormona liberadora de gonadotropina (GnRH)**

###### *a. En el momento de la IA o en el ciclo anterior*

La reducida fertilidad de las vacas SRC se debe, en algunos casos, a defectos en la ovulación, que tienen su origen en alteraciones hormonales (Duchens et al., 1996; Gustafsson y Emanuelson, 2002; Parmar, 2015). Se han observado efectos positivos de la administración de GnRH en el momento de la IA a vacas con SRC, debido a que estimula la

producción de LH y FSH, asegurando la ovulación y evitando asincronías hormonales. Se ha reportado que la administración de **buserelina** en el momento de la IA incrementa las tasas de gestación (Sharma et al., 2006; Murugavel et al., 2020) así como la concentración de P4 en los días 6 y 22 (Selvaraj et al., 2001; Murugavel et al., 2020), y este efecto también se ha observado cuando es administrada el día 12 del ciclo previo a la IA (Selvaraj et al., 2001), presentando un efecto dosis-dependiente (Kharche y Srivastava, 2007). Asimismo, se ha demostrado un aumento significativo de la TC mediante el tratamiento con **lecirelina** en el momento de la IA (Anjum et al., 2010). Aunque el efecto positivo sobre la fertilidad se obtiene con una sola IA combinada con el tratamiento hormonal, se ha descrito también el uso de GnRH en combinación con una doble IA (Stevenson et al., 1990; Sharma et al., 2006).

### ***b. Después de la IA***

Debido a que una de las causas de SRC puede ser una deficiencia de P4, en ocasiones debida a su aclaramiento hepático aumentado (Sangsrivong et al., 2002; Wiltbank et al., 2014), la formación de un cuerpo lúteo accesorio puede favorecer el mantenimiento de la gestación. Asimismo, el mantenimiento de los niveles de P4 en los días previos al reconocimiento materno de la gestación es importante para la supervivencia embrionaria (Mann y Lamming, 2001). En base a ello, diversos estudios han evaluado el efecto del empleo de GnRH después de llevar a cabo la IA sobre la fertilidad en vacas SRC. Se ha observado que la administración de **gonadorelina** en los días 7-14 posteriores a la IA estimula el desarrollo de un segundo cuerpo lúteo, favoreciendo el desarrollo embrionario y mejorando las tasas de gestación (Bors et al., 2023). Se han obtenido también resultados positivos con su administración el día del estro y la repetición del tratamiento 12 días después (Hasan et al., 2021). Del mismo modo, se ha evaluado el efecto sobre la fertilidad de **deptherelina** en dosis normal (100 µg) y doble dosis (250 µg) durante la fase lútea temprana (5-7 días tras la IA) (López-Gatius y García-Ispierto, 2020). El tratamiento con dosis elevadas resultó en una mejora de la tasa de gestación y ambas dosis aumentaron la probabilidad de desarrollo de cuerpos lúteos accesorios, lo que puede favorecer la supervivencia embrionaria. Por otro lado, el empleo de **buserelina** ha demostrado mejorar significativamente las tasas de gestación cuando es administrada 5 o 12 días tras la IA (Birhanu et al., 2014; Pirokad et al., 2022), así como con el empleo de dos dosis: en el día del estro y 10-14 días después (Dodamani et al., 2010), así como 6 horas antes de la IA y 12 días después (Dadarwal et al., 2007). Sin embargo, otros estudios describen que la administración de GnRH a los 5-6 días (Khoramian et al., 2011) o a los 12 días después de la IA (Ergene, 2012) no mejora la tasa de gestación en comparación con las vacas no tratadas.

### **1.5.1.2 Gonadotropina coriónica humana (hCG)**

La hCG es una glicoproteína producida por el embrión humano durante los primeros días tras la fecundación y posteriormente por las células del sincitiotrofoblasto placentario (Stenman et al., 2006; de Medeiros y Norman, 2009). Es un potente agonista de la LH e induce la ovulación (Rizos et al., 2012), ejerciendo su acción mediante la unión directa a los receptores de LH de las células luteales (Stevenson et al., 2007). Se ha empleado como tratamiento en vacas SRC, obteniéndose mejoras en la TC mediante su administración en el momento de la IA (Patel et al., 2005; Parmar et al., 2013; Senthil Kumar et al., 2014), así como entre 4 y 6 días tras la IA (Khoramian et al., 2011; Alnimer et al., 2015; Pandey et al., 2016; Kunde et al., 2018; Singh et al., 2020). Además, la administración de hCG se ha asociado a la formación de un cuerpo lúteo accesorio (Pandey et al., 2016; Singh et al., 2020a), así como a concentraciones plasmáticas de P4 más elevadas (Patel et al., 2005; Alnimer et al., 2015; Kunde et al., 2018; Singh et al., 2020a), incrementando la fertilidad y favoreciendo la supervivencia embrionaria (Thatcher et al., 2003). Sin embargo, Walton et al. (1990) no obtuvieron una mejora de la tasa de gestación tras la administración de hCG 5 días post-IA a vacas con SRC, a pesar de observar un aumento significativo de los niveles de P4 sérica.

### **1.5.1.3 Progesterona (P4)**

Debido a la influencia de la P4 en el desarrollo folicular y en el mantenimiento de la gestación, su deficiencia puede causar el SRC. En base a ello, varios estudios han evaluado los efectos del tratamiento con P4 sobre la fertilidad de vacas con SRC.

#### ***a. Antes de la IA***

Se han observado mejores TC en vacas con SRC con su uso previo a la administración de PGF2 $\alpha$  y de la IA (Rajkumar et al., 2018; Sarath et al., 2019), así como con su inclusión en el protocolo Ovsynch (Jayaganthan et al., 2016a), lo que evita asincronías hormonales en el momento del estro.

#### ***b. Después de la IA***

Se han obtenido mejoras en la TC con el uso de dispositivos intravaginales de P4 colocados tras la IA, manteniéndolos entre los días 5 y 9 (Ghasemzadeh et al., 2007), 5 y 13 (Reshma et al., 2020), 5 y 18 (Chaudhari et al., 2015) o 5 y 19 post-IA (Villarroel et al., 2004; Ghasemzadeh et al., 2007; Izumi et al., 2020). Esta suplementación adicional asegura concentraciones suficientes de P4 durante el periodo crítico de la gestación temprana y fomenta el crecimiento embrionario.

Sin embargo, en varios estudios no se han observado mejores TC con el empleo de estos dispositivos en vacas con SRC (Walton et al., 1990; Ergene, 2013; Pandey et al., 2016).

#### 1.5.1.4 PGF2 $\alpha$

La administración de PGF2 $\alpha$  en vacas con un cuerpo lúteo sensible provoca luteolisis e induce el estro, favoreciendo la eliminación de la contaminación bacteriana del útero (Kasimanickam et al., 2005b). Además, puede mejorar la respuesta inmune al eliminar el efecto inmunosupresor de la P4 (Lewis, 2004). Se ha reportado una disminución del porcentaje de vacas que desarrollan SRC mediante el tratamiento con PGF2 $\alpha$  a partir de 14 días postparto (Sani et al., 2016), probablemente debido a que favorece la expulsión de patógenos y residuos de la luz uterina mediante las contracciones miométricas, unido al restablecimiento de la ovulación. Asimismo, se ha planteado el empleo de PGF2 $\alpha$  para el tratamiento de vacas con ES que, como se ha mencionado anteriormente, está muy relacionado con el SRC. Kasimanickam et al. (2005b) describieron un aumento de la tasa de gestación en vacas ES tratadas con cloprostenol en los días 21-33 postparto comparadas con las vacas control. Sin embargo, otros estudios no han observado una reducción en la incidencia de ES ni una mejora de la fertilidad tras el tratamiento con PGF2 $\alpha$  los días 21, 35 y 49 postparto (Galvão et al., 2009a), ni en los días 25  $\pm$  3 y/o 39  $\pm$  3 postparto (Lima et al., 2013).

#### 1.5.1.5 Protocolos de sincronización de la ovulación

Los protocolos hormonales para la realización de IA a tiempo fijo (IATF) permiten controlar el crecimiento folicular, la luteolisis y la ovulación (Chebel, 2011), y se usan habitualmente para mejorar la fertilidad y facilitar el manejo de la IA (Lamb et al., 2010; Mellado et al., 2012). Debido a que el SRC puede estar causado por ciertas alteraciones hormonales que dan lugar a fallos en la foliculogénesis, la ovulación y la actividad lútea, su empleo permite mejorar el rendimiento reproductivo en estos animales, además de eliminar la necesidad de detección de celos (Pursley et al., 1995).

El protocolo Ovsynch consiste en la administración de una combinación de GnRH+PGF2 $\alpha$ +GnRH (Pursley et al., 1995). Este protocolo y sus modificaciones se emplean habitualmente en el manejo reproductivo de las vacas lecheras y varios estudios han descrito la mejora de las tasas de gestación en vacas con SRC (Barolia et al., 2016; Jayaganthan et al., 2016b; Manokaran et al., 2016; Cenariu y Jospe, 2017; Karki et al., 2018; Singh et al., 2019; Rajkumar et al., 2023). Mediante la combinación del Ovsynch junto al uso de un dispositivo intravaginal de P4 durante los primeros 7 días del protocolo, se ha obtenido una TC del 61% (Ghuman et al., 2012) y con la administración adicional de GnRH 7 días después de la IA, se han observado TC y tasas de pérdidas embrionarias similares a las de vacas sanas (Keskin et al., 2010). También se ha descrito una mejora de la fertilidad mediante el uso del protocolo

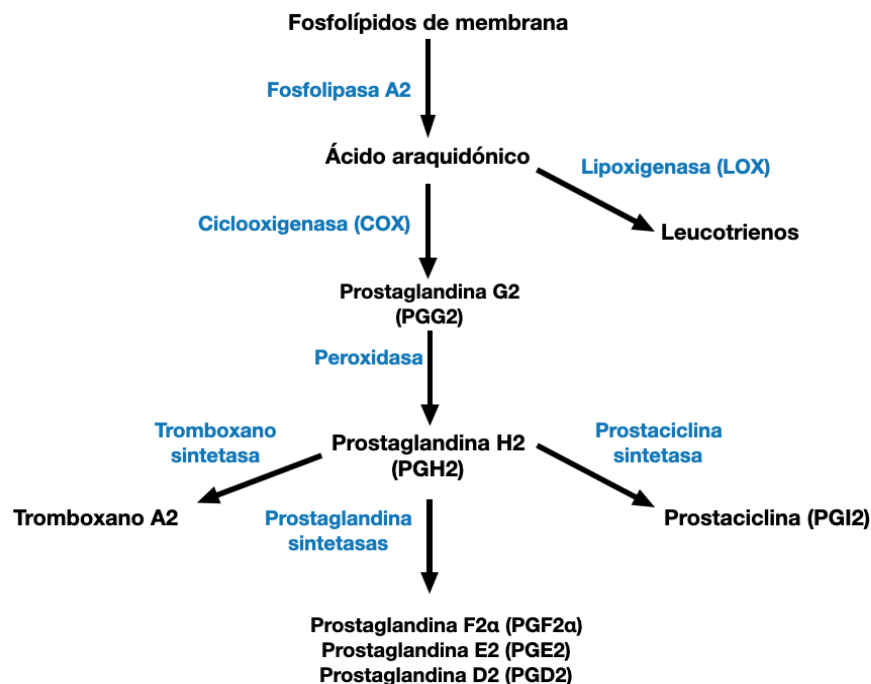
G6G, administrando PGF2 $\alpha$  (día 0) + GnRH (día 2) y comenzando un protocolo Ovsynch 6 días después (Ahmed et al., 2017b). Se ha observado asimismo que la sincronización de vacas repetidoras mediante la administración de dos dosis de PGF2 $\alpha$  con 11 días de diferencia junto una GnRH administrada en el momento de la IA resulta en una mejora de la TC y un porcentaje mayor de vacas que manifiestan el celo (Kadagi et al., 2022). Los protocolos que combinan estradiol con P4, PGF2 $\alpha$ , estradiol y/o GnRH han resultado en ondas de desarrollo folicular y ovulaciones sincrónicas en vacas con SRC (Kim et al., 2007). En un estudio realizado con vacas con SRC que combinó el uso de estradiol, PGF2 $\alpha$  y GnRH se obtuvo una mejor tasa de gestación, niveles más elevados de estradiol y P4, así como una mejora en la detección de celos, cuando se empleaba un dispositivo liberador de P4 durante los 7 primeros días del protocolo (Alnimer y Husein, 2007), lo que está en línea con los resultados de Mellado et al. (2012). Chaikol et al. (2022) evaluaron un protocolo de 7 días en novillas con SRC que combinaba P4-GnRh+PGF2 $\alpha$  y concluyeron que la tasa de gestación y el tamaño del folículo preovulatorio eran mayores en los animales que tenían un CL al inicio del protocolo. Sin embargo, ciertos factores pueden tener una influencia negativa sobre la fertilidad en vacas sometidas a estos protocolos, como los picos de lactación altos, una elevada concentración de proteína en la leche, el número de servicio, el número de lactación, un alto índice temperatura-humedad (ITH) y periodos secos cortos (Mellado et al. 2012).

Por otro lado, se ha propuesto el uso de protocolos de sincronización para mejorar la eficacia de la transferencia de embriones a vacas SRC. Empleando un protocolo que combinaba GnRH, un implante de P4, estradiol y PGF2 $\alpha$  (sin detección de celo), Rodrigues et al. (2010) obtuvieron un porcentaje mayor de vacas transferidas y una tasa de gestación mayor que en vacas que habían recibido solo una PGF2 $\alpha$  para inducir el estro. Además, este protocolo permitía el empleo como receptoras de vacas sin CL al inicio de la sincronización y eliminaba la necesidad de detectar el celo. Son et al. (2007) emplearon un protocolo similar para la sincronización de vacas repetidoras y obtuvieron una tasa de gestación significativamente mayor en vacas transferidas en comparación con las que fueron inseminadas tras el mismo protocolo y con las vacas control (PGF2 $\alpha$ +IA).

### **1.5.2 Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)**

Los mediadores de la inflamación, como el TNF $\alpha$  y las IL, ejercen diversos efectos sobre la reproducción, alterando la función ovárica, el desarrollo folicular, la competencia de los ovocitos y la supervivencia embrionaria (Karsch et al., 2002; Baravalle et al., 2015; Ribeiro y Carvalho, 2018; Risco y Dahl. 2018). Además, estimulan la síntesis de PGF2 $\alpha$  (Skarzynski et al., 2000; Tanikawa et al., 2008), otro mediador de la inflamación que además provoca la luteolisis, dando lugar a pérdidas embrionarias (McCrahen et al., 1999; Rathbone et al., 2001). El ácido araquidónico, presente en la membrana celular, es el precursor de las prostaglandinas, cuya síntesis se produce mediante el efecto de varias enzimas, comenzando por la ciclooxigenasa (COX) (Brock et al., 1999; Marnett et al., 1999) (Figura 1). Debido a que los AINEs actúan inhibiendo esta vía enzimática, y teniendo en cuenta el efecto negativo

que ejerce la inflamación sobre la reproducción, su empleo se ha propuesto para mejorar el desempeño reproductivo en vacas (Paksoy y Das, 2013; Jaśkowski et al., 2021). Sin embargo, los estudios acerca del tratamiento del SRC con estos fármacos son escasos.



**Figura 1. Síntesis de las prostaglandinas**

Amiridis et al. (2009) obtuvieron TC en vacas con SRC tratadas con una combinación de meloxicam + GnRH + P4 significativamente más altas (35,7%) que las obtenidas en las tratadas con GnRH y las no tratadas (20% y 17,76%, respectivamente). En un estudio realizado con 32 vacas repetidoras por Singh et al. (2020c), se obtuvo un aumento del nivel de P4 sérica y de la tasa de preñez cuando se administraba una combinación de acetato de buserelina en el momento de la IA + P4 4, 5 y 6 días post-IA + ácido tolfenámico 16, 17 y 18 días post-IA, en comparación con las vacas control y con las tratadas solo con acetato de buserelina o acetato de buserelina + P4.

Por otro lado, se ha propuesto el uso de AINEs para el tratamiento de la ES, una de las causas del SRC, en la que se produce un estado de inflamación persistente que afecta al endometrio y al eje hipotálamo-hipófisis-ovario. Priest et al. (2013) estudiaron los efectos del carprofeno en vacas diagnosticadas con ES a los 14 días postparto mediante una citología endometrial (punto de corte utilizado: >14% PMN). Estos investigadores administraron vía subcutánea 3 dosis a intervalos de 3 días entre los 21 y los 31 días postparto y observaron que el tratamiento no tuvo efecto en el porcentaje de PMN a los 42 días postparto ni en la producción láctea, pero mejoró la tasa de preñez y la funcionalidad hepática en las vacas tratadas en comparación con las vacas control. Sin embargo, en un estudio realizado por

Meier et al. (2014) en el que se trataron con carprofeno vacas en la primera o tercera semana postparto, no se obtuvieron mejores resultados en la producción láctea, los indicadores de salud metabólica, ni la eficiencia reproductiva.

Recientemente se ha evaluado el efecto de varios AINEs en la modulación de la inflamación endometrial en un modelo *in vitro* (Crookenden et al., 2023) mediante la medición de marcadores de la inflamación (SAA y alfa-1-glicoproteína ácida) y de la expresión de genes implicados en vías inflamatorias. En base a los resultados de este estudio, los autores recomiendan el empleo de flunixin meglumine, meloxicam y ácido tolfenámico en la realización investigaciones adicionales *in vivo* debido a su capacidad para prevenir un aumento de la inflamación uterina *in vitro*.

En varios estudios se ha valorado el efecto de los AINEs para mejorar la supervivencia embrionaria. Heuwieser et al. (2011) estudiaron el efecto de la administración de carprofeno en la IA de vacas lecheras, debido a que esta implica una manipulación uterina, lo que puede provocar inflamación endometrial que se ha asociado a un aumento de la secreción de prostaglandinas (Wann y Randel, 1990; Scenna et al., 2005). En el caso de las vacas tratadas por vía subcutánea durante la primera IA, obtuvieron una TC similar a la del grupo control de vacas no tratadas. Sin embargo, el tratamiento intrauterino con carprofeno entre 12 y 24 horas tras la IA tuvo un efecto negativo en la TC. Por otro lado, y teniendo en cuenta que el embrión produce IFNT, que impide la luteolisis mediante la inhibición de la producción de PGF2 $\alpha$  (Mann y Lamming, 1995) y suponiendo que una producción insuficiente de IFNT puede dar lugar a la secreción de PGF2 $\alpha$  y a la pérdida de la gestación, se estudió el efecto de los AINEs en los días cercanos al reconocimiento materno de la gestación. Von Krueger y Heuwieser (2010) evaluaron el efecto de la administración de flunixin meglumine y el carprofeno sobre la TC al primer servicio. Tras administrar dos dosis de flunixin meglumine a novillas entre los días 14 y 16 tras la IA, y carprofeno a vacas en el día 15 tras la IA, no observaron una mejora de la TC con ninguno de los dos tratamientos en comparación con el grupo control. Guzeloglu et al. (2007) administraron dos dosis de flunixin meglumine con 12 horas de diferencia a novillas en los días 15 y 16 tras la IA y obtuvieron una TC mejor en las novillas tratadas que en las novillas control. Basándose en los resultados de ese estudio, Erdem y Guzeloglu (2010) administraron meloxicam a novillas el día 15 tras la IA, ya que su vida media es más larga que la del flunixin meglumine, lo que permitió una única administración. En este caso se reportó un efecto negativo del tratamiento, que resultó en una TC mucho menor en las novillas tratadas frente al grupo control.

Asimismo, se ha estudiado el efecto del tratamiento con AINEs en vacas en el postparto temprano. Trevisi y Bertoni (2008) estudiaron el efecto de la administración de acetilsalicilato de lisina vía intramuscular en los primeros días de lactación. Las vacas tratadas durante los primeros 5 días postparto presentaron mejores parámetros reproductivos que las del grupo control: mayor porcentaje de gestantes a primera IA, menos servicios por concepción, menos días abiertos y un porcentaje menor de vacas repetidoras. Barragan et al. (2020) evaluaron el efecto del tratamiento con ácido acetilsalicílico en vacas lecheras en los

primeros días postparto sobre la producción láctea, la fertilidad y la salud. Observaron que las vacas tratadas vía oral con 4 dosis de ácido acetilsalicílico en intervalos de 12h tuvieron menos días abiertos y requirieron menos servicios por concepción que las vacas tratadas con un placebo. Pascottini et al. (2020a) estudiaron los efectos del tratamiento con meloxicam durante 4 días (10 a 13 días postparto) en vacas sanas y observaron una atenuación de la inflamación sistémica y una mejora de los marcadores del metabolismo energético. Aunque el tratamiento resultó en una mejora en la función de los PMN, esto no se tradujo en una reducción de la inflamación endometrial.

### 1.5.3 Técnicas de reproducción asistida

En las últimas décadas se han desarrollado y aplicado nuevas biotecnologías en la industria ganadera para aumentar la eficiencia en los sistemas de producción de carne y de leche. Entre estas tecnologías se encuentran las implicadas en la reproducción asistida (Velázquez, 2008), siendo la producción y transferencia de embriones (TE) una de las herramientas más empleadas para acelerar la mejorar genética a nivel mundial (Bo et al., 2006; Baruselli et al., 2018).

Diversos estudios han constatado que la TE también permite mejorar la fertilidad en situaciones de estrés calórico (Rodrigues et al., 2007a, 2007b, 2011; Baruselli et al., 2010) y en vacas con SRC (Dochi et al., 2008; Ferreira et al., 2011; Rodrigues et al., 2010; Stewart et al., 2011; Say y Sagirkaya, 2021), ya que evita los problemas asociados a la calidad de los oocitos y al fracaso de la fecundación y/o del desarrollo embrionario temprano (Ferreira et al., 2011; Hansen, 2020; Nowicki et al., 2021; Baruselli et al., 2022). La TE permite mejorar las tasas de preñez en vacas repetidoras en comparación con el uso de IA (Block et al., 2010; Ferreira et al., 2010). Rodrigues et al. (2007b) observaron TC más elevadas con el uso del TE frente a la IA en vacas repetidoras (41,7% frente al 17,9%). Este efecto se observa durante todo el año, pero fue más marcado durante los meses cálidos. Son et al. (2007) reportaron tasas de preñez mayores (53,8%) con la TE en vacas repetidoras sincronizadas con un dispositivo CIDR frente a las que fueron inseminadas tras el mismo método de sincronización (7,7%) y al grupo control de vacas inseminadas tras la inducción del estro con la administración de una PGF2 $\alpha$  en fase luteal (18,5%).

Otra opción que se ha planteado es la de mejorar la tasa de preñez en vacas con SRC realizando una TE tras la IA. Dochi et al. (2008) transfirieron embriones producidos *in vitro* a vacas y novillas repetidoras y obtuvieron mejores resultados cuando la transferencia tuvo lugar tras la realización de una IA que cuando sólo se realizó la transferencia de embriones (49,2% frente al 29,5% en novillas y 41,5% frente al 20,4% en vacas). Dicho estudio concluyó que la TE sería un método eficaz para mejorar las tasas de preñez en vacas holstein con SRC. Canu et al. (2010) empleando embriones producidos *in vivo*, obtuvieron mejores tasas de preñez en vacas lecheras repetidoras cuando se realizó la TE en combinación con la IA en comparación con la IA sola (52,6% frente al 30%). En el estudio de Yaginuma et al.

(2019) se emplearon embriones producidos *in vitro* transferidos tras una IA y se obtuvo una tasa de preñez del 46,9% en animales con SRC, así como el aumento de la expresión de ARNm de genes estimulados por IFN, por lo que la mejora de la fertilidad podría atribuirse a la producción de IFNT procedente del embrión adicional. Esta práctica tiene el inconveniente de que aumenta la tasa de gestaciones gemelares, aunque los diferentes estudios han reportado tasas variables: 6,25% (Canu et al., 2010), 8% (Dochi et al., 2008) y 18,4% (Yaginuma et al., 2019). Las gestaciones gemelares tienen consecuencias negativas como el aumento de la incidencia de abortos, distocias, retención placentaria y alteraciones metabólicas, así como de la mortalidad de los recién nacidos y de la disminución de la producción láctea (Nowicki et al., 2021) y, por lo tanto, no son deseables.

#### 1.5.4 Tratamientos antibióticos

Algunos estudios han evaluado la eficacia de los tratamientos antibióticos para el control de la ES, una de las causas del SRC. Basándose en su efectividad en vacas con endometritis clínica (LeBlanc et al., 2002) y en la posibilidad de que la infección persista tras la resolución de los signos clínicos, se ha propuesto el uso de la infusión intrauterina de cefapirina en vacas diagnosticadas con ES (Kasimanickam et al., 2005b; Denis-Robichaud et al., 2015; Malik et al., 2024), reportándose un aumento de la TC en la primera IA postparto tras este tratamiento. Sin embargo, la cefapirina vía intrauterina administrada 12 horas post-IA tras un protocolo Ovsynch no mejoró la TC en vacas con SRC diagnosticadas con ES (Gümen et al., 2012). Por otro lado, Galvão et al. (2009b) no observaron una reducción de la prevalencia de ES ni una mejora de la fertilidad en vacas previamente sincronizadas con dos dosis de PGF2 $\alpha$  tras el tratamiento con una infusión intrauterina de ceftiofur.

En vacas con SRC y ES, divididas en grupos en base a un antibiograma, se obtuvieron tasas de gestación semejantes a las de las vacas control, sin SRC, tras 3 inseminaciones (93% frente a 80%, respectivamente), mediante el tratamiento intramuscular e intrauterino con gentamicina durante 5 días, mientras que el tratamiento a dosis similar y por las mismas vías con enrofloxacino produjo peores resultados (33%) (Warriach et al., 2008). Otros autores, sin embargo, observaron mejores tasas de gestación en vacas con SRC tratadas con una infusión intrauterina de gentamicina, enrofloxacino o cefalexina en comparación con vacas control sanas (Parikh et al., 2017). Al comparar varios protocolos terapéuticos, otros autores describen mejores tasas de gestación en vacas con ES tratadas con levofloxacino vía intramuscular durante los 3 días previos a la IA (Asfar et al., 2020). Además, se ha descrito la reducción del %PMN y mejores tasas de gestación mediante la infusión intrauterina de levofloxacino, metronidazol o cefalexina en vacas SRC con ES, en comparación con vacas control (Kumar et al., 2023).

## 1.5.5 Otros tratamientos

### 1.5.5.1 Lavado uterino

Los lavados uterinos se han empleado con éxito en el tratamiento de la inflamación uterina en yeguas (Hurtgen, 2006; Lui y Troedsson, 2008), gracias al efecto positivo que ejerce mediante barrido mecánico, que favorece la eliminación de los PMN no funcionales del útero, así como de otros productos de la inflamación (Brinsko et al., 1990; Mattos et al., 1997). Además, induce contracciones miométriales que facilitan el vaciado del útero (Brinsko et al., 2011). Dini et al. (2015) determinaron el %PMN mediante citología en vacas postparto antes y 10 días después de la realización de un lavado uterino con solución salina fisiológica y demostraron una reducción significativa del %PMN en las vacas tratadas, lo que sugiere la posibilidad de emplear esta técnica en vacas con ES. Sin embargo, no se obtuvieron datos sobre la fertilidad posterior en los animales tratados.

Alagar et al. (2017) comprobaron una reducción del %PMN en vacas con SRC tras el lavado con solución salina tanto el día del celo como 4, 8 y 12 días después, y Reddy (2010) observó una mejora en la tasa de gestación de vacas con SRC tras la aplicación de un lavado uterino en combinación con antibiótico. Otros autores propusieron añadir a estos tratamientos una PGF $2\alpha$  (Ahmadi y Dehghan, 2007; Singh et al., 2021). En este sentido, la combinación del lavado uterino con levamisol y PGF $2\alpha$  mejoró la tasa de gestación en búfalas con ES (Singh et al., 2021).

### 1.5.5.2 Ozono

El ozono se ha empleado en la reproducción bovina por su efecto bactericida, antiinflamatorio e inmunoestimulante (Zobel, 2013; Polat et al., 2016). La administración de ozono intrauterino ha demostrado ser eficaz en la mejora de la fertilidad de vacas lecheras con metritis y endometritis, reduciendo los días abiertos y el intervalo parto-1<sup>a</sup> IA (Đuričić et al., 2014), así como en el tratamiento de la retención de placenta y la mejora de la salud puerperal y la fertilidad, solo o en combinación con terapia antibiótica (Zobel y Tkalcic, 2012). Se ha observado también que la aplicación de ozono intrauterino en el puerperio temprano mejora el desempeño reproductivo (Djuricic et al., 2012) y reduce la incidencia posterior de ES, una de las causas del SRC, en vacas lecheras (Escandón et al., 2020). Se ha demostrado que su empleo intrauterino, en forma de spray, es eficaz para el tratamiento de vacas con infecciones uterinas (Durrani et al., 2017), endometritis (Zobel, 2013) y ES (Polat et al., 2016).

Mali et al. (2020) observaron una reducción del %PMN ( $7.4\pm 0.68$  a  $2.5\pm 0.34$ ) en vacas repetidoras con ES tratadas con ozono intrauterino (55 mcg/ml, 60 ml) y obtuvieron una mayor TC (50%) que con el empleo de cefalexina intrauterina (40%). Romero-Aguilar et al. (2022) administraron ozono intrauterino (45  $\mu$ g/ml en 60ml de agua destilada) a vacas repetidoras con ES y obtuvieron reducciones del porcentaje de PMN mayores que con el uso de la cefapirina intrauterina (del 11,5% al 4% en el grupo tratado con ozono y del 12,50 % al

6,55 % en el grupo tratado con cefapirina), obteniendo también porcentajes mayores de preñez en el grupo tratado con ozono, aunque sin diferencias estadísticamente significativas. En el estudio de Da Luz (2013) administraron óvulos intrauterinos de ozono 10 horas antes de la IA y obtuvieron mejores TC en los animales tratados en comparación con el grupo control (43% frente a 26%), pero sin diferencias estadísticamente significativas, posiblemente debido al reducido tamaño muestral. Otros estudios (Aitalwad et al., 2021; Ganpatrao y Markandeya, 2023) han valorado la administración de ozono intrauterino (55µg/ml en 60ml de agua destilada) para el tratamiento de vacas con SRC y concluyeron que fue eficaz en base a las tasas de curación y TC obtenidas. El ozono supone una alternativa interesante para contribuir a evitar las resistencias antimicrobianas, además de presentar ventajas como su bajo coste y la ausencia de periodo de supresión (Durrani et al, 2017; Appiah et al., 2020).

### **1.5.5.3 Escopolamina**

Los defectos en la contractilidad uterina pueden reducir la fertilidad y dar lugar al SRC. En base a ello, se ha propuesto el empleo de escopolamina, un fármaco parasimpaticolítico, para modular la contractilidad de la pared uterina y mejorar las TC en vacas repetidoras con alteraciones hormonales o déficits bioquímicos. Mediante la administración de escopolamina 12 horas antes de la IA a vacas con SRC, Rizzo et al. (2023) observaron un aumento significativo de la TC en comparación con las vacas SRC no tratadas (80% frente a 25%, respectivamente).

### **1.5.5.4 Osteopontina (OPN)**

La OPN es una fosfoproteína implicada en la inflamación, la inmunidad, la reparación tisular, la formación ósea y señalización celular (Clemente et al., 2016). Un estudio ha descrito el uso de la OPN de la leche mediante infusión intravaginal para normalizar el perfil de EGF en vacas con SRC (Kyaw et al., 2022). En dicho estudio se seleccionaron vacas que no presentaban defectos ecográficos, patologías uterinas en la citología, ni alteraciones de la permeabilidad de los oviductos, y se consiguió mejorar la fertilidad en comparación con el grupo control. El efecto de la OPN podría deberse a que sensibiliza a las células inmunes de la vagina, provocando cambios sistémicos o uterinos mediante la activación de las células inmunitarias en los ganglios linfáticos asociados.

### **1.5.5.5 Insulina**

Durante el postparto temprano se produce un BEN en el que los niveles de insulina e IGF-1 son reducidos (Bisinotto et al., 2012), lo que influye negativamente en la reproducción debido a los efectos del IGF-1 sobre la esteroidogénesis y la foliculogénesis (Lucy et al., 1992; Zulu et al., 2002). Se ha sugerido la administración de insulina como

tratamiento para mejorar la fertilidad en vacas con SRC, ya que ésta aumenta los niveles intrafoliculares y periféricos de IGF-1 (Simpson et al., 1994). En este sentido, Selvaraju et al. (2002), observaron una ligera mejora de la TC con la administración subcutánea de insulina (0.2 IU/kgPV/día) durante los días 8, 9 y 10 del ciclo estral, aunque las diferencias con el grupo control no fueron estadísticamente significativas. En otro estudio en vacas con SRC tratadas durante 3 días con insulina subcutánea (0.25 IU/kgPV/día) se obtuvieron mejores TC y un aumento significativo de los niveles de P4 sérica en comparación con las vacas control y las tratadas con GnRH (Sharma et al., 2011).

#### 1.5.5.6 Plasma seminal

El plasma seminal procede de las secreciones de las glándulas masculinas accesorias y su función es transportar, nutrir y proteger a los espermatozoides tras la eyaculación (Bromfield, 2016). Estudios en varias especies han indicado que el plasma seminal podría mejorar la fertilidad mediante la modulación de la función y el ambiente uterinos, favoreciendo el desarrollo y la supervivencia embrionaria (Alghamdi et al., 2004; O'Leary et al., 2004; Bromfield et al., 2014; Crawford et al., 2015). Debido a que se ha observado una alteración del perfil de EGF en vacas con SRC, lo que puede tener efectos negativos en la reproducción (Katagiri y Takahashi, 2006), se ha propuesto el empleo de plasma seminal para contribuir a mejorar la función uterina y la fertilidad en estos animales. En este sentido, se ha demostrado la normalización del perfil de EGF mediante la infusión intravaginal de plasma seminal en vacas con SRC (Badrakh et al., 2020; Ninpetch et al., 2022), así como una mejora de la tasa de gestación en comparación con las vacas control (Badrakh et al., 2020). Ninpetch et al. (2022) señalaron la posibilidad de una asociación con la expresión de receptores de leptina, que se redujo simultáneamente a la normalización del perfil de EGF tras el tratamiento. Sin embargo, no se han reportado efectos beneficiosos tras la infusión intrauterina de plasma seminal tras la IA en vacas al primer servicio (Ortiz et al., 2019).

Por otro lado, en un modelo *in vitro* que estudió el efecto del plasma seminal bovino sobre la ES se demostró su capacidad para bloquear la migración de PMN estimulada por IL-8 y reducir la producción de ROS (Aloé et al., 2012).

#### 1.5.5.7 Plasma rico en plaquetas (PRP)

El PRP contiene factores de crecimiento y citoquinas que pueden tener un efecto positivo en la reparación tisular y la receptividad endometrial (Farimani et al., 2017). Por ello, se ha propuesto su uso terapéutico a nivel reproductivo en base a su potencial para mejorar el ambiente endometrial (Gonçalves et al., 2019). En un modelo *in vitro*, Marini et al. (2016) demostraron que el PRP aumenta la expresión de varios genes implicados en el ciclo estral y la interacción materno-fetal, y que reduce la expresión de factores proinflamatorios (IL-1 $\beta$ ,

IL-8, COX2, óxido nítrico sintetasa) tras la estimulación con LPS en células endometriales. Por otro lado, se han obtenido resultados positivos en la producción *in vitro* de embriones bovinos mediante el cultivo suplementado con PRP, ya que estimula la maduración de los ovocitos y el desarrollo embrionario (Lange-Consiglio et al., 2015; Hassaneen et al., 2023). Se ha observado también una mejora de la tasa de gestación con la administración intrauterina de PRP a vacas con SRC 24 horas tras la IA (Hassaneen et al., 2023) y 48 horas tras la IA (Lange-Consiglio et al., 2015).

#### **1.5.5.8 Bacterias ácido lácticas**

Los lactobacilos Gram-positivos tienen la capacidad de producir ácido acético y láctico, peróxido de hidrógeno y bacteriocinas, que se consideran útiles en el control de las bacterias patógenas (Aroutcheva et al. 2001). Se ha demostrado que las bacterias ácido lácticas modulan la infección por *E.coli* y la inflamación endometrial, reduciendo la secreción de marcadores de la inflamación (Genís et al., 2017). Varios autores han propuesto la administración intravaginal de bacterias ácido lácticas a vacas en el preparto y periparto como medida preventiva contra el desarrollo de patologías uterinas y han observado una reducción de la incidencia de metritis y otras patologías, así como un efecto modulador de la inflamación sistémica postparto (Deng et al., 2015; Genís et al., 2018). En relación con esto, Peter et al., en 2018, observaron, tras la infusión intrauterina de *Lactobacillus buchneri* entre los días 24 y 30 postparto, una mejora de la fertilidad en vacas sanas y con ES así como, la reducción de la expresión endometrial de ARNm de varios factores proinflamatorios tres semanas después de la infusión. Debido a que el desarrollo de patologías uterinas postparto puede dar lugar al SRC, el empleo de estas bacterias podría resultar interesante para su prevención. Sin embargo, no existen estudios acerca de su efectividad en vacas repetidoras.

#### **1.5.5.9 Enzimas proteolíticas**

El uso de las enzimas proteolíticas (tripsina, quimiotripsina y papaína) se ha propuesto como tratamiento intrauterino para el control de la endometritis en vacas lecheras. Estas enzimas no solo tienen actividad fibrinolítica y proteolítica, sino que también apoyan los mecanismos de defensa celular e inhiben el crecimiento de microorganismos (Drillich et al., 2005). Sin embargo, los estudios acerca de su efectividad son escasos y con resultados variables. En vacas con endometritis clínica, las tasas de gestación en vacas tratadas con enzimas proteolíticas fueron significativamente menores que con el uso de cloprostenol (Drillich et al., 2005). Por otra parte, se ha obtenido una reducción del %PMN y de la carga bacteriana tras el tratamiento con enzimas proteolíticas de vacas con ES, así como una mejor TC al primer servicio en comparación con las vacas control (Singh et al., 2017). Por último, se ha reportado una disminución de la inflamación endometrial mediante su empleo en búfalas con ES (Singh et al., 2020b).

### 1.5.5.10 Fitoterapia

Diversos estudios han evaluado el efecto de la fitoterapia en el tratamiento de enfermedades reproductivas en el ganado vacuno (Mandhwani et al., 2017; Sharma et al., 2018). El **ajo** tiene propiedades antibacterianas (Sharma et al., 2018) y se ha observado su eficacia en el tratamiento intrauterino de vacas con endometritis y la reducción de la carga bacteriana del moco cervico-vaginal (Sarkar et al., 2016). Tras la infusión intrauterina de extracto de ajo se ha observado un efecto reductor de la inflamación endometrial y una mejora de la TC en vacas con ES (Yildiz, 2016) y en vacas con SRC diagnosticadas con ES (Bhardwaz et al., 2018; Lawange et al., 2019). El **neem** (*Azadircta indica*) tiene propiedades inmunomoduladoras, antiinflamatorias, antifúngicas, antibacterianas y antioxidantes (Mandhwani et al., 2017). Se ha empleado con éxito en el tratamiento de vacas con endometritis (Sarkar et al., 2016). Brahmanand et al. (2019) concluyeron que el tratamiento intrauterino con aceite de neem es eficaz para la curación y la mejora de la TC en vacas repetidoras con ES. El **carvacrol** es un fenol presente en diversas plantas al que diversos estudios le han atribuido efecto antiséptico, antiinflamatorio y antioxidante (Alagawany et al., 2015). Lehimcioglu et al. (2019) realizaron una infusión intrauterina de carvacrol al 0,1% tras la IA en vacas con SRC sincronizadas con P4 y observaron una mejora de la TC en comparación con el grupo control (67,3% y 45,2%, respectivamente). Se han empleado también preparaciones con extractos de varias plantas para el tratamiento de patologías reproductivas (Khillare et al., 2010) y de la ES en vacas repetidoras (Kumar et al., 2023) con resultados positivos, pero tanto el número de estudios como de animales incluidos en ellos son reducidos.

## **OBJETIVOS**

## 2. OBJETIVOS

El objetivo general de esta tesis doctoral es el estudio del síndrome de repetición de celos en el ganado bovino lechero, incluyendo la caracterización de sus causas y de los factores de riesgo implicados en su desarrollo, así como las opciones disponibles para su tratamiento.

Para ello se han establecido una serie de objetivos específicos que han sido tratados en los diferentes experimentos que forman parte de esta tesis y que se especifican a continuación:

1. Evaluar la concentración de inmunoglobulinas en el moco cervical de vacas repetidoras de celos y su influencia en la motilidad espermática.
2. Determinar la prevalencia y los factores de riesgo para la endometritis subclínica y la oclusión oviductal en vacas Holstein con síndrome de repetición de celos.
3. Realizar una aproximación al tratamiento de la endometritis subclínica y de la oclusión oviductal en vacas repetidoras de celos.
4. Determinar la prevalencia del síndrome de repetición de celos en vacas lecheras del norte de España.
5. Identificar los factores de riesgo del síndrome de repetición de celos en vacas lecheras del norte de España.

# METODOLOGÍA

## 3. METODOLOGÍA

### 3.1 EXPERIMENTO 1: EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE INMUNOGLOBULINAS EN EL MOCO CERVICAL DE VACAS LECHERAS REPETIDORAS DE CELOS Y SU INFLUENCIA EN LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA

#### 3.1.1 Animales

Para este estudio, se incluyeron 47 vacas Holstein: 15 vacas sanas (gestantes tras la primera o segunda IA) y 32 vacas repetidoras de celos (animales que habían parido al menos una vez, sin alteraciones apreciables en su tracto genital, y que necesitaron 3 o más inseminaciones para resultar gestantes). Todos los animales pertenecían a la misma granja, que contaba con 380 vacas en ordeño. El número de partos medio era de 2,19 (1,73 para las vacas sanas y 2,4 para las vacas repetidoras).

Las muestras fueron tomadas entre marzo y julio de 2019, en jueves y viernes, cuando se realizaba una IATF tras un protocolo Ovsynch. Tras la toma de muestras, las vacas fueron monitorizadas empleando un *software* de reproducción presente en la granja, incluyéndolas en el grupo correspondiente en función del número de IA necesarias para quedar gestantes. Tras el diagnóstico de gestación, las vacas fueron clasificadas como Gestantes (n=14) y No-gestantes (n=33).

#### 3.1.2 Toma de muestras

El experimento se llevó a cabo de acuerdo con los Reglamentos Europeos y Españoles para la protección de los animales empleados con fines científicos (Directiva 2010/63/EU, RD 53/2013). Las muestras de moco cervical fueron tomadas en el día de la IA, tras el ordeño de la mañana y justo antes de realizar la IA. En primer lugar, se limpiaron el perineo y la vulva con un papel seco. Seguidamente, se introdujo una mano enguantada en la vagina y se obtuvo el moco cervical, que se colocó en un tubo de 50 mL y se transportó al laboratorio bajo refrigeración en un periodo inferior a 1 hora. Posteriormente, se trituró con un Polytron (PT2000, Kinematica, Malters, Suiza) y se diluyó al 1:2 con solución salina fisiológica. Finalmente, se congeló en alícuotas hasta su análisis.

### 3.1.3 Análisis de muestras

Se determinó la concentración de IgG e IgA en el moco cervical por ensayo de inmunodifusión radial (Kit de Test de IgG Bovino y Kit de Test de IgA Bovino, Eurovet Veterinaria S.L., Madrid, España), siguiendo las instrucciones del fabricante. Las vacas fueron divididas en dos grupos en función de la concentración de Ig (mg/dL) en el moco cervical:

- a) IgG: <180 (n=45) y >180 (n=2) según la concentración de la solución control más baja suministrada por el fabricante (180 mg/dL);
- b) IgA: <53 (n=27) y >53 (n=10) según la concentración de la solución control más baja suministrada por el fabricante (53 mg/dL).

Además, se determinó el porcentaje de neutrófilos (%PMN) para cada vaca. Una gota de moco cervical se colocó en un portaobjetos y se tiñó con Diff Quick (Kit Quick Panoptic, Química Clínica Aplicada, S.A., Tarragona, Spain). Posteriormente, se observó bajo el microscopio óptico (CHT, Olympus Iberia, S.A.U., Barcelona, España) a un aumento de 100x y se contaron un total de 150-200 células nucleadas para calcular el %PMN. El %PMN se consideró como una variable continua y categórica (ausencia (0) o presencia (1) de PMN).

La evaluación de la motilidad espermática se realizó mediante el sistema CASA (Sperm Class Analyzer 6.1.0; Microptic, Barcelona, España). En primer lugar, se homogeneizaron las muestras de moco cervical empleando un agitador mecánico y las muestras de semen se descongelaron en un baño de agua a 37°C durante 30 segundos. Seguidamente, se introdujeron 90 µL de moco cervical y 10 µL de semen en un tubo de reacción de 1,5 mL. Adicionalmente, se realizó una prueba control para cada muestra de semen (75 µL de solución salina y 25 µL de semen). Un total de 5 µL del tubo de reacción se colocaron en una cámara Makler (Israel Electrooptical Industry, Rehovot, Israel) y se analizaron cinco campos microscópicos por muestra usando un microscopio (Eclipse E200, Nikon, Tokyo, Japón) provisto con una platina precalentada a 37°C y un objetivo de contraste de fase negativo con un aumento de 100x. Este procedimiento se realizó a los 0, 30, 60 y 90 minutos tras la descongelación. Los objetos incorrectamente identificados como espermatozoides fueron minimizados en el monitor empleando la función playback. Los espermatozoides fueron clasificados como móviles, progresivos, rápidos y medios.

### 3.1.4 Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante  $\chi^2$  de Pearson y de Modelo Lineal General (GLM) de medidas repetidas. Para realizar la prueba de  $\chi^2$  de Pearson se utilizaron como variables dependientes la gestación y el SRC, y como variables independientes la concentración de IgG e IgA y PMN. Para la prueba GLM, se utilizaron las categorías de motilidad de los

espermatozoides como variables dependientes y se incluyeron como factores la gestación, el SRC y el tiempo.

Todos los análisis se realizaron en IBM SPSS Statistics versión 28.0 para Windows (IBM Corp., Armonk, NY, EE. UU.). Las diferencias se consideraron significativas cuando  $p \leq 0,05$ .

## **3.2 EXPERIMENTO 2: PREVALENCIA, FACTORES DE RIESGO Y OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA LA ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA Y LA OCLUSIÓN OVIDUCTAL EN VACAS HOLSTEIN REPETIDORAS DE CELOS**

### **3.2.1 Animales**

Para este estudio, se utilizaron un total de 99 vacas lecheras Holstein repetidoras procedentes de 4 explotaciones lecheras en estabulación libre ubicadas en la Comunidad Autónoma de Cantabria (norte de España). El tamaño de las explotaciones oscilaba entre 265 y 370 vacas en ordeño. Tres de las granjas tenían sala de ordeño convencional y las vacas se ordeñaban 2-3 veces al día. La otra granja contaba con un sistema de ordeño automático con robot, con una media de 3,1 ordeños al día. En conjunto, la producción normalizada media era de 12.128 kg/vaca. Además, las vacas se alimentaban con una ración total mezclada compuesta de ensilado de maíz, ensilado de hierba y alfalfa, y se suplementaba con un concentrado en función de las necesidades energéticas. Un veterinario experimentado realizaba exploraciones reproductivas semanales y todos los rebaños contaban con un programa sanitario que incluía el control del estado uterino durante la cuarta semana postparto. Todos los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo con los Reglamentos Europeos y Españoles para la protección de los animales empleados con fines científicos (Directiva 2010/63/EU, RD 53/2013).

### **3.2.2 Selección de los animales**

Las vacas repetidoras de celos fueron seleccionadas por el veterinario durante las exploraciones reproductivas rutinarias. En primer lugar, se seleccionaron las vacas con 3 o más IA (3-15, media de 5,15) que no estuviesen gestantes. Posteriormente, se realizó una exploración física para la cual se llevaron a cabo una inspección visual externa y una palpación, así como una ecografía transrectal para evaluar el tracto reproductivo (sonda linear 5.0 MHz, ProVetScan SR-2C, New Veterinary Technologies, León, España). Solo aquellos animales sin signos clínicos (como cojeras, mastitis, endometritis clínicas y quistes ováricos, entre otros) fueron incluidos en el estudio. En estas vacas se realizaron citologías endometriales para evaluar la presencia de ES, y se llevó a cabo la prueba de PSP para verificar la permeabilidad oviductal. Adicionalmente, se evaluó la condición corporal (CC) mediante observación visual, y los animales fueron clasificados en una escala de 1-5 (Edmonson et al., 1989). Cabe señalar que todos los animales fueron evaluados durante la fase lútea para evitar la prominencia de crestas y pliegues en la mucosa y la acumulación de fluidos debida a altas concentraciones de estradiol, lo que podría dar lugar a diagnósticos erróneos de oclusión oviductal (OO).

### 3.2.3 Diagnóstico de ES

Las citologías endometriales fueron realizadas con un *cytobrush* (longitud 20 mm y diámetro 0,6 mm) situado en el interior de un catéter de IA (Quicklock 2000, Minitube Ibérica, Barcelona, España). La varilla y el *cytobrush* se protegieron con una vaina de IA y se cubrieron con una camisa sanitaria de plástico (Chemise Sanitaire, IMV Technologies, L'Aigle, Francia). A continuación, el catéter era insertado a través de la vagina hasta la abertura cervical externa. Una vez dentro del cérvix, la camisa sanitaria se perforaba con el catéter de IA, que era introducida en el cuerpo uterino. En este punto, se presionaba el émbolo para exteriorizar el *cytobrush*, que se rodaba contra la pared uterina para obtener una muestra endometrial. Antes de retirar completamente el catéter, se retraía nuevamente el *cytobrush* dentro de ella para evitar contaminaciones con células cervicales o vaginales.

Tras retirar el *cytobrush*, la muestra se extendía sobre un portaobjetos rodando el cepillo y se dejaba secar al aire. Los portaobjetos se tiñeron empleando Diff Quick (Quick Panoptic kit, Química Clínica Aplicada S.A., Tarragona, España). Cada muestra fue examinada por la misma persona con un microscopio óptico a un aumento de 400x (B-192, Optika S.r.l., Ponteranica, Italia). Para realizar una evaluación cuantitativa de la inflamación endometrial, se contaban un mínimo de 150 células (excluyendo eritrocitos). Las muestras que contenían  $\geq 5\%$  PMN fueron clasificadas como positivas para ES (Gilbert et al., 2005), mientras que aquellas con  $< 5\%$  PMN fueron consideradas sanas.

### 3.2.4 Evaluación de la permeabilidad oviductal

Para preparar la solución de fenolsulfonaftaleína (PSP) a fin de realizar la evaluación de la permeabilidad oviductal (Kothari et al., 1978), se disolvieron 0,3 g de rojo fenol y 4,2 g de  $\text{CO}_3\text{HNa}$  en 100 mL de agua destilada empleando un agitador magnético. El pH se ajustó a 6,8-7,4 y la solución fue filtrada a través de un filtro estéril de 0,54  $\mu\text{m}$  (Millipore UK Ltd., Hertfordshire, Reino Unido). Cada día experimental se preparó una solución nueva de PSP.

Para realizar la prueba, las vacas fueron inmovilizadas y la cola retirada lateralmente. La vulva y la región perineal fueron limpiadas minuciosamente. Posteriormente, mediante palpación rectal, se sujetó el cérvix y se introdujo un catéter Foley estéril uno de los cuernos uterinos hasta ~4-5 cm craneal a la bifurcación uterina. Después, para fijarlo dentro del cuerno y evitar el reflujó de la solución, el balón se llenó con aire. Luego se introdujeron lentamente 80 mL de solución PSP con una jeringa conectada al catéter. Una vez que la solución estaba en el interior, el catéter se cerraba y la jeringa se retiraba. A partir de este momento, se tomaron hasta 3 muestras de orina mediante la cateterización de la vejiga. la primera muestra se tomaba 15 minutos tras la infusión de PSP; si la orina estaba teñida de color rojo, el oviducto se consideraba permeable. En caso de que la orina no estuviese teñida, una segunda muestra se obtenía 25 minutos tras la infusión de PSP. Si aún no se observaba tinción en la orina, una tercera muestra se tomaba 45 minutos tras la infusión de PSP. Si esta

última muestra no estaba teñida, se consideraba que el oviducto estaba ocluido. Una vez concluida la toma de muestras de orina, el aire se extraía del balón y el catéter se retiraba.

Las vacas fueron examinadas en dos días diferentes, uno por oviducto, con al menos 24 horas de diferencia. La permeabilidad del oviducto derecho se evaluó el primer día, y la del oviducto izquierdo se evaluó durante el segundo día. Esta técnica fue realizada siempre durante la fase lútea del ciclo estral.

### 3.2.5 Recopilación de datos

Se recopilaron datos adicionales procedentes del software de las explotaciones, de DairyPlan C21 (GEA Group AG, Düsseldorf, Alemania) en tres de las granjas y de Lely Horizon (Lely Industries N.V., Maassluis, Países Bajos) en una de las granjas. Se recopiló la información sobre número de parto, fecha de parto, fecha de IA, número de IA, y la presentación de patologías postparto, incluyendo metabólicas (cetosis, desplazamiento de abomaso), reproductivas (distocia, mortinatos, retención placentaria, metritis, endometritis clínica) y otras (mastitis clínica y subclínica). Las diferentes patologías se definieron de la siguiente manera: cetosis: presencia de cuerpos cetónicos en orina, reducción de la producción láctea y de la ingesta de comida; desplazamiento de abomaso: condición en la que el abomaso se agranda con acumulación de fluido y/o gas con posterior migración a la izquierda o a la derecha y dorsalmente dentro de la cavidad abdominal; distocia: parto difícil que requiere intervención humana; retención placentaria: presencia de las membranas fetales en el tracto genital 24 horas tras el parto; metritis: útero anormalmente agrandado y descarga fétida, acuosa, de color rojizo-marrón, asociada con signos de enfermedad sistémica y fiebre, durante los primeros 21 días postparto; endometritis clínicas: proceso inflamatorio del revestimiento endometrial del útero, acompañado de descarga vaginal mucopurulenta, en ausencia de signos sistémicos de enfermedad, 21 días o más postparto; mastitis clínica: alteraciones macroscópicas de la leche; mastitis subclínica: recuento de células somáticas >200.000 cell/mL.

### 3.2.6 Tratamiento

Las vacas diagnosticadas como positivas a ES fueron asignadas, en el mismo orden en que eran diagnosticadas, a uno de los siguientes protocolos de tratamiento:

- a) Antiinflamatorio no esteroideo (AINE): carprofeno 50 mg/mL (Rimadyl®, 1 mL/35 Kg, administración subcutánea).
- b) Prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ): dinoprost 12,5 mg/mL (Dinolytic®, 2 mL por vaca, administración intramuscular).
- c) AINE+ $PGF_{2\alpha}$ : ambos tratamientos fueron administrados al mismo tiempo.

Además, las vacas con oclusión oviductal fueron asignadas, en el mismo orden en que eran diagnosticadas, a uno de los siguientes tratamientos:

- a) Embrión terapéutico: solo se emplearon embriones congelados con el crioprotector Etilenglicol (1,5 M). Antes de realizar la transferencia embrionaria directa, la pájuela se exponía al aire durante 6 segundos y se introducía en agua a 25°C durante 30 segundos. La transferencia embrionaria se realizó como se describe en otro trabajo (Yáñez et al., 2023).
- b) Inseminación artificial: se siguió el procedimiento rutinario.

### 3.2.7 Análisis estadístico

En primer lugar, se realizó estadística descriptiva y se calculó la prevalencia de ES y OO. Para evaluar los factores de riesgo de ES en vacas repetidoras, se realizó una regresión logística binaria, forzando todas las variables en el modelo e incluyendo la estación (invierno, primavera, verano, otoño), número de parto (primípara, multípara), cambio de CC entre el período seco y el postparto ( $\leq 0,5$ ,  $> 0,5$ ) y patologías reproductivas, metabólicas y otras del postparto (presencia o ausencia) como variables independientes, y la ocurrencia de ES como variable dependiente. Finalmente, para evaluar el efecto del tratamiento en la TC, se realizó una prueba  $\chi^2$  de Pearson.

Todos los análisis se llevaron a cabo en IBM SPSS Statistics versión 28.0 para Windows (IBM Corp., Armonk, NY, EE.UU.). Las diferencias se consideraron significativas con  $p \leq 0,05$ .

### 3.3 EXPERIMENTO 3: PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO DEL SÍNDROME DE REPETICIÓN DE CELOS EN GANADO VACUNO LECHERO DEL NORTE DE ESPAÑA

#### 3.3.1 Animales

Para este estudio fueron utilizadas 2370 vacas procedentes de 4 explotaciones comerciales ubicadas en Cantabria (Norte de España). El tamaño de las explotaciones oscilaba entre 265 y 370 vacas en ordeño, con una producción media normalizada a 305 días de 12.128 l. Las raciones utilizadas en todas las granjas se basaban en silo de maíz, silo de hierba, alfalfa y suplementadas con pienso. En todos los casos, los animales se encontraban en estabulación libre con cubículos individuales. Tres de las granjas contaban con sala de ordeño convencional y las vacas se ordeñaban 2-3 veces al día, mientras que la otra granja disponía de un sistema de ordeño automático mediante robot, con una media de 3,1 ordeños diarios. Los rebaños incluidos en el estudio contaban con un programa sanitario establecido, que incluía el chequeo del estado uterino durante la cuarta semana posparto y controles reproductivos semanales.

#### 3.3.2 Recogida de datos

A todas las vacas paridas entre marzo de 2020 y mayo de 2022 en las 4 explotaciones se les realizó un seguimiento, anotando los datos que se muestran en la tabla 1.

**Tabla 1. Listado de la información recogida desde el parto a de todos los animales utilizados en el estudio.**

DATO RECOGIDO	DEFINICIÓN
Fecha de parto	Fecha del último parto.
Número de parto	Número de partos.
Síndrome de repetición de celos	Vacas que han parido al menos una vez, que tras 3 o más inseminaciones no quedan gestantes y sin alteraciones reproductivas detectables tras una exploración del aparato genital mediante ecografía transrectal.
Distocia	Parto que presenta dificultades y requiere la intervención humana.
Mortinato	Nacimiento de un ternero muerto a término.
Parto gemelar	Nacimiento de dos terneros a término.
Retención de placenta	Presencia de las membranas fetales en el tracto genital 24 horas tras el parto.

Metritis	Inflamación de la pared uterina, con un útero anormalmente aumentado, descarga fétida de color rojizo-marrón, signos sistémicos y fiebre, y que se presenta en los primeros 21 días tras el parto.
Endometritis	Proceso inflamatorio del endometrio, acompañado de descarga vaginal purulenta o mucopurulenta, en ausencia de signos sistémicos, que ocurre 21 días o más tras el parto.
Hipocalcemia	Disminución de la concentración sérica de calcio.
Cetosis	Concentración elevada de cuerpos cetónicos en la sangre.
Desplazamiento de abomaso	Distensión del abomaso con acúmulo de líquido y /o gas, y desplazamiento hacia derecha o izquierda y dorsalmente en la cavidad abdominal.
Mamitis clínica	Inflamación de la glándula mamaria con alteración macroscópica de la leche.
Mamitis subclínica	Recuento de células somáticas >200.000 cél/mL.
Cojera	Deambulación anormal debida a lesiones en las extremidades.
Infección pulmonar	Afección del tracto respiratorio con sintomatología local y sistémica.
Condición corporal al secado y a los 15 días postparto	La condición corporal se evaluó mediante observación utilizando el método descrito por Edmonson et al. (1989) que otorga una puntuación de 1 (muy delgada) a 5 (muy gorda) en función de la cantidad de depósitos grasos en la zona de la grupa.
Fecha de la primera IA postparto	Fecha de la primera IA realizada tras el último parto.

En el caso de las vacas multíparas, en el momento en el que un animal entraba en el estudio, se recogían, también, una serie de datos de su historial almacenado en los programas de gestión de las granjas (Dairy planet en tres de ellas y Lely Horizon en la restante) (Tabla 2).

**Tabla 2. Datos recogidos del historial de las vacas multíparas utilizadas en el estudio.**

<b>DATO RECOGIDO</b>	<b>DEFINICIÓN</b>
Fecha del parto anterior	Fecha del parto anterior.
Número de inseminaciones artificiales necesarias para quedar gestante tras el parto anterior	Inseminaciones artificiales realizadas en el ciclo anterior.
Producción normalizada 305 días	Producción (Kg.) de leche estandarizada desde el día 1 hasta el día 305 de lactación.
Duración del secado	Periodo que transcurre desde el final de una lactación y el comienzo de la siguiente.

### 3.3.3 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el programa estadístico SPSS (SPSS versión 28.0.1.1; IBM Corporation, NY, USA).

Para evaluar los factores de riesgo del SRC (sí/no) se utilizó una regresión logística binaria, utilizando el método atrás condicional para seleccionar las variables más relevantes. En todos los casos se consideraron significativos los valores de  $p < 0,05$ . Se realizaron dos análisis diferentes, uno para las primíparas y otro para las multíparas. En ambos casos la variable dependiente fue el SRC (sí/no) y las siguientes variables independientes fueron comunes a los dos análisis: la estación de parto (invierno/primavera/verano/otoño), el cambio en la condición corporal (CC) entre el secado/preparto y el postparto (+0,25 a -0,25/-0,5/-0,75/-1 a -1,5), el número de inseminaciones artificiales necesarias para quedar gestante en el parto anterior (1/2/3/>3), el intervalo entre el parto actual y la primera IA (días), las patologías postparto (distocia, partos gemelares, mortinatos, retención de placenta, metritis, endometritis), metabólicas (cetosis y desplazamiento de abomaso) y otras patologías (mastitis clínicas y subclínicas y cojeras). A mayores, en el análisis de multíparas se añadieron las siguientes variables independientes: número de parto (2/3/>3), producción normalizada a 305 días en el parto anterior (Kg) y duración del secado en el parto anterior (días). Por último, se realizaron tablas de contingencia para determinar la prevalencia del SRC en función de las variables incluidas en los modelos.

# RESULTADOS

## 4. RESULTADOS

### 4.1 EXPERIMENTO 1: EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE INMUNOGLOBULINAS EN EL MOCO CERVICAL DE VACAS LECHERAS REPETIDORAS DE CELOS Y SU INFLUENCIA EN LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA

#### 4.1.1 Determinación de la concentración de inmunoglobulinas en el moco cervical

Los resultados del análisis de  $\chi^2$  de Pearson se muestran en la Tabla 3. En relación con el SRC, la mayoría de las vacas mostraron concentraciones < 180 mg/dL de IgG (93,3% y 96,9%) y < 53 mg/dL de IgA (71,4% y 73,9%) tanto en el grupo de sanas como de repetidoras, respectivamente ( $p > 0,05$ ). Además, el %PMN medio fue 29,6133 para el grupo sano y 58,9250 para el grupo de repetidoras ( $SD= 41,74189$  y  $SD=34,85435$ ,  $p=0,015$ ). Asimismo, el 84,4% de las vacas repetidoras y el 40% de las vacas sanas presentó PMN en el moco cervical ( $p < 0.01$ ). En los referente a los grupos de gestantes y no gestantes, se obtuvieron resultados similares (97,0% y 92,9% para IgG <180 mg/dL y 69,2% y 81,8% para IgA <53 mg/dL, respectivamente,  $p > 0,05$ ). Además, el 78,8% de las vacas no gestantes y el 50% de las vacas gestantes presentaron PMN en el moco cervical ( $p = 0,048$ ). De las 47 vacas incluidas en el estudio, 14 resultaron gestantes tras la IA del día de la recolección de datos (11 sanas y 3 SRC).

**Tabla 3. Proporción (%) de vacas sanas (S) y repetidoras de celos (SRC), y no gestantes (NG) y gestantes (G) considerando la concentración (mg/dL) de inmunoglobulina G (IgG) e inmunoglobulina A (IgA) y la presencia (1) o ausencia (0) de neutrófilos polimorfonucleares (PMN) en el moco cervical.**

		S	SRC	NG	G
IgG	<180	93,3	96,9	97,0	92,9
	>180	6,7	3,1	3,0	7,1
IgA	<53	71,4	73,9	69,2	81,8
	>53	28,6	26,1	30,8	18,2
PMN	0	60,00**	15,6**	21,2*	50,0*
	1	40,00**	84,4**	78,8*	50,0*

\* $p < 0.05$

\*\* $p < 0.01$

### 4.1.2 Influencia sobre la motilidad espermática

Los resultados de la prueba GLM se muestran en la Tabla 4. Los resultados del análisis de ensayo de control fueron 58,98% de espermatozoides móviles, 52,43% progresivos, 39,28% rápidos y 13,15% medios en el tiempo 0. Las diferencias en la media de espermatozoides progresivos, rápidos, medios y móviles no fueron estadísticamente significativas ni entre el grupo de vacas sanas y el de vacas con SRC, ni entre las vacas gestantes y las no gestantes ( $p > 0,05$ ). Sin embargo, se observaron diferencias significativas ( $p < 0,001$ ) en diferentes tiempos.

**Tabla 4. Proporción media de espermatozoides (%) en vacas sanas (S) y en vacas repetidoras de celos (SRC), y en los grupos de gestantes (G) y no gestantes (NG), medidos a tiempos diferentes tras la descongelación (0, 30, 60 y 90 minutos).**

	Progresivos		Rápidos		Medios		Móviles	
	S (n=15)	SRC (n=32)	S (n=15)	SRC (n=32)	S (n=15)	SRC (n=32)	S (n=15)	SRC (n=32)
<b>Tiempo 0</b>	42,0±14,8	43,2±15,8	34,7±15,1	33,6±12,7	7,9±2,9	9,6±4,3	48,1±13,8	49,2±15,9
<b>Tiempo 30</b>	28,8±10,0	31,1±14,4	23,2±10,1	24,5±12,6	5,7±2,0	6,6±3,7	33,7±8,8	37,1±15,0
<b>Tiempo 60</b>	22,7±12,3	21,1±14,3	18,5±11,5	15,5±11,3	4,2±3,1	5,6±4,9	27,3±11,6	26,6±16,8
<b>Tiempo 90</b>	19,2±12,1	12,5±11,9	15,4±10,6	8,6±9,9	3,8±2,7	3,9±3,5	23,1±12,7	18,5±14,6
<b>Sanas</b>	NG (n=33)	G (n=14)	NG (n=33)	G (n=14)	NG (n=33)	G (n=14)	NG (n=33)	G (n=14)
<b>Tiempo 0</b>	42,4±15,8	43,7±14,6	33,1±12,9	35,8±14,8	9,3±4,5	8,6±2,3	48,8±15,9	49,1±13,5
<b>Tiempo 30</b>	30,5±12,8	30,1±14,3	24,4±11,4	23,4±13,0	6,2±3,4	6,7±3,1	36,1±13,2	35,9±14,1
<b>Tiempo 60</b>	21,9±13,6	21,1±14,1	16,2±10,9	17,0±12,6	5,6±4,7	4,1±3,5	27,8±15,5	24,6±14,8
<b>Tiempo 90</b>	12,9±11,0	18,9±14,3	9,2±9,8	14,4±11,7	3,7±3,0	4,5±3,8	19,0±13,1	22,1±16,3

## 4.2 EXPERIMENTO 2: PREVALENCIA, FACTORES DE RIESGO Y OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA LA ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA Y LA OCLUSIÓN OVIDUCTAL EN VACAS HOLSTEIN REPETIDORAS DE CELOS

### 4.2.1 Prevalencia de ES y OO

De las 99 vacas repetidoras incluidas en el estudio, 22 (22%) fueron positivas a ES. Asimismo, 3 (3%) mostraron alteraciones de la permeabilidad oviductal, presentando todas ellas oclusión unilateral.

### 4.2.2 Factores de riesgo para la ES

Los resultados para la regresión logística no mostraron ninguna diferencia estadísticamente significativa para ninguna de las variables evaluadas (Tabla 5). Debido a la baja prevalencia de la OO, no fue posible realizar el análisis de regresión logística para esta patología.

**Tabla 5. Resultados para el análisis de regresión logística binaria para determinar los factores de riesgo para la ES en 99 vacas Holstein con SRC.**

VARIABLE		% Vacas positivas a ES (n)	OR	95% CI	P-value
<b>Estación</b>	Invierno	20,6% (7/34)	1,33	0,27-6,54	0,723
	Primavera	20,7% (6/29)	1,70	0,34-8,31	0,515
	Verano	37,5% (6/16)	3,93	0,70-22,01	0,119
	Otoño	15,0% (3/20)	-	-	-
<b>Número de parto</b>	Primíparas	15,4% (6/39)	0,43	0,14-1,31	0,135
	Múltiparas	26,7% (16/60)	-	-	-
<b>Variación CC entre periodo seco y postparto</b>	<0,5	20,4% (10/49)	1,24	0,41-3,77	0,706
	>0,5	24,0% (12/50)	-	-	-
<b>Patologías reproductivas postparto</b>	No	18,6% (13/70)	0,50	0,17-1,45	0,204
	Sí	31,0% (9/29)	-	-	-
<b>Patologías metabólicas postparto</b>	No	21,0% (17/81)	0,65	0,18-2,36	0,512
	Sí	27,8% (5/18)	-	-	-
<b>Otras patologías postparto</b>	No	23,1% (9/39)	1,19	0,43-3,31	0,741
	Sí	21,7% (13/60)	-	-	-

### 4.2.3 Efecto del tratamiento en la TC

En relación a la ES, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, como se muestra en la Tabla 6. Las vacas a las que se administró el AINE, tanto solo como en combinación con la  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , presentaron TC más altas en la siguiente IA ( $p < 0,05$ ). De forma similar al caso de los factores de riesgo, el análisis estadístico para el efecto del tratamiento sobre la TC en la OO no fue posible debido a la reducida prevalencia de esta patología.

**Tabla 6. Resultados para el análisis  $\chi^2$  de Pearson para determinar el efecto de los tres tratamientos sobre la TC en 22 vacas Holstein repetidoras de celos y positivas a ES.**

PATOLOGÍA	TRATAMIENTO	TASA DE CONCEPCIÓN (n)
ES* (n=22)	AINE	14,3% (1/7) <sup>b</sup>
	$\text{PGF}_{2\alpha}$	0% (0/7) <sup>a</sup>
	AINE+ $\text{PGF}_{2\alpha}$	62,5% (5/8) <sup>b</sup>
OO (n=3)	IA	0% (0/1)
	Embrión terapéutico	100% (2/2)

\* $p < 0.05$

### 4.3 EXPERIMENTO 3: PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO DEL SÍNDROME DE REPETICIÓN DE CELOS EN GANADO VACUNO LECHERO DEL NORTE DE ESPAÑA

#### 4.3.1 Prevalencia del síndrome

La prevalencia del SRC en la población objeto de estudio fue del 21,1% (18,6% en primíparas y 22,8% en multíparas).

#### 4.3.2 Factores de riesgo en vacas lecheras primíparas

En la tabla 7 se muestran los factores de riesgo del SRC en primíparas. El modelo obtenido tras el análisis de regresión logística fue significativo y presentó una  $R^2$  de 0,17. La endometritis (OR, 12.23;  $p < 0.01$ ), la pérdida acusada de CC tras el parto (-0,75: OR, 2,2;  $p < 0.01$ / -1 a -1,5: OR, 8.1;  $p < 0,01$ ), las distocias (OR, 5.2;  $p < 0.01$ ), las mamitis clínicas (OR, 4.2;  $p < 0.01$ ), las cetosis (OR, 3.5;  $p < 0.01$ ) y las cojeras (OR, 3.4;  $p < 0.01$ ) fueron factores de riesgo del SRC en la población estudiada, mientras que los partos de verano y otoño tuvieron un efecto protector (OR, 0.4;  $p < 0.01$ /OR, 0.6;  $p < 0.05$ ) y la metritis no presentó un efecto estadísticamente significativo ( $p > 0,05$ ). Por otra parte, los partos gemelares, los mortinatos, la retención de placenta, el desplazamiento de abomaso y la mamitis subclínica no fueron incluidos en el modelo.

**Tabla 7. Prevalencia del SRC en función de las diferentes variables y odds ratios para las variables incluidas en el modelo de regresión logística que analizan el riesgo de SRC en vacas lecheras primíparas.**

VARIABLE	NIVELES	SRC/Total (% vacas con SRC)	OR (IC)	P-value
Estación de parto	Invierno	55/259 (21,2%)	Reference	0,002
	Primavera	49/217 (22,6%)	1,084 (0,660-1,302)	0,751
	Verano	27/199 (13,6%)	0,400 (0,223-2,298)	0,002
	Otoño	41/250 (53,6%)	0,592 (0,352-2,249)	0,047
Variación CC entre el parto y 15D PP	+0,25 a -0,25	17/160 (10,6%)	Reference	<0,001
	-0,5	85/540 (15,7%)	1,672 (0,907-3,080)	0,099

	-0,75	57/195 (29,2%)	2,919 (1,500-5,682)	0,002
	-1 a -1,50	13/28 (16,4%)	8,094 (2,817-23,258)	<0,001
<b>Distocia</b>	No	143/870 (16,4%)	Reference	
	Sí	29/55 (52,7%)	5,179 (2,665-10,063)	<0,001
<b>Metritis</b>	No	160/905 (17,7%)	Reference	
	Sí	12/20 (60,0%)	2,380 (0,853-6,645)	0,098
<b>Endometritis</b>	No	146/887 (16,5%)	Reference	
	Sí	26/38 (68,4%)	12,234 (5,548-26,975)	<0,001
<b>Cojera</b>	No	152/866 (17,6%)	Reference	
	Sí	20/59 (33,9%)	3,362 (1,771-6,380)	<0,001
<b>Cetosis</b>	No	157/892 (17,6%)	Reference	
	Sí	15/33 (45,5%)	3,497 (1,546-7,908)	0,003
<b>Mamitis clínica</b>	No	123/794 (15,5%)	Reference	
	Sí	49/131 (37,4%)	4,221 (2,656-6,709)	<0,001

#### 4.3.4 Factores de riesgo en vacas lecheras multíparas

En la tabla 8 se muestran los factores de riesgo del SRC en vacas multíparas. El modelo obtenido en este caso fue, también, significativo y presentó una  $R^2$  de 0,18. Las endometritis (OR, 6.2;  $p < 0.01$ ), las cetosis (OR, 4.3;  $p < 0.01$ ), las mamitis clínicas (OR, 4.2;  $p < 0.01$ ), las metritis (OR, 2.6;  $p < 0.01$ ), las cojeras (OR, 2.5;  $p < 0.01$ ), la pérdida acusada de CC tras el parto (-1 a -1,5: OR, 2.0;  $p < 0,05$ ), las distocias (OR, 1.9;  $p < 0.01$ ) y las mamitis subclínicas (OR, 1.9;  $p < 0.01$ ) fueron factores de riesgo del SRC en la población

estudiada, mientras que retrasar la primera IA mostró un efecto protector (OR, 0,99;  $p < 0,01$ ) y el desplazamiento de abomaso no presentó un efecto estadísticamente significativo ( $p > 0,05$ ). Por otra parte, el número de parto, los partos gemelares, los mortinatos, la retención de placenta, la producción normalizada y la duración del secado en el parto anterior no fueron incluidos en el modelo.

**Tabla 8. Prevalencia del SRC en función de las diferentes variables y odds ratios para las variables incluidas en el modelo de regresión logística que analizan el riesgo de SRC en vacas lecheras múltiparas.**

VARIABLE	NIVELES	SRC/Total (% vacas con SRC)	OR (IC)	P-value
<b>Estación de parto actual</b>	Invierno	101/418 (24,2%)	Reference	0,013
	Primavera	79/288 (27,4%)	1,304 (0,882-1,928)	0,183
	Verano	65/356 (18,3%)	0,694 (0,463-1,042)	0,078
	Otoño	80/383 (20,9%)	0,747 (0,507-1,099)	0,139
<b>Variación CC entre el parto y 15d PP</b>	+0,25 a -0,25	23/158 (14,6%)	Reference	0,022
	-0,5	125/666 (18,8%)	1,035 (0,609-1,759)	0,900
	-0,75	112/436 (25,7%)	1,378 (0,798-2,381)	0,250
	-1 a -1,50	65/180 (36,1%)	1,951 (1,059-3,594)	0,032
<b>Distocia</b>	No	259/1289 (20,1%)	Reference	
	Sí	66/156 (42,3%)	1,905 (1,250-2,902)	0,003
<b>Metritis</b>	No	288/1382 (20,8%)	Reference	

	Sí	37/63 (58,7%)	2,586 (1,377- 4,854)	0,003
<b>Endometritis</b>	No	263/1343 (19,6%)	Reference	
	Sí	62/102 (60,8%)	6,176 (3,734- 10,215)	<0,001
<b>Cojera</b>	No	275/1303 (21,1%)	Reference	
	Sí	50/142 (35,2%)	2,494 (1,619- 3,842)	<0,001
<b>Desplazamiento abomaso de</b>	No	293/1374 (21,3%)	Reference	
	Sí	32/71 (45,1%)	1,722 (0,920- 3,224)	0,089
<b>Cetosis</b>	No	281/1366 (20,6%)	Reference	
	Sí	44/79 (55,7%)	4,285 (2,417- 7,597)	<0,001
<b>Mamitis clínica</b>	No	210/1189 (17,7%)	Reference	
	Sí	115/256 (44,9%)	4,154 (2,986- 5,780)	<0,001
<b>Mamitis subclínica</b>	No	177/953 (18,6%)	Reference	
	Sí	148/492 (30,1%)	1,866 (1,393- 2,498)	<0,001
<b>Intervalo parto-1ª IA</b>		581/1445	0,992 (0,987- 0,997)	0,002

# DISCUSIÓN

## 5. DISCUSIÓN

### 5.1 EXPERIMENTO 1: EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE INMUNOGLOBULINAS EN EL MOCO CERVICAL DE VACAS LECHERAS REPETIDORAS DE CELOS Y SU INFLUENCIA EN LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA

De acuerdo a nuestros resultados, no hay diferencias estadísticamente significativas entre las vacas sanas y las vacas SRC en relación a la concentración de IgG e IgA en el moco cervical y la motilidad espermática. De forma similar, no se encontraron diferencias significativas entre las vacas gestantes y no gestantes en relación a estos dos factores. Por otro lado, el tiempo tuvo un efecto significativo sobre la motilidad espermática.

Por el contrario, Lazarevic et al., (2013) observaron que las vacas con altos niveles de anticuerpos antiespermatozoides (AAE) en el moco cervical mostraban una motilidad espermática reducida en comparación con aquellas que tenían bajos niveles. De forma similar, Jarora et al. (2016) concluyeron que la presencia de altos títulos de AAE en el moco cervical podría empeorar o retrasar la fertilidad. Sin embargo, cabe señalar que existen diferencias notables en el diseño y la metodología entre nuestro estudio y los estudios mencionados previamente.

En primer lugar, nuestro objetivo fue determinar si la concentración de inmunoglobulinas en el moco cervical variaba significativamente entre las vacas sanas y las vacas repetidoras, y si esto podría afectar a la motilidad espermática, mientras que otros estudios no consideraron el factor SRC. Del mismo modo, los ensayos para determinar la concentración de inmunoglobulinas fueron diferentes, lo que puede llevar a diferencias en la concentración límite de inmunoglobulinas establecida como punto de corte para separar a las vacas en grupos. Además, nuestros resultados mostraron que muy pocas vacas presentaban concentraciones altas de inmunoglobulinas en el moco cervical (2/47 para IgG y 10/37 para IgA), lo que podría explicar la falta de significación estadística.

En términos de celularidad, el recuento de PMN varía significativamente en el grupo SRC y en el grupo gestante, lo que podría explicarse por el hecho de que un ambiente endometrial adecuado es fundamental para el establecimiento de la gestación y la supervivencia embrionaria. Esto está en línea con la consideración de la ES como una posible causa de SRC, ya que la infiltración de PMN en el endometrio ha sido descrita previamente en vacas con SRC (Salasel et al., 2010; Pérez-Marín et al., 2012).

## **5.2 EXPERIMENTO 2: PREVALENCIA, FACTORES DE RIESGO Y OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA LA ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA Y LA OCLUSIÓN OVIDUCTAL EN VACAS HOLSTEIN REPETIDORAS DE CELOS**

### **5.2.1 Prevalencia y factores de riesgo para la ES**

La prevalencia de ES observada en nuestro estudio fue del 22%. Cabe señalar que la prevalencia de esta patología durante el postparto ha sido ampliamente estudiada, y se han descrito diferentes resultados en función del día del diagnóstico, el punto de corte establecido para el %PMN, e incluso la técnica empleada para la toma de muestras (cytobrush, lavado uterino, cytotape). Teniendo esto en cuenta, la prevalencia de ES entre la tercera y la séptima semana postparto varía entre el 7% y el 53% (Quintela et al., 2018). Sin embargo, en el momento de la primera IA el número de estudios realizados es escaso (Bogado Pascottini et al., 2017b; Diaz-Lundahl et al., 2021). La prevalencia observada en estos dos estudios, incluyendo un gran tamaño muestral (1.625 muestras de IA procedentes de 873 vacas en el primer caso, y 1648 vacas en el segundo caso) fue muy similar, a pesar de haberse empleado diferentes puntos de corte. Díaz-Lundahl et al. (2021), con un punto de corte del 3%, observaron una prevalencia del 28%; por otro lado, Bogado Pascottini et al. (2017b) reportaron una prevalencia del 27,8% estableciendo un punto de corte del 1%. En ambos estudios la técnica empleada fue el cytotape. En el caso de las vacas con SRC, la prevalencia de la ES varía entre 12,7-16,6% (Pothmann et al., 2015; Wagener et al., 2017a; Bedewy y Rahawy, 2019) y 40,2-52,8% (Salasel et al., 2010; Janowski et al., 2013). Sin embargo, se utilizaron diferentes puntos de corte y técnicas entre los estudios. Por lo tanto, aún no es posible alcanzar una conclusión clara acerca de la importancia de la ES en relación con el SRC.

En cuanto a los factores de riesgo para la ES en vacas SRC, ninguna de las variables incluidas en el análisis estadístico mostró un efecto significativo, lo que probablemente podría deberse al reducido número de casos de ES. A pesar de no ser significativo, observamos diferencias numéricas en función de la estación, el número de parto y la presencia de patologías reproductivas postparto. En este sentido, se observaron diferencias estadísticamente significativas en otros estudios entre animales que habían sufrido patologías reproductivas durante el postparto (40% en vacas sanas y 80% en animales que habían sufrido distocia o inflamación uterina (Salasel et al., 2010)). En el caso de las vacas postparto, la aparición de ES se relaciona con patologías reproductivas previas, alteraciones metabólicas y otros factores relacionados con las condiciones de las instalaciones y la fisiología de las vacas (Priest, 2013). Además, se ha reportado que el mes/estación de la IA, la ingesta de materia seca y el número de parto afectan también significativamente la aparición de endometritis citológica en vacas lecheras en primera IA (Bogado Pascottini et al. 2017b; Diaz-Lundahl et al., 2021). En nuestro estudio, se incluyó la variable estación en relación al momento del parto, no de la IA. Sin embargo, la diferencia observada podría deberse al estrés térmico durante el verano, que podría favorecer la inmunosupresión durante el postparto y la

aparición de patologías postparto, lo que a su vez también influiría en la aparición de ES más adelante en la lactación.

### **5.2.2 Prevalencia y factores de riesgo para la OO**

La prevalencia de OO observada en nuestro estudio fue del 3%, unilateral en todos los casos, lo que sugiere que no es probable que esta patología sea una causa importante del SRC, en contraste con lo reportado en estudios previos (Garrido et al., 2019). Estos investigadores encontraron que el 44% de los animales explorados tenían algún grado de obstrucción oviductal, con un 4% de ellos presentando oclusión bilateral y un 20% oclusión unilateral. Cabe destacar que la técnica empleada en ambos estudios fue la misma, aunque el tamaño muestral en el caso de Garrido et al. (2019) fue de 50 vacas, la mitad del tamaño muestral del presente estudio. Las condiciones del área en las que se realizaron ambos estudios y los criterios de selección fueron muy similares. Por tanto, la diferencia entre la prevalencia observada entre estudios podría deberse a la persona que realizó el test de PSP o ser consecuencia de la selección aleatoria de animales que cumplían con los criterios de inclusión. Sin embargo, cabe señalar que ambos profesionales tenían experiencia y un entrenamiento adecuado para realizar la prueba del PSP. Otra posibilidad podría ser la diferencia prevalencia de enfermedades uterinas, incluyendo la precocidad del diagnóstico y la efectividad del tratamiento. Como se menciona más adelante, las alteraciones oviductales han sido relacionadas con enfermedades uterinas como la metritis o la endometritis (Azawi, 2009). Sin embargo, debido a que la prevalencia de patologías uterinas no fue reportada en el estudio llevado a cabo por Garrido et al. (2019), esta opción es meramente especulativa.

Además, debe tenerse en cuenta que la prueba de PSP no es la única técnica existente para el diagnóstico de la permeabilidad oviductal. Por ejemplo, Kauffold et al. (2009) e Itoh et al. (2016) probaron la permeabilidad oviductal en vacas lecheras empleando la sonografía de contraste, y Arnold y Love (2013) usaron la evaluación laparoscópica en yeguas. Aunque el tamaño muestral fue notablemente menor (ocho vacas, cinco vacas y dieciséis yeguas, respectivamente), se reportaron hallazgos importantes. Debido a que los animales empleados en el estudio realizado por Kauffold et al. (2009) fueron sacrificados el día después de la evaluación, pudieron confirmar la veracidad de la evaluación ecográfica. Un total de cinco oviductos permeables fueron diagnosticados correctamente, mientras que dos de los cinco oviductos diagnosticados como ocluidos estaban morfológicamente intactos. Además, estos investigadores observaron que dos de los oviductos estaban ocluidos a causa de hidrosálpinx y uno debido a inflamación. Sin embargo, Itoh et al. (2016) solo encontraron dos casos de obstrucción tubárica. Esta técnica diagnóstica parece una buena alternativa al test de PSP, a pesar de que también tiene inconvenientes. Por ejemplo, se requieren ~20-30 minutos por vaca para realizar el examen ecográfico, lo que podría dar lugar a sangrado rectal y una pobre calidad de imagen.

En cuanto a la evaluación laparoscópica, se reportó una sensibilidad de la prueba del 71,4% y una especificidad del 85,7% (Arnold y Love, 2013). Además, la causa principal de obstrucción u oclusión observada en este estudio fueron los tapones oviductales, ya fuesen de tamaño moderado (una masa que llenaba el lumen pero no lo distendía) o de pequeño tamaño (una masa de diámetro menor que el lumen). Sin embargo, esta técnica diagnóstica no solo requiere una intervención quirúrgica, sino también un lavado uterino 48 horas después. En consecuencia, el coste del procedimiento podría ser elevado y, por tanto, inasequible para la mayoría de granjas lecheras.

Los oviductos ocluidos pueden resultar en infertilidad o incluso esterilidad debido a la alteración u obstrucción del transporte normal de los gametos. Además, el oviducto también ofrece las condiciones ambientales apropiadas para facilitar la maduración de los gametos, la fertilización y el desarrollo embrionario temprano (Killian, 2011). Por lo tanto, cualquier condición patológica que altere la función secretora normal del epitelio oviductal podría perjudicar la fertilización o el desarrollo embrionario, incluso sin causar obstrucción tubárica. En consecuencia, la identificación de la permeabilidad bilateral oviductal en vacas SRC no excluye el oviducto como una causa potencial de infertilidad (Garrido et al. 2019).

Debido a la baja prevalencia, no fue posible realizar un análisis estadístico fiable para evaluar los factores de riesgo para OO. Hasta donde sabemos, no hay ningún artículo de investigación en la literatura sobre los factores de riesgo para la OO en vacas lecheras. Sin embargo, se ha sugerido que la OO podría ser consecuencia de la salpingitis, que puede asociarse a la metritis o a la endometritis (Azawi, 2009). Por lo tanto, se podría plantear la hipótesis de que los factores de riesgo ampliamente descritos para estas dos patologías reproductivas, como la distocia, el BEN o el número de parto (Dubuc et al., 2010b; Yáñez et al., 2022), podrían también dar lugar al bloqueo oviductal si la patología no es diagnosticada o tratada adecuadamente y progresa a condiciones más graves.

### **5.2.3 Efecto del tratamiento sobre la TC**

Aunque el número de animales tratado para la ES es reducido debido a la prevalencia relativamente baja observada, nuestros resultados sugieren que podría ser posible mejorar las TC en vacas SRC con la administración de una combinación de un AINE y PGF<sub>2α</sub>. Hay mucha información sobre este tema en relación con el periodo postparto. Sin embargo, en lo referente al SRC existe poca información disponible en la literatura. Durante el postparto, los antibióticos y las prostaglandinas, ya sea individualmente o combinados, se han usado para tratar la ES, aunque los resultados no son concluyentes (Quintela et al., 2018). Además, ya que en la mayoría de casos de ES no hay una contaminación bacteriana en el útero, pero sí hay evidencia de un estado inflamatorio, el tratamiento con AINEs ha sido probado con resultados positivos (Priest et al., 2013). En vacas repetidoras, cuando la causa principal de infertilidad es desconocida, se han administrado múltiples tratamientos, incluyendo hormonas, lavados uterinos con solución salina, antisépticos o antibióticos, AINEs, y técnicas

de reproducción asistida (Pérez-Marín et al., 2012). En cuanto a los AINEs, estos pueden administrarse solos o en combinación con diferentes hormonas. Se ha reportado que la combinación de meloxicam, GnRH y P4 mejoró significativamente las TC en vacas con SRC (37,5%) en comparación con vacas tratadas solo con GnRH (20%) o vacas no tratadas (17,8%) (Amiridis et al., 2009). En el mismo estudio, la administración de meloxicam solo (TC = 22,6%) no mostró diferencias significativas con ninguno de los otros grupos experimentales.

Esto concuerda con los resultados observados en el presente estudio, ya que la administración de carprofeno, tanto solo como en combinación con  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , aumentó significativamente las TC. Se ha descrito que una migración fuerte y rápida de PMN al lumen uterino inmediatamente después del parto está relacionada con una mejor salud uterina (Gilbert y Santos, 2016). Sin embargo, la cantidad de PMN en el interior del útero debería disminuir tras finalizar su función. En este sentido, el reclutamiento persistente de PMN hacia el útero por parte de células inmunes disfuncionales puede provocar daños en la capa endometrial y contribuir al desarrollo de la enfermedad (Pascottini et al., 2023). Estos investigadores afirmaron que la ES refleja una mala adaptación a un desafío metabólico y una desregulación de la inflamación, y que el estrés metabólico y la inflamación no solo preceden a la enfermedad uterina sino que podrían también desencadenarse en el periodo preparto. Como consecuencia, la administración de un AINE podría ayudar a controlar la respuesta inmune dentro del útero y, junto con el empleo de prácticas de manejo adecuadas para evitar estrés adicional y asegurar un balance energético apropiado, permitiría al animal superar esta enfermedad.

En cuanto a la OO, el efecto del tratamiento en las TC no pudo ser probado debido al bajo número de casos identificados. Se ha descrito previamente que la transferencia de embriones producidos *in vivo* o *in vitro* podría ser una buena alternativa para las vacas con OO bilateral (Garrido et al., 2019). Además, cabe señalar que, si la causa de la oclusión es reversible, por ejemplo, la salpingitis, la gestación tras la IA sigue siendo posible. Sin embargo, esto requeriría múltiples IAs o evaluaciones seriadas para comprobar la permeabilidad oviductal, lo que acabaría aumentando las pérdidas económicas debidas al SRC.

### **5.3 EXPERIMENTO 3: PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO DEL SÍNDROME DE REPETICIÓN DE CELOS EN GANADO VACUNO LECHERO DEL NORTE DE ESPAÑA**

La prevalencia de SRC obtenida en el presente estudio fue del 21,1%, correspondiendo un 18,6% a las vacas primíparas y algo superior, un 22,8%, en las multíparas. En este sentido, diversos estudios han relacionado el número de parto con un aumento en la incidencia del SRC (Moss et al., 2002; Nishi et al., 2010; Bonneville-Hébert et al., 2011; Asaduzzaman et al., 2016; Balasundaram et al., 2016; Khan et al., 2016; Eshete et al., 2023), lo que podría deberse al desarrollo de patologías reproductivas tras los sucesivos partos y las alteraciones uterinas que acarrear. Además, la edad avanzada podría también influir negativamente en la fertilidad debido la reducción de la calidad de los ovocitos (Álvarez et al., 2018) o a la aparición de anomalías ováricas y fallos en la ovulación relacionados con defectos en la producción de las hormonas hipotalámicas o hipofisarias (Bulman y Lamming, 1978). Por el contrario, algunos autores han observado una prevalencia más elevada de este síndrome en las vacas primíparas (Gustafsson y Emanuelson, 2002; Yusuf et al., 2010; Asaduzzaman et al., 2016; Crivei et al., 2019), lo que podría achacarse a una menor capacidad de adaptación a las demandas metabólicas de la lactación a esas edades tempranas, en contra de otras opiniones (Matubber et al., 2018; Malik et al., 2019; Hasib et al., 2020; Jeong y Kim, 2022).

El desarrollo de patologías reproductivas durante el postparto aumentó el riesgo de aparición de SRC en los animales incluidos en nuestro estudio. La distocia fue un factor de riesgo importante tanto en primíparas como en multíparas, lo que está en línea con los resultados descritos en otros estudios (Lafi y Kaneene, 1992; Gustafsson y Emanuelson, 2002; Bonneville-Hébert et al., 2011; Nath et al., 2014; Matubber et al., 2018; Eshete et al., 2023). Las distocias se han asociado con una reducción en las TC y con mayores intervalos interparto (Stevenson y Call, 1988), debido a que provocan un retraso de la involución uterina y aumentan el riesgo de patologías uterinas (Földi et al., 2006; Bell y Roberts, 2007; Prunner et al., 2014; Bogado Pascottini y Opsomer, 2017), además de retrasar el reinicio de la actividad ovárica (Opsomer et al., 2000). En este sentido, diversos autores han demostrado la asociación entre el SRC y el mencionado reinicio anormal de la actividad ovárica (Bulman y Lamming, 1978; Yusuf et al., 2010). En el presente estudio, las infecciones uterinas postparto aumentaron significativamente la probabilidad de padecer el SRC. La endometritis fue un factor de riesgo tanto en primíparas como en multíparas, lo que concuerda con los resultados reportados en diversos estudios (Nath et al., 2014; Crivei et al., 2019; Jeong y Kim, 2022; Eshete et al., 2023). Asimismo, para las vacas multíparas, la metritis favoreció la aparición de este síndrome, en línea con lo observado por otros autores (Bonneville-Hébert et al., 2011; Nath et al., 2014; Crivei et al., 2019; Hasib et al., 2020; Eshete et al., 2023). Se sabe que la presentación de patologías uterinas en el postparto afecta a la fertilidad de la vaca (LeBlanc et al., 2002; Sheldon et al., 2009), ya que alteran el ambiente uterino y la función ovárica, reduciendo la supervivencia de gametos y embriones (Williams et al., 2001; Mateus et al., 2002; Hill y Gilbert, 2008; Gilbert et al., 2011; Ribeiro et al., 2016). Sin embargo,

contrariamente a los resultados obtenidos en las vacas del Norte de España analizadas, otros autores no observaron asociación de las distocias ni de las metritis con un mayor riesgo de desarrollo de SRC (Balasundaram et al., 2016; Jeong y Kim, 2022).

Tras el análisis de los registros obtenidos en el presente estudio, la pérdida acusada de CC entre el periodo de secado y el postparto incrementó significativamente el riesgo de desarrollo de SRC tanto en primíparas (pérdidas de 0,75 y entre 1-1,5 puntos) como en multíparas (pérdidas de 1-1,5 puntos). Sin tener en cuenta la pérdida de CC durante el periodo de transición, otros autores han descrito una prevalencia mayor de SRC en vacas con pobre CC en comparación con aquellas con CC media o buena (Asaduzzaman et al., 2016; Malik et al., 2019; Befekadu et al., 2023; Eshete et al., 2023; Datrianto et al., 2024). Además, estudios previos han asociado la pérdida de la CC en el postparto con una reducción de la fertilidad (Gillund et al., 2001; Pryce et al., 2001), y concretamente la CC baja en el momento de la primera IA ( $\leq 2,50$ ) y una pérdida marcada de CC en las tres primeras semanas postparto condujeron a una reducción en la TC, así como a una peor calidad de los embriones (Carvalho et al., 2014). Estos efectos perjudiciales pueden deberse al BEN que se produce en el periparto debido al aumento de las demandas asociadas a la lactación (Butler, 2003). Este BEN puede dar lugar a alteraciones en la función inmune (Hammon et al., 2006; Grinberg et al., 2008), lo que a su vez puede incrementar el riesgo de desarrollo de patologías uterinas, así como a alteraciones reproductivas y una bajada de la fertilidad (Lucy et al., 1992; Leroy et al., 2008; Bisinotto et al., 2012). Sin embargo, otros estudios no han observado asociación entre la CC y la incidencia de SRC (Yusuf et al., 2010; Nishi et al., 2018; Jeong y Kim, 2022).

Por otro lado, las alteraciones metabólicas se han estudiado como posible factor de riesgo del SRC. En el caso de los animales incluidos en nuestro estudio, la cetosis aumentó significativamente el riesgo de aparición de SRC, tanto en vacas primíparas como en multíparas. En concordancia con estos resultados, Jeong y Kim (2022) reportaron un aumento significativo de la incidencia de SRC en los animales que habían sufrido alteraciones metabólicas. Por otro lado, se ha descrito que aquellas vacas con cuadros de hipocalcemia presentan una probabilidad más alta de padecer SRC (Lafi y Kaneene, 1992; Crivei et al., 2019; Islam et al., 2023); en este sentido, dicho desequilibrio en los niveles sanguíneos de calcio puede acarrear un aumento de la incidencia de distocias, lo que también se asocia con mayor incidencia del SRC. En lo referente al desplazamiento de abomaso, frecuentemente asociado a la cetosis, en el presente estudio no se observó un efecto estadísticamente significativo sobre el riesgo de SRC. Por el contrario, estudios previos han sugerido un efecto perjudicial del desplazamiento de abomaso sobre la fertilidad en vacas lecheras (Loeffler et al., 1999; Brodzki et al., 2015), así como una mayor riesgo de padecer SRC (Jeong y Kim, 2022).

En este estudio, las mastitis clínicas fueron un factor de riesgo para el desarrollo de SRC tanto en vacas primíparas como en multíparas, y para estas últimas también lo fueron las mastitis subclínicas. Estos resultados están de acuerdo con lo reportado por Befekadu et al. (2023), que observaron un riesgo 2,63 veces mayor de sufrir SRC en las vacas que habían

presentado mastitis. Asimismo, Gustafsson y Emanuelson (2002) describieron que había una mayor proporción de vacas con SRC en rebaños con alta incidencia de mastitis clínicas. Los efectos negativos de la mastitis sobre la fertilidad han sido descritos previamente y se han asociado a menores TC (Santos et al., 2004; Hertl et al., 2014) así como a un aumento del IPIF (Schrack et al., 2001; Santos et al., 2004; Wilson et al., 2008). Resulta interesante resaltar que los efectos perjudiciales antes descritos sobre la fertilidad han sido asociados tanto con las mastitis clínicas como subclínicas (Lavon et al., 2011). Se ha sugerido que las vacas que padecen mastitis presentan un aumento en la síntesis de citoquinas proinflamatorias durante la infección (Rambeaud et al., 2003; Soto et al., 2003; Herath et al., 2009) que, junto con las endotoxinas bacterianas, provocan desequilibrios hormonales que afectan a la foliculogénesis y a la ovulación (Battaglia et al., 2000; Hockett et al., 2005; Lavon et al., 2010), así como a la supervivencia embrionaria (Soto et al., 2003).

Las cojeras aumentaron significativamente el riesgo de sufrir SRC en los animales incluidos en este estudio, al igual que describen Kara et al., (2011). Se ha reportado un aumento de los servicios por concepción (Hernández et al., 2001; Melendez et al., 2003), así como un aumento del IPIF (Bakerma et al., 1994; Hernández et al., 2001; Kilic et al., 2007; Mellado et al., 2018) en vacas que presentan cojeras en comparación con vacas sanas. Estos procesos afectan a la fertilidad a través de los mecanismos proinflamatorios comentados previamente, pero también generan dolor y estrés, lo que da lugar a un aumento plasmático de glucocorticoides y catecolaminas, que alteran el desarrollo folicular y la ovulación (Whay et al., 1997; Melendez et al., 2003).

El análisis de los datos correspondientes a vacas primíparas reveló que existía un riesgo significativamente menor de desarrollo del SRC cuando los partos tenían lugar en verano u otoño. Mientras que algunos autores no han observado relación entre la época de parto y el SRC (Bartlett et al., 1986; Yusuf et al., 2010), otros describen una mayor incidencia de SRC cuando las vacas paren en invierno (Malik et al., 2019) o en otoño-invierno (Hewett, 1968; Gustafsson y Emanuelson, 2002). Cabe señalar que el aumento de la incidencia durante el otoño y el invierno observado en Escandinavia puede deberse a la influencia de la reducción del fotoperíodo en esa época del año sobre la secreción hormonal, que podría dar lugar a alteraciones reproductivas (Gustafsson y Emanuelson, 2002). Diversos estudios han descrito una mayor incidencia de SRC durante la primavera y el verano (Khan et al., 2016; Verma et al., 2018; Crivei et al., 2019; Islam et al., 2023), lo que podría deberse a los efectos negativos del estrés calórico sobre la fertilidad. Estos efectos perjudiciales incluyen la alteración de la producción hormonal y el desarrollo folicular (Wilson et al., 1998; Wolfenson et al., 2000; De Rensis et al., 2017), así como de la manifestación de celos (García-Ispierto y López-Gatius, 2013; Wolfenson y Roth, 2019), y afectan a la supervivencia de ovocitos y embriones (García-Ispierto et al., 2006; Roth, 2008). La menor incidencia de SRC en los meses fríos podría estar relacionada con la ausencia de estrés térmico durante el periodo de cubrición, que correspondería a las vacas que paren en meses más cálidos.

El retraso de la primera IA postparto redujo el riesgo de padecer SRC en las vacas multíparas de este estudio. En este sentido, Jeong y Kim (2022) reportaron un riesgo significativamente menor de sufrir SRC en aquellas vacas inseminadas después de los 80 días postparto en comparación con las inseminadas  $\leq 80$  días después del parto. Además, otros estudios han observado previamente la asociación entre un intervalo corto entre el parto y la primera IA con una mayor incidencia de SRC (Gustafsson y Emanuelson, 2002; Yusuf et al., 2010). Este efecto puede deberse a que periodos de espera más largos permiten el establecimiento de una mejor salud uterina, la reducción de la inflamación sistémica y el restablecimiento de la ciclicidad ovárica (Stangaferro et al., 2018). En cuanto a la ES, una de las causas del SRC, se ha reportado mayor incidencia cuando se empleaban intervalos parto-primer IA cortos (Pascottini et al., 2017; Diaz-Lundahl et al., 2021).

# CONCLUSIONES

## 6. CONCLUSIONES

1. Aunque se ha probado que la concentración de inmunoglobulinas en el moco cervical afecta a la motilidad espermática, en este estudio no se encontraron diferencias en relación a este factor entre las vacas con y sin SRC, lo que podría indicar que una respuesta inmune local mediada por IgG/IgA contra los espermatozoides no es una de las posibles causas de este problema. Cabe destacar que nuestros resultados pueden carecer de significancia debido al reducido número de vacas y la consideración de un punto de corte bajo entre grupos. Por lo tanto, se requieren más investigaciones para arrojar luz en este tema.
2. En base a los resultados de este trabajo, ni la endometritis subclínica ni la oclusión oviductal parecen ser la causa principal del SRC en las vacas estudiadas.
3. En aquellos casos en que la endometritis subclínica es diagnosticada como causa del SRC, el tratamiento con AINEs parece aumentar las TC. Sin embargo, la falta de estudios al respecto, la gran discrepancia entre ellos, y el reducido número de animales incluidos indican la necesidad de realizar investigaciones adicionales con un tamaño muestral mayor.
4. La prevalencia del SRC observada en las vacas incluidas en nuestro estudio localizadas en el norte de España fue del 21,1% (18,6% en primíparas y 22,8% en multíparas).
5. Los factores de riesgo del SRC identificados para las vacas primíparas incluyeron una pérdida marcada de condición corporal entre el secado y el postparto, así como el desarrollo de cetosis, cojeras, mastitis clínicas y ciertas patologías reproductivas (distocias y endometritis), mientras que los partos en verano y otoño redujeron la posibilidad de aparición del SRC.
6. En lo referente a las vacas multíparas, los factores de riesgo observados en este estudio fueron los mismos que en el caso de las primíparas, pero en este grupo se añaden las metritis y las mastitis subclínicas. Además, para las vacas multíparas se observó un efecto protector del retraso en la primera IA tras el parto.

# **BIBLIOGRAFÍA**

## BIBLIOGRAFÍA

- Agarwal, A., Gupta, S., & Sharma, R. K. (2005). Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 3, 1-21. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-3-28>
- Alawneh, J. I., Laven, R. A., & Stevenson, M. A. (2011). The effect of lameness on the fertility of dairy cattle in a seasonally breeding pasture-based system. *Journal of Dairy Science*, 94(11), 5487-5493. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4395>
- Ahmadi, M. R., & Dehghan, S. A. (2007). Evaluation of the Treatment of Repeat Breeder Dairy Cows with Uterine Lavage plus PGF2alpha with and without Cephapirin. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 31(2), 125-129.
- Ahmadi, M. R., Tafti, A. K., Nazifi, S., & Ghaisari, H. R. (2005). The comparative evaluation of uterine and cervical mucosa cytology with endometrial histopathology in cows. *Comparative Clinical Pathology*, 14, 90-94. <https://doi.org/10.1007/s00580-005-0565-3>
- Ahmed, M. E., Ahmed, F. O., Frah, E. A., & Elfaki, I. (2017a). Blood biochemical profile of Sudanese crossbred repeat breeder cows. *African Journal of Biotechnology*, 16(8), 366-370. <https://doi.org/10.5897/AJB2016.15372>
- Ahmed, N., Das, B. B., Sinha, S., & Doley, S. (2017b). Evaluating efficacy of ovsynch and ovsynch plus early luteal phase GnRH protocols on different days of estrous cycle in repeat breeder cows. *Intas Polivet*, 18(1), 20-21.
- Ahuja, A. K., Cheema, R. S., & Kumar, A. (2016). Status of naturally developing antisperm antibodies in serum of calves, heifers, cows and their effect on in vitro capacitation and acrosome reaction. *Journal of Bio Innovation*, 5(6), 874-889.
- Aitalwad, R.S., Sawale, A.G., & Markandeya, N.M. (2021). Studies on ozone and autologous plasma intra-uterine therapy in infectious repeat breeder cows. *The Indian Journal of Animal Reproduction*, 42(1), 29–32. <https://doi.org/10.48165/>
- Akbarinejad, V., Gharagozlou, F., Vojgani, M., & Ranji, A. (2020). Evidence for quadratic association between serum anti-Müllerian hormone (AMH) concentration and fertility in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 218, 106457. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106457>
- Akira, S., Uematsu, S., & Takeuchi, O. (2006). Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 124(4), 783-801. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.015>

- Alagar, S., Napolean, R. E., Selvaraju, M., Balasubramaniam, G. A., & Selvaraj, P. (2017). Effect of low volume normal saline on polymorphonuclear cell population in repeat breeder cows. *International Journal of Scientific Research in Science and Technology*, 3(7), 426-429.
- Alagawany, M., El-Hack, M., Farag, M. R., Tiwari, R., & Dhama, K. (2015). Biological effects and modes of action of carvacrol in animal and poultry production and health—a review. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 3(2s), 73-84. <http://dx.doi.org/10.14737/journal.aavs/2015/3.2s.73.84>
- Alghamdi, A. S., Foster, D. N., & Troedsson, M. H. T. (2004). Equine seminal plasma reduces sperm binding to polymorphonuclear neutrophils (PMNs) and improves the fertility of fresh semen inseminated into inflamed uteri. *Reproduction (Cambridge, England)*, 127(5), 593–600. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00096>
- Alnimer, M. A., & Husein, M. Q. (2007). The effect of progesterone and oestradiol benzoate on fertility of artificially inseminated repeat-breeder dairy cows during summer. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 42(4), 363–369. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00791.x>
- Alnimer, M. A., & Shamoun, A. I. (2015). Treatment with hCG 4 or 6 days after TAI to improve pregnancy outcomes in repeat-breeding dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 157, 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.03.016>
- Aloé, S., Weber, F., Behr, B., Sauter-Louis, C., & Zerbe, H. (2012). Modulatory effects of bovine seminal plasma on uterine inflammatory processes. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 47(1), 12–19. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01792.x>
- Alvarez, R.H., Bayeux, B.M., Mingoti, R.D., Carvalho, J.B.P., Baruselli, P.S. (2018) Oocyte quality and in vitro embryo production of aged Nellore cows selected for fertility. *Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE), Foz do Iguaçu. Proceedings of the 10th International Ruminant Reproduction Symposium (IRRS 2018)*, 15, 1160.
- Amiridis, G. S., Tsiligianni, T., Dovolou, E., Rekkas, C., Vouzaras, D., & Menegatos, I. (2009). Combined administration of gonadotropin-releasing hormone, progesterone, and meloxicam is an effective treatment for the repeat-breeder cow. *Theriogenology*, 72(4), 542–548. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.04.010>
- Amle, M., Patodkar, V., Shelar, R., & Birade, H. (2014). Serum biochemical levels of repeat breeder cross bred cows under rural condition of Satara District of Maharashtra. *International Journal of Advanced Veterinary Science and Technology*, 3(1), 109-113. <http://dx.doi.org/10.23953/cloud.ijavst.193>
- Anjum, I. A., Usmani, R. H., Tunio, M. T., & Abro, S. H. (2010). Improvement of conception rate in crossbred cattle by using GnRH analogue therapy. *Pakistan Veterinary Journal*, 29(2), 93-94.

- Annie, V.R. Lucy, K. M., Ashok, N., & Maya, S. (2022) Structural defects of the oviduct causing infertility in crossbred dairy cows. *Journal of Indian Veterinary Association*, 20(1), 33-38. <https://doi.org/10.55296/JIVA/20.1.2022.33-38>
- Appiah, M. O., Wang, J., & Lu, W. (2020). Microflora in the reproductive tract of cattle: a review. *Agriculture*, 10(6), 232. <https://doi.org/10.3390/agriculture10060232>
- Archana, S. S., Selvaraju, S., Binsila, B. K., Arangasamy, A., & Krawetz, S. A. (2019). Immune regulatory molecules as modifiers of semen and fertility: A review. *Molecular Reproduction and Development*, 86(11), 1485-1504. <https://doi.org/10.1002/mrd.23263>
- Arechiga, C. F., Staples, C. R., McDowell, L. R., & Hansen, P. J. (1998). Effects of timed insemination and supplemental  $\beta$ -carotene on reproduction and milk yield of dairy cows under heat stress. *Journal of Dairy Science*, 81(2), 390-402. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75589-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75589-4)
- Arias, L. A. Q., Fernández, M. V., González, J. J. B., López, M. B., Herradón, P. J. G., & Martínez, A. I. P. (2018). Subclinical endometritis in dairy cattle. *New Insights into Theriogenology*, 79-97. <https://doi.org/10.5772/intechopen.80229>
- Arikan, Ş., & Rodway, R. G. (2001). Seasonal variation in bovine luteal concentrations of  $\beta$ -carotene. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 25(2), 165-168.
- Arnold, C. E., & Love, C. C. (2013). Laparoscopic evaluation of oviductal patency in the standing mare. *Theriogenology*, 79(6), 905-910. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.12.004>
- Aroutcheva, A., Gariti, D., Simon, M., Shott, S., Faro, J., Simoes, J. A., Gurgui A., & Faro, S. (2001). Defense factors of vaginal lactobacilli. *American Journal of obstetrics and Gynecology*, 185(2), 375-379. <https://doi.org/10.1067/mob.2001.115860>
- Asaduzzaman, K. M., Bhuiyan, M. M. U., Rahman, M. M., & Bhattacharjee, J. (2016). Prevalence of repeat breeding and its effective treatment in cows at selected areas of Bangladesh. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*, 14(2). <https://doi.org/10.3329/bjvm.v14i2.31391>
- Asaf, S., Leitner, G., Furman, O., Lavon, Y., Kalo, D., Wolfenson, D., & Roth, Z. (2014). Effects of Escherichia coli-and Staphylococcus aureus-induced mastitis in lactating cows on oocyte developmental competence. *Reproduction (Cambridge, England)*, 147(1), 33-43. <https://doi.org/10.1530/REP-13-0383>
- Asfar, A., Sofi, K. A., Bhat, M. A., Malik, A. A., & Malik, A. A. (2021). Leukocyte esterase reagent strips: rapid, economical and reliable cow side test for subclinical endometritis. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 45(3), 540-546. <http://doi.org/10.3906/vet-2006-123>
- Asfar, A., Sofi, K. A., Fayaz, A., Bhat, M. A., Naikoo, M., & Rasool, S. (2020). Therapeutic evaluation of levofloxacin and lugol's iodine for subclinical endometritis. *Journal of Animal Research*, 10(4), 623-627. <http://doi.org/10.30954/2277-940X.04.2020.22>

- Austin, E. J., Mihm, M., Ryan, M. P., Williams, D. H., & Roche, J. F. (1999). Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. *Journal of Animal Science*, 77(8), 2219-2226. <https://doi.org/10.2527/1999.7782219x>
- Azawi, O. I. (2008). Postpartum uterine infection in cattle. *Animal Reproduction Science*, 105(3-4), 187-208. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.01.010>
- Azawi, O. I. (2009). A study on the pathological lesions of oviducts of buffaloes diagnosed at postmortem. *Veterinary Research Communications*, 33, 77-85. <https://doi.org/10.1007/s11259-008-9075-5>
- Badrakh, D., Yanagawa, Y., Nagano, M., & Katagiri, S. (2020). Effect of seminal plasma infusion into the vagina on the normalization of endometrial epidermal growth factor concentrations and fertility in repeat breeder dairy cows. *Journal of Reproduction and Development*, 66(2), 149-154. <https://doi.org/10.1262/jrd.2019-148>
- Båge, R. (2002). On Repeat Breeding in Dairy Heifers: With Special Focus on Follicular Dynamics, Ovulation, and Oocyte Quality. [Tesis doctoral, Universidad de Ciencias Agrícolas de Suecia] [https://pub.epsilon.slu.se/89/1/Veterinaria\\_139.pdf](https://pub.epsilon.slu.se/89/1/Veterinaria_139.pdf)
- Båge, R., Forsberg, M., Gustafsson, H., Larsson, B., & Rodríguez-Martínez, H. (2000). Effect of ACTH-challenge on progesterone and cortisol levels in ovariectomised repeat breeder heifers. *Animal Reproduction Science*, 63(1-2), 65-76. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00169-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00169-X)
- Båge, R., Gustafsson, H., Forsberg, M., Larsson, B., Rodríguez-Martínez, H. (1997) Suprabasal progesterone levels in repeat breeder heifers during the pro- and oestrous period. *Theriogenology*, 47, 141. [http://doi.org/10.1016/s0093-691x\(96\)00348-2](http://doi.org/10.1016/s0093-691x(96)00348-2)
- Båge, R., Gustafsson, H., Larsson, B., Forsberg, M., & Rodríguez-Martínez, H. (2002). Repeat breeding in dairy heifers: follicular dynamics and estrous cycle characteristics in relation to sexual hormone patterns. *Theriogenology*, 57(9), 2257-2269. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(02\)00840-3](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(02)00840-3)
- Båge, R., Petyim, S., Larsson, B., Hallap, T., Bergqvist, A. S., Gustafsson, H., & Rodríguez-Martínez, H. (2003). Oocyte competence in repeat-breeder heifers: effects of an optimized ovum pick-up schedule on expression of oestrus, follicular development and fertility. *Reproduction, Fertility, and Development*, 15(1-2), 115-123. <https://doi.org/10.1071/rd02094>
- Balasundaram, B., Sharma, P. C., Dongre, V. B., Kumar, P. S., & Jayalalitha, V. (2016). Interaction among the factors influencing incidence of repeat breeder cow syndrome in crossbred cows. *International Journal of Science, Environment and Technology*, 5, 4477-4480.
- Barański, W., Podhalicz-Dzięgielewska, M., Zduńczyk, S., & Janowski, T. (2012). The diagnosis and prevalence of subclinical endometritis in cows evaluated by different

- cytologic thresholds. *Theriogenology*, 78(9), 1939-1947.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.07.018>
- Baravalle, M. E., Stassi, A. F., Velázquez, M. M., Belotti, E. M., Rodríguez, F. M., Ortega, H. H., & Salvetti, N. R. (2015). Altered Expression of Pro-inflammatory Cytokines in Ovarian Follicles of Cows with Cystic Ovarian Disease. *Journal of Comparative Pathology*, 153(2-3), 116–130. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2015.04.007>
- Barkema, H. W., Westrik, J. D., Van Keulen, K. A. S., Schukken, Y. H., & Brand, A. (1994). The effects of lameness on reproductive performance, milk production and culling in Dutch dairy farms. *Preventive Veterinary Medicine*, 20(4), 249-259.  
[https://doi.org/10.1016/0167-5877\(94\)90058-2](https://doi.org/10.1016/0167-5877(94)90058-2)
- 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>
- Barolia, Y., Shende, K., Vaishnava, C. S., & Nagda, R. K. (2016). Comparative study of Co-synch and Ov-synch protocol on fertility in repeat breeder Gir cow. *International Journal of Science, Environment and Technology*, 5(4), 1874-78.
- Barragan, A. A., Bauman, L., da Costa, L., Velez, J., Gonzalez, J. D. R., Schuenemann, G. M., Menichetti, B., Piñeiro, J., & Bas, S. (2020). Administration of acetylsalicylic acid after parturition in lactating dairy cows under certified organic management: Part I. Milk yield, milk components, activity patterns, fertility, and health. *Journal of Dairy Science*, 103(12), 11697–11712. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18388>
- Barson, R. K., Padder, S., Sayam, A. S. M., Rahman, M. M., Bhuiyan, M. M. U., & Bhattacharjee, J. (2019). Serum glucose, urea nitrogen, cholesterol, and total proteins in crossbred repeat breeder and normally cyclic cows. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 6(1), 82-85. <https://doi.org/10.5455/javar.2019.f316>
- Bartlett, P. C., Kirk, J. H., & Mather, E. C. (1986). Repeated insemination in Michigan Holstein-Friesian cattle: Incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact. *Theriogenology*, 26(3), 309-322. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(86\)90150-0](https://doi.org/10.1016/0093-691x(86)90150-0)
- Barui, A., Batabyal, S., Ghosh, S., Saha, D., & Chattopadhyay, S. (2015). Plasma mineral profiles and hormonal activities of normal cycling and repeat breeding crossbred cows: A comparative study. *Veterinary World*, 8(1), 42-45.  
<https://doi.org/10.14202/vetworld.2015.42-45>
- Baruselli, P. S., Batista, E. O. S., Vieira, L. M., & Souza, A. H. (2015). Relationship between follicle population, AMH concentration and fertility in cattle. *Animal Reproduction (AR)*, 12(3), 487-497.
- Baruselli, P. S., Catussi, B. L. C., & Abreu, L. Â. D. (2022). Use of reproductive biotechnologies to improve the fertility of repeat-breeder and heat-stressed dairy cows. *Spermova*, 12(1), 112-117. <http://doi.org/10.18548/asp/0010.16>

- Baruselli, P. S., Ferreira, R. M., Sá Filho, M. F., Nasser, L. F., Rodrigues, C. A., & Bó, G. A. (2010). Bovine embryo transfer recipient synchronisation and management in tropical environments. *Reproduction, Fertility and Development*, 22(1), 67–74. <https://doi.org/10.1071/RD09214>
- Baruselli, P. S., de Souza, A. H., de Sá Filho, M. F., Marques, M. O., & de Sousa Sales, J. N. (2018). Genetic market in cattle (Bull, AI, FTAI, MOET and IVP): financial payback based on reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. *Animal Reproduction*, 15(3), 247-255. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-0091>
- Bas, S., Hoet, A., Rajala-Schultz, P., Sanders, D., & Schuenemann, G. M. (2011). The use of plastic cover sheaths at the time of artificial insemination improved fertility of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94(2), 793–799. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3704>
- Battaglia, D. F., Krasa, H. B., Padmanabhan, V., Viguié, C., & Karsch, F. J. (2000). Endocrine alterations that underlie endotoxin-induced disruption of the follicular phase in ewes. *Biology of Reproduction*, 62(1), 45-53. <https://doi.org/10.1095/biolreprod62.1.45>
- Bedewy, R. B., & Rahawy, M. A. (2019). Comparative study for detection of subclinical endometritis in local cows. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 7(4), 289-294. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.aavs/2019/7.4.289.294>
- Befekadu, K., Eshete, T., Demissie, T., & Yilma, T. (2023). Contributing factors to repeat breeding and postpartum anestrus and pregnancy rate subsequent to hormonal intervention in crossbred dairy cows. *Ethiopian Veterinary Journal*, 27(2), 144-160. <https://dx.doi.org/10.4314/evj.v27i2.8>
- Bell, M. J., & Roberts, D. J. (2007). The impact of uterine infection on a dairy cow's performance. *Theriogenology*, 68(7), 1074-1079. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.08.010>
- Bergfeld, E. G., Kojima, F. N., Cupp, A. S., Wehrman, M. E., Peters, K. E., Mariscal, V., Sanchez, T., & Kinder, J. E. (1996). Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of 17 beta-estradiol in bovine females. *Biology of Reproduction*, 54(3), 546–553. <https://doi.org/10.1095/biolreprod54.3.546>
- Berling, F., Castro, F. C. D., & Oliveira, A. C. D. S. (2022). Influence of heat stress on in vitro oocyte and embryo production in high-yielding Holstein cows. *Ciência Animal Brasileira*, 23. <http://doi.org/10.1590/1809-6891v23e-71852e>
- Berry, D. P., Wall, E., & Pryce, J. E. (2014). Genetics and genomics of reproductive performance in dairy and beef cattle. *Animal*, 8(s1), 105-121. <http://doi.org/10.1017/S1751731114000743>
- Beutler, B., Hoebe, K., Du, X., & Ulevitch, R. J. (2003). How we detect microbes and respond to them: the Toll-like receptors and their transducers. *Journal of Leucocyte Biology*, 74(4), 479-485. <https://doi.org/10.1189/jlb.0203082>

- Bhardwaz, A., Nema, S., Mahour, S., Chabra, D., Rajput, N., & Sudarshan, K. (2018). Effect of Garlic (*Allium sativum*) Extract on Recovery and Conception Rate in Infectious Repeat Breeder Crossbred Cows. *Indian Journal of Veterinary Sciences and Biotechnology*, 14(2), 60–63.
- Bhat, F.A. & Bhattacharyya, H. K. (2012). Oestrus duration and status of reproductive organs in repeat breeding cows. *Iranian Journal of Applied Animal Science* 2(3), 295-299.
- Bhattacharyya, H. K. & Hafiz, A. (2009) Treatment of delayed ovulation in dairy cattle. *Indian Journal of Animal Research*, 43(3), 209-210.
- Bijker, I., Christley, R. M., Smith, R. F., & Dobson, H. (2015). Effect of signs of oestrus, disease stressors and cow activity on pregnancy rate following artificial insemination. *Veterinary Record*, 176(16), 411. <https://doi.org/10.1136/vr.102776>
- Bilodeau-Goeseels, S., & Kastelic, J. P. (2003). Factors affecting embryo survival and strategies to reduce embryonic mortality in cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 83(4), 659-671. <https://doi.org/10.4141/A03-029>
- Birhanu Hailu, B. H., Berihu Gebrekidan, B. G., Gezahign Alemayehu, G. A., & Teshale Teklu, T. T. (2014). Effects of buserelin acetate on conception rate in repeat breeding dairy cattle. *Indian Journal of Animal Reproduction*, 35 (2), 47-49.
- Bisinotto, R. S., Greco, L. F., Ribeiro, E. S., Martinez, N., Lima, F. S., Staples, C. R., Thatcher W. W., & Santos, J. E. P. (2012). Influences of nutrition and metabolism on fertility of dairy cows. *Animal Reproduction (AR)*, 9(3), 260-272.
- Bloch, A., Folman, Y., Kaim, M., Roth, Z., Braw-Tal, R., & Wolfenson, D. (2006). Endocrine alterations associated with extended time interval between estrus and ovulation in high-yield dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89(12), 4694-4702. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72520-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72520-6)
- Block, J., Bonilla, L., & Hansen, P. J. (2010). Efficacy of in vitro embryo transfer in lactating dairy cows using fresh or vitrified embryos produced in a novel embryo culture medium. *Journal of Dairy Science*, 93(11), 5234-5242. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3443>
- Bó, G. A., & Baruselli, P. S. (2014). Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Animal : an International Journal of Animal Bioscience*, 8(1), 144–150. <https://doi.org/10.1017/S1751731114000822>
- Bó, G. A., Baruselli, P. S., Chesta, P. M., & Martins, C. M. (2006) The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle. *Theriogenology*, 65(1), 89-101. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.10.008>
- Bogado Pascottini, O., Hostens, M., & Opsomer, G. (2017a). Cytological endometritis diagnosed at artificial insemination in repeat breeder dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 53(2), 559–561. <https://doi.org/10.1111/rda.13110> 1-3

- Bogado Pascottini, O., Hostens, M., Sys, P., Vercauteren, P., & Opsomer, G. (2017b). Cytological endometritis at artificial insemination in dairy cows: Prevalence and effect on pregnancy outcome. *Journal of Dairy Science*, *100*(1), 588–597. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11529>
- Bogado Pascottini, O., & LeBlanc, S. J. (2020). Metabolic markers for purulent vaginal discharge and subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology*, *155*, 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.06.005>
- Bogado Pascottini, O., & Opsomer, G. (2017). Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades del postparto uterino en vacas lecheras: una revisión con énfasis en la endometritis subclínica. *Compendio de Ciencias Veterinarias*, *7*(1), 29-40. <https://doi.org/10.18004/compend.cienc.vet.2017.07.01.29-40>
- Bogado Pascottini, O. A., & Opsomer, G. (2016). Postpartum uterine diseases in dairy cows: a review with emphasis on subclinical endometritis. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, *85*(6), 378-385. <http://doi.org/10.21825/vdt.v85i6.16313>
- Bondurant, R. H. (1999). Inflammation in the bovine female reproductive tract. *Journal of Animal Science*, *77*(2), 101-110. [https://doi.org/10.2527/1999.77suppl\\_2101x](https://doi.org/10.2527/1999.77suppl_2101x)
- Bonnett, B. N., Martin, S. W., Gannon, V. P., Miller, R.B., & Etherington, W. G. (1991). Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows. III. Bacteriological analysis and correlations with histological findings. *Canadian Journal of Veterinary Research*, *55*(2), 168-173.
- Bonnett, B. N., Martin, S. W., & Meek, A. H. (1993). Associations of clinical findings, bacteriological and histological results of endometrial biopsy with reproductive performance of postpartum dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine*, *15*(2-3), 205-220. [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(93\)90114-9](https://doi.org/10.1016/0167-5877(93)90114-9)
- Bonneville-Hébert, A., Bouchard, E., Tremblay, D. D., & Lefebvre, R. (2011). Effect of reproductive disorders and parity on repeat breeder status and culling of dairy cows in Quebec. *Canadian Journal of Veterinary Research*, *75*(2), 147-151. <http://doi.org/10.21423/aabppro20104178>
- Borş, S. I., Borş, A., & Abdoon, A. S. S. (2023). Economics of treatment with GnRH agonist 7–14 days after artificial insemination in repeat breeder lactating dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, *58*(7), 929-934. <https://doi.org/10.1111/rda.14368>
- Bosque, M. M., Garibay, C. D. H., Miramontes, A. D. S., Deras, F. G. V., Mellado, J., & García, J. E. (2023). Effect of heat stress and body condition score on the occurrence of puerperal disorders in Holstein cows. *Spanish Journal of Agricultural Research*, *21*(2), 501. <https://doi.org/10.5424/sjar/2023212-19600>
- Bosu, W. T., Perez, G. I., & Kujjo, L. L. (1996). Natural and endotoxin-induced atresia of preantral and early antral follicles is characterized by DNA internucleosomal cleavage. *Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research*, *44*(3), 352-359. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2795\(199607\)44:3<352::AID-MRD9>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2795(199607)44:3<352::AID-MRD9>3.0.CO;2-L)

- Bova, T. L., Chiavaccini, L., Cline, G. F., Hart, C. G., Matheny, K., Muth, A. M., Voelz, B.E., Kesler, D, & Memili, E. (2014). Environmental stressors influencing hormones and systems physiology in cattle. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12, 1-5. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-12-58>
- Brahmanand, O. S., Shukla, S., Kumar, A., & Kumar, R. (2019). Efficacy of herbal plants to cure repeat breeding due to sub-clinical endometritis in cattle. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 7(2): 674-676.
- Brazdova, A., Senechal, H., Peltre, G., & Poncet, P. (2016). Immune aspects of female infertility. *International Journal of Fertility and Sterility*, 10(1), 1-10. <https://doi.org/10.22074/ijfs.2016.4762>
- Braga Paiano, R., Becker Birgel, D., & Harry Birgel Junior, E. (2019). Uterine involution and reproductive performance in dairy cows with metabolic diseases. *Animals*, 9(3), 93. <https://doi.org/10.3390/ani9030093>
- Brinsko, S.P., Blanchard, T.L., Varner, D.D., Schumacher, J., Love, C.C., Hinrichs, K., Hartman, D.L. (2011). Endometritis. In: Brinsko, S.P., Blanchard, T.L., Varner, D.D., Schumacher, J., Love, C.C., Hinrichs, K., Hartman, D.L. (Eds.), *Manual of Equine Reproduction.*, 3rd edition. Mosby, Saint Louis, pp. 73–84.
- Brinsko, S.P., Varner, D.D., Blanchard, T.L., Meyers, S.A. (1990) The effect of postbreeding uterine lavage on pregnancy rate in mares. *Theriogenology*, 33(2), 465–475. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(90\)90504-m](https://doi.org/10.1016/0093-691x(90)90504-m)
- Brock, T. G., McNish, R. W., & Peters-Golden, M. (1999). Arachidonic acid is preferentially metabolized by cyclooxygenase-2 to prostacyclin and prostaglandin E2. *Journal of Biological Chemistry*, 274(17), 11660-11666. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.17.11660>
- Brodzki, P., Brodzki, A., Kurek, Ł., Marczuk, J., & Tatara, M. R. (2015). Reproductive system condition in dairy cows with left-sided displacement of the abomasums. *Annals of Animal Science*, 15(2), 359-371. <https://doi.org/10.1515/aoas-2015-0009>
- Bromfield, J. J. (2016). A role for seminal plasma in modulating pregnancy outcomes in domestic species. *Reproduction*, 152(6), R223-R232. <https://doi.org/10.1530/REP-16-0313>
- Bromfield, J. J., Santos, J. P., Block, J., Williams, R. S., & Sheldon, I. M. (2015). PHYSIOLOGY AND ENDOCRINOLOGY SYMPOSIUM: Uterine infection: linking infection and innate immunity with infertility in the high-producing dairy cow. *Journal of Animal Science*, 93(5), 2021-2033. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8496>
- Bromfield, J. J., Schjenken, J. E., Chin, P. Y., Care, A. S., Jasper, M. J., & Robertson, S. A. (2014). Maternal tract factors contribute to paternal seminal fluid impact on metabolic phenotype in offspring. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(6), 2200-2205. <https://doi.org/10.1073/pnas.1305609111>

- Bromfield, J. J., & Sheldon, I. M. (2011). Lipopolysaccharide initiates inflammation in bovine granulosa cells via the TLR4 pathway and perturbs oocyte meiotic progression in vitro. *Endocrinology*, *152*(12), 5029-5040. <https://doi.org/10.1210/en.2011-1124>
- Brown, E. J., & Vosloo, A. (2017). The involvement of the hypothalamopituitary-adrenocortical axis in stress physiology and its significance in the assessment of animal welfare in cattle. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, *84*(1), 1-9. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v84i1.1398>
- Bruinje, T. C., & Ambrose, D. J. (2019). Technical note: Validation of an automated in-line milk progesterone analysis system to diagnose pregnancy in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, *102*(4), 3615–3621. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15692>
- Bulman, D. C., & Lamming, G. E. (1978). Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, *54*(2), 447–458. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0540447>
- Burke, C. R., Meier, S., McDougall, S., Compton, C., Mitchell, M., & Roche, J. R. (2010). Relationships between endometritis and metabolic state during the transition period in pasture-grazed dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *93*(11), 5363-5373. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3356>
- Burton, J. L., & Kehrl, M. E. (1995). Regulation of neutrophil adhesion molecules and shedding of *Staphylococcus aureus* in milk of cortisol- and dexamethasone-treated cows. *American Journal of Veterinary Research*, *56*(8), 997-1006. <http://doi.org/10.2460/ajvr.1995.56.08.997>
- Butler, W. (2003). Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science*, *83*, 211-218. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(03\)00112-X](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(03)00112-X)
- Butler, S. T., Pelton, S. H., & Butler, W. R. (2004). Insulin increases 17 beta-estradiol production by the dominant follicle of the first postpartum follicle wave in dairy cows. *Reproduction (Cambridge, England)*, *127*(5), 537–545. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00079>
- Canu, S., Boland, M., Lloyd, G. M., Newman, M., Christie, M. F., May, P. J., Christley, R. M., Smith, R. F., & Dobson, H. (2010). Predisposition to repeat breeding in UK cattle and success of artificial insemination alone or in combination with embryo transfer. *The Veterinary Record*, *167*(2), 44–51. <https://doi.org/10.1136/vr.c3544>
- Caprio, M., Fabbri, E., Isidori, A. M., Aversa, A., & Fabbri, A. (2001). Leptin in reproduction. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, *12*(2), 65-72. [https://doi.org/10.1016/s1043-2760\(00\)00352-0](https://doi.org/10.1016/s1043-2760(00)00352-0)
- Cardoso, C. J. T., de Oliveira, J. S., Kischel, H., da Silva, W. A. L., Arruda, E. D. D. S., Souza-Cáceres, M. B., de Oliveira, F. A. M., Nogueira, É., Nogueira, G. P., & Melo-Sterza, F. A. (2018). Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictor of antral follicle population in heifers. *Animal Reproduction*, *15*(1), 12–16. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-2017-AR887>

- Cardoso Consentini, C. E., Wiltbank, M. C., & Sartori, R. (2021). Factors that optimize reproductive efficiency in dairy herds with an emphasis on timed artificial insemination programs. *Animals*, *11*(2), 301. <https://doi.org/10.3390/ani11020301>
- Carneiro, L. C., Cronin, J. G., & Sheldon, I. M. (2016). Mechanisms linking bacterial infections of the bovine endometrium to disease and infertility. *Reproductive Biology*, *16*(1), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2015.12.002>
- Carneiro, L. C., Ferreira, A. F., Padua, M., Saut, J. P., Ferraudo, A. S., & Dos Santos, R. M. (2014). Incidence of subclinical endometritis and its effects on reproductive performance of crossbred dairy cows. *Tropical Animal Health and Production*, *46*, 1435-1439. <https://doi.org/10.1007/s11250-014-0661-y>
- Carvalho, P. D., Souza, A. H., Amundson, M. C., Hackbart, K. S., Fuenzalida, M. J., Herlihy, M. M., Ayres, H., Dresch, A. R., Vieira, L. M., Guenther, J. N., Grummer, R. R., Fricke, P. M., Shaver, R. D., & Wiltbank, M. C. (2014). Relationships between fertility and postpartum changes in body condition and body weight in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *97*(6), 3666–3683. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7809>
- Casida, L. (1961). Present status of the repeat-breeder cow problem. *Journal of Dairy Science*, *44*(12), 2323-2329. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(61\)90063-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(61)90063-7)
- Cassell, B. G., Adamec, V., & Pearson, R. E. (2003). Maternal and fetal inbreeding depression for 70-day nonreturn and calving rate in Holsteins and Jerseys. *Journal of Dairy Science*, *86*(9), 2977-2983. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73895-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73895-8)
- Ceciliani, F., Ceron, J. J., Eckersall, P. D., & Sauerwein, H. (2012). Acute phase proteins in ruminants. *Journal of Proteomics*, *75*(14), 4207–4231. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.04.004>
- Çelik, H. A., Avcı, G., Aydın, İ., Bülbül, A., & Bülbül, T. (2009). Effect of  $\beta$ -carotene on ovarium functions and ovsynch success in repeat breeder cows. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* *15*(1), 87-94. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2008.82-A>
- Cenariu, M., & Jospe, E. (2017). Management of repeat breeding syndrome in cows. *Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine*, *74*(2), 207-211. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-vm:0045>
- Cerri, R. L., Rutigliano, H. M., Chebel, R. C., & Santos, J. E. (2009). Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows. *Reproduction (Cambridge, England)*, *137*(5), 813–823. <https://doi.org/10.1530/REP-08-0242>
- Chaikol, W., Yadmak, C., Yama, P., Jitjumnong, J., Sangkate, M., Warittha, U., Pronsao, M., Suriad, A., Mektrirat, R., Panatuk, J., Van Doan, H., Wang, C.K., Tang, P.C., & Moonmanee, T. (2022). Ovarian luteal category at the time of exogenous progesterone treatment alters pre-ovulatory follicle size and pregnancy outcome but not initial GnRH treatment in repeat-breeder crossbred dairy heifers submitted to the 7-day

fixed-time AI protocol. *Veterinary and Animal Science*, 17, 100257.  
<https://doi.org/10.1016/j.vas.2022.100257>

- Chapwanya, A., Meade, K. G., Narciandi, F., Stanley, P., Mee, J. F., Doherty, M. L., Callanan, J. J., & O'Farrelly, C. (2010). Endometrial biopsy: a valuable clinical and research tool in bovine reproduction. *Theriogenology*, 73(7), 988–994.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.11.015>
- Charfeddine, N., & Pérez-Cabal, M. A. (2017). Effect of claw disorders on milk production, fertility, and longevity, and their economic impact in Spanish Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 100(1), 653–665. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11434>
- Chastant, S., & Saint-Dizier, M. (2019). Inflammation: friend or foe of bovine reproduction?. *Animal Reproduction*, 16(3), 539-547. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2019-0057>
- Chaudhari, R. K., Mehrotra, S., Narayanan, K., Kumawat, B. L., Das, G. K., & Singh, G. (2015). Effect of CIDR on conception rate in repeat breeding cattle inseminated with liquid semen. *Journal of Animal Research*, 5(3), 649-651.  
<http://doi.org/10.5958/2277-940X.2015.00110.2>
- Chebel, R. C. (2011). Use of applied reproductive technologies (FTAI, FTET) to improve the reproductive efficiency in dairy cattle. *Acta Scientiae Veterinariae*, 39(1), s183-s202.
- Chebel, R. C., Santos, J. E., Reynolds, J. P., Cerri, R. L., Juchem, S. O., & Overton, M. (2004). Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 84(3-4), 239-255.  
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2003.12.012>
- Cheema, R.S., Bansal, A.K., Jarora, V., Gandotra, V.K. (2016). Antisperm antibodies in blood serum and cervical mucus of cross-bred cows with respect to age, parity and number of inseminations. *International Journal of Advanced Veterinary Science and Technology*, 5(2), 285-292. <http://doi.org/10.23953/cloud.ijavst.177>
- Cheon, H., Rho, Y. H., Choi, S. J., Lee, Y. H., Song, G. G., Sohn, J., Won N.H., g, & Ji, J. D. (2006). Prostaglandin E2 augments IL-10 signaling and function. *The Journal of Immunology*, 177(2), 1092-1100. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.2.1092>
- Cheong, S. H., Nydam, D. V., Galvão, 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>
- Chew B. P. (1993). Role of carotenoids in the immune response. *Journal of dairy science*, 76(9), 2804–2811. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77619-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77619-5)
- Chew, B. P., Holpuch, D. M., & O'fallon, J. V. (1984). Vitamin A and  $\beta$ -carotene in bovine and porcine plasma, liver, corpora lutea, and follicular fluid. *Journal of Dairy Science*, 67(6), 1316-1322. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81439-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81439-3)

- Chilliard, Y., Bocquier, F., & Doreau, M. (1998). Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reproduction, nutrition, development*, 38(2), 131–152. <https://doi.org/10.1051/rnd:19980201>
- Chrousos, G. P. (1998). Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptive response: The 1997 Hans Selye Memorial Lecture. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 851(1), 311-335. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb09006.x>
- Chrousos, G. P. & Gold, P. W. (1992). The concepts of stress and stress system disorders: Overview of physical and behavioral homeostasis. *Journal of the American Medical Association*, 267(9), 1244–1252. <http://doi.org/10.1001/jama.1992.03480090092034>
- Chrousos, G. P., & Kino, T. (2007). Glucocorticoid action networks and complex psychiatric and/or somatic disorders. *Stress*, 10(2), 213-219. <https://doi.org/10.1080/10253890701292119>
- Clagett-Dame, M., & Knutson, D. (2011). Vitamin A in reproduction and development. *Nutrients*, 3(4), 385-428. <https://doi.org/10.3390/nu3040385>
- Claycomb, R. W., Delwiche, M. J., Munro, C. J., & BonDurant, R. H. (1998). Rapid enzyme immunoassay for measurement of bovine progesterone. *Biosensors and Bioelectronics*, 13(11), 1165-1171. [https://doi.org/10.1016/s0956-5663\(98\)00081-5](https://doi.org/10.1016/s0956-5663(98)00081-5)
- Clemente, M., de La Fuente, J., Fair, T., Al Naib, A., Gutierrez-Adan, A., Roche, J. F., Rizos D., & Lonergan, P. (2009). Progesterone and conceptus elongation in cattle: a direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium?. *Reproduction*, 138(3), 507-517. <https://doi.org/10.1530/REP-09-0152>
- Clemente, N., Raineri, D., Cappellano, G., Boggio, E., Favero, F., Soluri, M. F., Dianzani, C., Comi, C., Dianzani, U., & Chiochetti, A. (2016). Osteopontin bridging innate and adaptive immunity in autoimmune diseases. *Journal of Immunology Research*, 2016(1), 7675437. <https://doi.org/10.1155/2016/7675437>
- Cole, J. B., VanRaden, P. M., Null, D. J., Hutchison, J. L., & Hubbard, S. M. (2022). Haplotype tests for economically important traits of dairy cattle. *AIP Research Report Genomics* (12-20).
- Collick, D. W., Ward, W. R., & Dobson, H. (1989). Associations between types of lameness and fertility. *The Veterinary Record*, 125(5), 103-106. <https://doi.org/10.1136/vr.125.5.103>
- Cooper, T. A., Wiggans, G. R., Null, D. J., Hutchison, J. L., & Cole, J. B. (2014). Genomic evaluation, breed identification, and discovery of a haplotype affecting fertility for Ayrshire dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3878-3882. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7427>
- Couto, G. B., Vaillancourt, D. H., & Lefebvre, R. C. (2013). Comparison of a leukocyte esterase test with endometrial cytology for diagnosis of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 79(1), 103-107. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.09.014>

- Crawford, G., Ray, A., Gudi, A., Shah, A., & Homburg, R. (2015). The role of seminal plasma for improved outcomes during in vitro fertilization treatment: review of the literature and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 21(2), 275-284. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmu052>
- Crivei, I.C., Ruginosu, E., Sănduleanu, C., Bors, S.I., Bugeac, T., Dascalu, L.D., Creanga, S.T. (2019) Incidence of repeat breeding syndrome in Holstein Friesian cattle *Scientific Papers-Animal Science Series: Lucrări Științifice - Seria Zootehnie*, 72, 33-37.
- Crookenden, M. A., Lake, A. V. R., Burke, C. R., Pratt, J. T., Mitchell, M. D., Phyn, C. V. C., Roch J.R., & Heiser, A. (2023). Effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the inflammatory response of bovine endometrial epithelial cells in vitro. *Journal of Dairy Science*, 106(4), 2651-2666. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21742>
- Crowe, M. A., Hostens, M., & Opsomer, G. (2018). Reproductive management in dairy cows - the future. *Irish Veterinary Journal*, 71, 1-13. <https://doi.org/10.1186/s13620-017-0112-y>
- Da Costa Freitas, J., Widayati, D.T., & Yusiati, L.M. (2017). Cortisol Hormones Profiles of Repeat Breeding Local Cattle. In *International Seminar on Tropical Animal Production (ISTAP)* pp. 799-803.
- Da Luz, N. F. V. (2013). Estudo do Efeito da Aplicação Intrauterina de Ozono Sobre a Taxa de Gestação, Após Inseminação Artificial, em Vacas Repetidoras de Raça Frísia Holstein [MsC Thesis, Universidad de Lisboa, Portugal]
- Dadarwal, D., Honparkhe, M., Singh, J., Cheede, G.S., & Kumar, A. (2007). Efficacy of double injection buserelin improving pregnancy rates oestrus repeat breeding crossbred cattle. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 77(7), 544-548.
- Dadarwal, D., Singh, J., Honparkhe, M., Cheede, G. S., & Kang, R. S. (2005). Investigations on repeat breeding crossbred cattle with history of prolonged estrus. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 75(8), 922-924.
- Dallago, G. M., Wade, K. M., Cue, R. I., McClure, J. T., Lacroix, R., Pellerin, D., & Vasseur, E. (2021). Keeping dairy cows for longer: A critical literature review on dairy cow longevity in high milk-producing countries. *Animals*, 11(3), 808. <https://doi.org/10.3390/ani11030808>
- Dalton, J.C. (2014) Insemination related factors affecting fertilization in estrous synchronized cattle. In: *Proc. Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle*, Stillwater, OK, pp. 169-185.
- Dar, R. R., Firdous, S., Amin, B. Y., Ali, A., Narayanan, K., & Patel, M. (2017). Luteal Dysfunction: A Potential Cause of Repeat Breeding and the Strategies to Combat it. *Theriogenology Insight-An International Journal of Reproduction in all Animals*, 7(2), 105-112. <http://doi.org/10.5958/2277-3371.2017.00026.2>

- Das, P. K., Deka, K. C., Biswas, R. K., & Goswami, J. (2007) Ovulatory disturbance and its therapeutic approach in repeat breeding crossbred cattle. *The Indian Journal of Animal Science*, 77(1), 45-47.
- Datrianto, D. S., Indarjulianto, S., Nururrozi, A., Paryuni, A. D., Priyo Jr, T. W., Adi, Y. K., & Egan, A. F. V. (2024). The Study of Body Condition Score and Macro Minerals on Fertile and Repeat Breeding Cattle in Ngaglik Sub-District. *Scholars Journal of Agricultural and Veterinary Science*, 11(3), 26-29.  
<http://doi.org/10.36347/sjavs.2024.v11i03.001>
- De Kruif, A. (1976). Repeat breeders: A survey and study of cows upon fourth insemination. *The Bovine Practitioner*, 11, 6-8. <https://doi.org/10.21423/bovine-vol1976no11p6-8>
- De Medeiros, S. F., & Norman, R. J. (2009). Human choriogonadotrophin protein core and sugar branches heterogeneity: basic and clinical insights. *Human Reproduction Update*, 15(1), 69-95. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmn036>
- De Rensis, F., Dall'Olio, E., Gnemmi, G. M., Tummaruk, P., Andrani, M., & Saleri, R. (2024). Interval from Oestrus to Ovulation in Dairy Cows-A Key Factor for Insemination Time: A Review. *Veterinary Sciences*, 11(4), 152.  
<https://doi.org/10.3390/vetsci11040152>
- De Rensis, F., Lopez-Gatius, F., García-Ispuerto, I., Morini, G., & Scaramuzzi, R. J. (2017). Causes of declining fertility in dairy cows during the warm season. *Theriogenology*, 91, 145-153. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.12.024>
- De Vries, A., & Marcondes, M. I. (2020). Overview of factors affecting productive lifespan of dairy cows. *Animal*, 14(1), 155-164. <https://doi.org/10.1017/S1751731119003264>
- Deguillaume, L., Geffré, A., Desquilbet, L., Dizien, A., Thoumire, S., Vornière, C., Constant, F., Fournier, R., & Chastant-Maillard, S. (2012). Effect of endocervical inflammation on days to conception in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95(4), 1776-1783.  
<https://doi.org/10.3168/jds.2011-4602>
- Dehkordi, F. K., & Amanlou, H. (2023). Effects of vitamin A injection on antioxidant status, ovarian function, and reproduction performance in repeat breeder Holstein cows. *Iranian Journal of Animal Science*, 54(4), 433-444.  
<http://doi.org/10.22059/IJAS.2022.337887.653872>
- Deka, R. P., Magnusson, U., Grace, D., Randolph, T. F., Shome, R., & Lindahl, J. F. (2021). Estimates of the economic cost caused by five major reproductive problems in dairy animals in Assam and Bihar, India. *Animals*, 11(11), 3116.  
<https://doi.org/10.3390/ani11113116>
- Deng, Q., Odhiambo, J. F., Farooq, U., Lam, T., Dunn, S. M., & Ametaj, B. N. (2015). Intravaginal lactic acid bacteria modulated local and systemic immune responses and lowered the incidence of uterine infections in periparturient dairy cows. *PLoS One*, 10(4), e0124167. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124167>

- Denis-Robichaud, J. (2016) Assessment of automated activity monitors for managing reproduction in dairy cows. [Tesis doctoral, Universidad de Guelph]  
<http://hdl.handle.net/10214/10123>
- Denis-Robichaud, J., Cerri, R. L. A., Jones-Bitton, A., & LeBlanc, S.J. (2018) Performance of automated activity monitoring systems used in combination with timed artificial insemination compared to timed artificial insemination only in early lactation in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *101*(1), 624-636. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12256>.
- Denis-Robichaud, J., & Dubuc, J. (2015). Randomized clinical trial of intrauterine cephalosporin infusion in dairy cows for the treatment of purulent vaginal discharge and cytological endometritis. *Journal of Dairy Science*, *98*(10), 6856-6864.  
<https://doi.org/10.3168/jds.2014-9129>
- Diaz-Lundahl, S., Garmo, R. T., Gillund, P., Klem, T. B., Waldmann, A., & Krogenæs, A. K. (2021). Prevalence, risk factors, and effects on fertility of cytological endometritis at the time of insemination in Norwegian Red cows. *Journal of Dairy Science*, *104*(6), 6961-6974. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19211>
- Dini, P., Farhoodi, M., Hostens, M., Van Eetvelde, M., Pascottini, O. B., Fazeli, M. H., & Opsomer, G. (2015). Effect of uterine lavage on neutrophil counts in postpartum dairy cows. *Animal Reproduction Science*, *158*, 25-30.  
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.04.005>
- Diskin, M. G., & Morris, D. G. (2008). Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reproduction in Domestic Animals*, *43*(2), 260-267.  
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01171.x>
- Diskin, M. G., & Sreenan, J. M. (2000). Expression and detection of oestrus in cattle. *Reproduction, Nutrition, Development*, *40*(5), 481-491.  
<https://doi.org/10.1051/rnd:2000112>
- Djuricic, D., Vince, S., Ablondi, M., Dobranic, T., & Samardzija, M. (2012). Effect of preventive intrauterine ozone application on reproductive efficiency in Holstein cows. *Reproduction in Domestic Animals*, *47*(1), 87-91. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01805.x>
- Dobson, H., Ghuman, S., Prabhakar, S., & Smith, R. (2003). A conceptual model of the influence of stress on female reproduction. *Reproduction-Cambridge*, *125*(2), 151-163. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1250151>
- Dobson, H., Walker, S. L., Morris, M. J., Routly, J. E., & Smith, R. F. (2008). Why is it getting more difficult to successfully artificially inseminate dairy cows?. *Animal : an International Journal of Animal Bioscience*, *2*(8), 1104-1111.  
<https://doi.org/10.1017/S175173110800236X>
- Dochi, O., Takahashi, K., Hirai, T., Hayakawa, H., Tanisawa, M., Yamamoto, Y., & Koyama, H. (2008). The use of embryo transfer to produce pregnancies in repeat-breeding dairy

- cattle. *Theriogenology*, 69(1), 124-128.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.09.001>
- Dodamani, M. S., Mohteshamuddin, K., Awati, S. D., Tandle, M. K., & Honnappagol, S. S. (2010). Evaluation of Pre and Post Artificial Insemination effect of GnRH Hormone on conception of repeat breeder Deoni Cows. *Veterinary World*, 3(5), 209.
- Dogra, S., Singh, R., Panday, A. K., & Agrawal, R. (2020). Impact of lameness on udder health and reproduction in crossbred cattle. *The Haryana Veterinarian*, 59(2), 248-250.
- Dolecheck, K. A., Silvia, W. J., Heersche, G., Jr, Chang, Y. M., Ray, D. L., Stone, A. E., Wadsworth, B. A., & Bewley, J. M. (2015). Behavioral and physiological changes around estrus events identified using multiple automated monitoring technologies. *Journal of Dairy Science*, 98(12), 8723–8731. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9645>
- Dourey, A., Colazo, M. G., Barajas, P. P., & Ambrose, D. J. (2011). Relationships between endometrial cytology and interval to first ovulation, and pregnancy in postpartum dairy cows in a single herd. *Research in Veterinary Science*, 91(3), e149–e153.  
<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.11.011>
- Drillich, M., Raab, D., Wittke, M., & Heuwieser, W. (2005). Treatment of chronic endometritis in dairy cows with an intrauterine application of enzymes: A field trial. *Theriogenology*, 63(7), 1811-1823.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.05.031>
- Dubuc, J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Walton, J. S., & LeBlanc, S. J. (2010a). Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93(11), 5225-5233. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3428>
- Dubuc, J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Walton, J. S., & LeBlanc, S. J. (2010b). Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93(12), 5764-5771. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3429>
- Duchens, M., Forsberg, M., Edqvist, L., Gustafsson, H. & Rodríguez-Martínez, H. (1994) Effect of induced suprabasal progesterone levels around estrus on plasma concentrations of progesterone, estradiol-17beta and LH in heifers. *Theriogenology* 42:1159-1169. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(94\)90864-8](https://doi.org/10.1016/0093-691x(94)90864-8)
- Duchens, M., Rodríguez-Martínez, H., Forsberg, M., & Gustafsson, H. (1996). Ultrastructure of bovine ovarian follicles induced to extended growth by perioestrous suprabasal progesterone levels. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 37(3), 239.  
<https://doi.org/10.1186/BF03548091>
- Ducos, A., Revay, T., Kovacs, A., Hidas, A., Pinton, A., Bonnet-Garnier, A., Molten L., Slota, E., Switonski, M., Arruga, M.V., van Haeringer, W.A., Nicolae, I., Chaves, R., Guedes-Pinto, H., Andersson, M., & Iannuzzi, L. (2008). Cytogenetic screening of livestock populations in Europe: an overview. *Cytogenetic and Genome Research*, 120(1-2), 26-41. <https://doi.org/10.1159/000118738>

- Duričić, D., Lipar, M., & Samardžija, M. (2014). Ozone treatment of metritis and endometritis in Holstein cows. *Veterinarski Arhiv*, 84(2), 103-110.
- Durlinger, A. L., Visser, J. A., & Themmen, A. P. (2002). Regulation of ovarian function: the role of anti-Müllerian hormone. *Reproduction (Cambridge, England)*, 124(5), 601–609. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1240601>
- Durrani, A. Z., Raza, M. U., & Channa, A. A. (2017). An alternative therapy with ozone to avoid antimicrobial resistance (AMR) in uterine infections in dairy cattle. *Biomedical Journal of Science & Technical Research*, 1(3), 778-784. <http://doi.org/10.26717/BJSTR.2017.01.000303>
- Duval, F., González, F., & Rabia, H. (2010). Neurobiología del estrés. *Revista Chilena de Neuropsiquiatría*, 48(4), 307-318. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92272010000500006>
- Edmonson, A. J., Fissore, R. A., Pashen, R. L., & Bondurant, R. H. (1986). The use of ultrasonography for the study of the bovine reproductive tract. I. Normal and pathological ovarian structures. *Animal Reproduction Science*, 12(3), 157-165. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(86\)90036-9](https://doi.org/10.1016/0378-4320(86)90036-9)
- Erdem, H., & Guzeloglu, A. (2010). Effect of meloxicam treatment during early pregnancy in Holstein heifers. *Reproduction in Domestic Animals*, 45(4), 625-628. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01317.x>
- Ergene, O. (2012). Progesterone concentrations and pregnancy rates of repeat breeder cows following postinsemination PRID and GnRH treatments. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 36(3), 283-288. <http://doi.org/10.3906/vet-1103-3>
- Ergene, O. (2013). Improving repeat breeder cows fertility by estrus synchronization: comparison of PRID+ PGF2alfa+ GnRH and GnRH+ PGF2alfa+ GnRH protocols. *Scientific Papers. Series D, Animal Science*. Vol. LVI, 172-174.
- Escandón, B. M., Espinoza, J. S., Perea, F. P., Quito, F., Ochoa, R., López, G. E., Galarza, D. A., & Garzón, J. P. (2020). Intrauterine therapy with ozone reduces subclinical endometritis and improves reproductive performance in postpartum dairy cows managed in pasture-based systems. *Tropical Animal Health and Production*, 52(5), 2523–2528. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02298-3>
- Eshete, T., Demisse, T., Yilma, T., & Tamir, B. (2023). Repeat breeding and its 'associated risk factors in crossbred dairy cattle in Northern Central Highlands of Ethiopia. *Veterinary Medicine International*, 1, 1176924. <https://doi.org/10.1155/2023/1176924>
- Farimani, M., Poorolajal, J., Rabiee, S., & Bahmanzadeh, M. (2017). Successful pregnancy and live birth after intrauterine administration of autologous platelet-rich plasma in a woman with recurrent implantation failure: A case report. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, 15(12), 803-806. <http://doi.org/10.29252/IJRM.15.12.803>
- Ferreira, R. M., Ayres, H., Chiaratti, M. R., Ferraz, M. L., Araújo, A. B., Rodrigues, C. A., Watanabe, Y.F., Vireque, A.A., Joaquim, D.C., Smith, L.C., Meirelles, F.V., &

- Baruselli, P. S. (2011). The low fertility of repeat-breeder cows during summer heat stress is related to a low oocyte competence to develop into blastocysts. *Journal of Dairy Science*, *94*(5), 2383-2392. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3904>
- Ferreira, R. M., Ayres, H., Chiaratti, M. R., Rodrigues, C. A., Freitas, B. G., Meirelles, F. V., & Baruselli, P. S. (2010). Heat stress and embryo production in high-producing dairy cows. *Acta Scientiae Veterinariae*, s304-s315.
- Ferreira, R. M., Chiaratti, M. R., Macabelli, C. H., Rodrigues, C. A., Ferraz, M. L., Watanabe, Y. F., Smit L.C., Meirelles, F.V. & Baruselli, P. S. (2016). The infertility of repeat-breeder cows during summer is associated with decreased mitochondrial DNA and increased expression of mitochondrial and apoptotic genes in oocytes. *Biology of Reproduction*, *94*(3), 66. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.115.133017>
- Ferreira, R., Oliveira, J. F. C. D., Antoniazzi, A. Q., Pimentel, C. A., Moraes, J. C. F., Henkes, L. E., Bordignon V. & Gonçalves, P. B. D. (2008). Relationship between clinical and postmortem evaluation in repeat breeder beef cows. *Ciencia Rural*, *38*, 1056-1060. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000400023>
- Fleck A. (1989). Clinical and nutritional aspects of changes in acute-phase proteins during inflammation. *The Proceedings of the Nutrition Society*, *48*(3), 347–354. <https://doi.org/10.1079/pns19890050>
- Földi, J., Kulcsar, M., Pecs, A., Huyghe, B., De Sa, C., Lohuis, J.A.C.M., Cox, P., & Huszenicza, G. (2006). Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Animal Reproduction Science*, *96*(3-4), 265-281. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.08.006>
- Foley, C., Chapwanya, A., Callanan, J. J., Whiston, R., Miranda-CasoLuengo, R., Lu, J., & Meade, K. G. (2015). Integrated analysis of the local and systemic changes preceding the development of post-partum cytological endometritis. *BMC genomics*, *16*, 1-20. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1967-5>
- Forde, N., Beltman, M. E., Duffy, G. B., Duffy, P., Mehta, J. P., O'gaora, P., Roche, J.S., Lonergan, P., & Crowe, M. A. (2011). Changes in the endometrial transcriptome during the bovine estrous cycle: effect of low circulating progesterone and consequences for conceptus elongation. *Biology of Reproduction*, *84*(2), 266-278. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.085910>
- Fritz, S., A. Capitan, A., Djari, A., Rodriguez, S.C., Barbat, A., Baur, A., Grohs, C., Weiss, B., Boussaha, M., Esquerre, D., Klopp, C., Rocha, D. & Boichard, D. (2013) Detection of haplotypes associated with prenatal death in dairy cattle and identification of deleterious mutations in GART, SHBG and SLC37A2. *PLoS One* *8*:e65550. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065550>
- Fritz, S., Hoze, C., Rebours, E., Barbat, A., Bizard, M., Chamberlain, A., Escoufflaire, C., Vander Jagt, C., Boussaha, M., Grohs, C., Allais-Bonnet, A., Philippe, M., Vallée, A., Amigues, Y., Hayes, B. J., Boichard, D., & Capitan, A. (2018). An initiator codon mutation in SDE2 causes recessive embryonic lethality in Holstein cattle. *Journal of dairy science*, *101*(7), 6220–6231. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14119>

- Fuentes, B. M., Arias, L. A. Q., González, J. J. B., del Sol, L. D. B., Feijóo, J. E. M., Puñal, J. L. G., López, M.B, Lago, A.P., Cao, J.M.D., Rodríguez, G.F, Herradón, P.J.G., & Martínez, A. I. P. (2018). Agreement between postmortem endometrial cytology, biopsy and bacteriology in culled dairy cows. *Animal Reproduction (AR)*, *14*(4), 1024-1033. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR826>
- Gabler, C., Drillich, M., Fischer, C., Holder, C., Heuwieser, W., & Einspanier, R. (2009). Endometrial expression of selected transcripts involved in prostaglandin synthesis in cows with endometritis. *Theriogenology*, *71*(6), 993–1004. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.11.009>
- Galvão, K. N. (2012). Association between immune function and development of uterine disease in dairy cows. *Animal Reproduction (AR)*, *9*(3), 318-322. <https://doi.org/10.32473/edis-vm181-2012>
- Galvão, K. N., Frajblat, M., Brittin, S. B., Butler, W. R., Guard, C. L., & Gilbert, R. O. (2009a). Effect of prostaglandin F2 $\alpha$  on subclinical endometritis and fertility in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *92*(10), 4906-4913. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1984>
- Galvão, K. N., Flaminio, M. J., Brittin, S. B., Sper, R., Fraga, M., Caixeta, L., Ricci, A., Guard, C. L., Butler, W. R., & Gilbert, R. O. (2010). Association between uterine disease and indicators of neutrophil and systemic energy status in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, *93*(7), 2926–2937. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2551>
- Galvão, K. N., Greco, L. F., Vilela, J. M., Sá Filho, M. F., & Santos, J. E. P. (2009b). Effect of intrauterine infusion of ceftiofur on uterine health and fertility in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *92*(4), 1532-1542. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1615>
- Ganpatrao, S. A., & Markandeya, N. M. (2023). Efficacy of Ozone and Other Alternative Intrauterine Therapies in Infectious Repeat Breeder Cows. *The Indian Journal of Animal Reproduction*, *44*(2), 51-54. <https://doi.org/10.48165/ijar.2023.44.02.10>
- Garbarino, E. J., Hernandez, J. A., Shearer, J. K., Risco, C. A., & Thatcher, W. W. (2004). Effect of lameness on ovarian activity in postpartum Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, *87*(12), 4123-4131. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73555-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73555-9)
- Garcia-Garcia R. M. (2012). Integrative control of energy balance and reproduction in females. *ISRN Veterinary Science*, 2012, 121389. <https://doi.org/10.5402/2012/121389>
- Garcia-Ispuerto, I., & López-Gatius, F. (2013). A three-day PGF2 $\alpha$  plus eCG-based fixed-time AI protocol improves fertility compared with spontaneous estrus in dairy cows with silent ovulation. *The Journal of Reproduction and Development*, *59*(4), 393–397. <https://doi.org/10.1262/jrd.2013-017>
- Garcia-Ispuerto, I., & López-Gatius, F. (2017). Progesterone supplementation in the early luteal phase after artificial insemination improves conception rates in high-producing

- dairy cows. *Theriogenology*, *90*, 20–24.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.11.006>
- García-Ispuerto, I., López-Gatius, F., Santolaria, P., Yániz, J. L., Nogareda, C., López-Béjar, M., & De Rensis, F. (2006). Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. *Theriogenology*, *65*(4), 799–807. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.06.011>
- Garrett, J. E., Geisert, R. D., Zavy, M. T., & Morgan, G. L. (1988). Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *Reproduction*, *84*(2), 437-446. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0840437>
- Garrido, M. R., Peña, A. I., Herradon, P. G., Becerra, J. J., Sande, J., & Quintela, L. A. (2019). Evaluation of tubal patency in repeat breeder Holstein cows. *Spanish Journal of Agricultural Research*, *17*(4), e04SC02-e04SC02. <https://doi.org/10.5424/sjar/2019174-15419>
- Gautam, V., Srivastava, S., Kumar, R., Kumar, R., Yadav, V., & Sharma, P. (2021). Prevalence of fallopian tube pathologies in buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Buffalo Bulletin*, *40*(2), 247-258.
- Gendelman, M., & Roth, Z. (2012). Seasonal effect on germinal vesicle-stage bovine oocytes is further expressed by alterations in transcript levels in the developing embryos associated with reduced developmental competence. *Biology of Reproduction*, *86*(1), 1-9. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.111.092882>
- Genís, S., Cerri, R. L., Bach, À., Silper, B. F., Baylão, M., Denis-Robichaud, J., & Arís, A. (2018). Pre-calving intravaginal administration of lactic acid bacteria reduces metritis prevalence and regulates blood neutrophil gene expression after calving in dairy cattle. *Frontiers in Veterinary Science*, *5*, 135. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00135>
- Genís, S., Sánchez-Chardi, A., Bach, À., Fàbregas, F., & Arís, A. (2017). A combination of lactic acid bacteria regulates *Escherichia coli* infection and inflammation of the bovine endometrium. *Journal of Dairy Science*, *100*(1), 479-492. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11671>
- Geisert, R. D., Morgan, G. L., Short, E. C., & Zavy, M. T. (1992). Endocrine events associated with endometrial function and conceptus development in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, *4*(3), 301-305. <https://doi.org/10.1071/rd9920301>
- Ghanem, M. E., Nakao, T., Nakatani, K., Akita, M., & Suzuki, T. (2006). Milk progesterone profile at and after artificial insemination in repeat-breeding cows: effects on conception rate and embryonic death. *Reproduction in Domestic Animals*, *41*(2), 180-183. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00667.x>
- Ghasemi, F., Gonzalez-Cano, P., Griebel, P. J., & Palmer, C. (2012). Proinflammatory cytokine gene expression in endometrial cytobrush samples harvested from cows with

- and without subclinical endometritis. *Theriogenology*, 78(7), 1538-1547.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.06.022>
- Ghasemzadeh-Nava, H., Kohsari, H., & Tajik, P. (2007). Maintenance of pregnancy in repeat breeder dairy cows by CIDR administration after breeding. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 10(14), 2402-2406.  
<https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.2402.2406>
- Ghuman, S. P. S., Honparkhe, M., & Singh, J. (2012). Impact of initiating a PGF2 $\alpha$ -GnRH fixed-time AI protocol at the late luteal phase on reproductive performance of repeat-breeder crossbred dairy cattle. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 82(8), 830-833.  
<https://doi.org/10.56093/ijans.v82i8.23001>
- Giannone, C., Bovo, M., Ceccarelli, M., Torreggiani, D., & Tassinari, P. (2023). Review of the Heat Stress-Induced Responses in Dairy Cattle. *Animals*, 13(22), 3451.  
<https://doi.org/10.3390/ani13223451>
- 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. (2019). Symposium review: Mechanisms of disruption of fertility by infectious diseases of the reproductive tract. *Journal of Dairy Science*, 102(4), 3754-3765.  
<https://doi.org/10.3168/jds.2018-15602>
- Gilbert, R. O., & Santos, N. R. (2016). Dynamics of postpartum endometrial cytology and bacteriology and their relationship to fertility in dairy cows. *Theriogenology*, 85(8), 1367-1374. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.10.045>
- 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>
- Gillund, P., Reksen, O., Gröhn, Y. T., & Karlberg, K. (2001). Body condition related to ketosis and reproductive performance in Norwegian dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 84(6), 1390–1396. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70170-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70170-1)
- Gindri, P., de Ávila Castro, N., Mion, B., Gasperin, B. G., Pegoraro, L. M. C., Rincón, J. A. A., Vieira, A.D., Pradié, J., Pfeifer, L.F.M., Corrêa, M.N., & Schneider, A. (2019). Intrafollicular lipopolysaccharide injection delays ovulation in cows. *Animal Reproduction Science*, 211, 106226. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106226>
- Giuliodori, M. J., Magnasco, R. P., Becu-Villalobos, D., Lacau-Mengido, I. M., Risco, C. A., & de la Sota, R. L. (2013). Metritis in dairy cows: Risk factors and reproductive performance. *Journal of Dairy Science*, 96(6), 3621-3631.  
<https://doi.org/10.3168/jds.2012-5922>

- Gocher, T., Meena, M. M., Purohit, G. N., & Sasi, G. (2020). Efficacy of feeding of Omega-3 fatty acids and vitamin A, D3, E supplement and Ovsynch protocol in Repeat breeder crossbred cows. *The Pharma Innovation Journal*, 9(4), 91-92.
- Goldstein, D. S., & Kopin, I. J. (2007). Evolution of concepts of stress. *Stress*, 10(2), 109-120. <https://doi.org/10.1080/10253890701288935>
- Gonçalves, N. J. N., Frantz, N., & de Oliveira, R. M. (2019). Platelet-rich plasma (PRP) therapy: An approach in reproductive medicine based on successful animal models. *Animal Reproduction*, 16(1), 93-98. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-093>
- Goshen, T., Galon, N., Arazi, A., & Shpigel, N. Y. (2012). The effect of uterine biopsy on reproductive performance of dairy cattle: A case-control study. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 67(1), 34-38.
- Grandin, T. (1997). Assessment of stress during handling and transport. *Journal of Animal Science*, 75(1), 249-257. <https://doi.org/10.2527/1997.751249x>
- Graves-Hoagland, R. L., Hoagland, T. A., & Woody, C. O. (1988). Effect of  $\beta$ -carotene and vitamin A on progesterone production by bovine luteal cells. *Journal of Dairy Science*, 71(4), 1058-1062. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(88\)79652-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79652-6)
- Grinberg, N., Elazar, S., Rosenshine, I., & Shpigel, N. Y. (2008).  $\beta$ -Hydroxybutyrate abrogates formation of bovine neutrophil extracellular traps and bactericidal activity against mammary pathogenic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 76(6), 2802-2807. <https://doi.org/10.1128/IAI.00051-08>
- Guido, F. C. L., Guido, S. I., & Neto, J. E. (2020). Use of endometrial vascular perfusion by color Doppler, B-mode ultrasonography and cytology for diagnosis of subclinical endometritis in Holstein cows. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 44(4), 159-167. <https://doi.org/10.21451/1809-3000.RBRA2020.012>
- Gümen, A., Mecitoglu, G., Keskin, A., Karakaya, E., Alkan, A., Tasdemir, U., & Okut, H. (2012). The effect of intrauterine cephalosporin treatment after insemination on conception rate in repeat breeder dairy cows subjected to the progesterone-based Ovsynch protocol. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 36(6), 622-627. <https://doi.org/10.3906/vet-1104-13>
- Gupta, V.K., Mohanty, T.K., Bhakat, M., Dewry, R.K., Katiyar, R., Nain, D., Shah, N., Sethi M., Rautela R., Singh, M. & Deori, S. (2023) Bovine reproductive immunoinfertility: pathogenesis and immunotherapy. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1248604. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1248604>
- Gustafsson, H., & Emanuelson, U. (2002). Characterisation of the repeat breeding syndrome in Swedish dairy cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 43(2), 115–125. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-43-115>
- Gustavsson, I. (1979). Distribution and effects of the 1/29 Robertsonian translocation in cattle. *Journal of Dairy Science*, 62(5), 825-835. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(79\)83334-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(79)83334-2)

- Gustavsson, I., & Rockborn, G. (1964). Chromosome abnormality in three cases of lymphatic leukaemia in cattle. *Nature*, *203*, 990. <https://doi.org/10.1038/203990a0>
- Guzel, S., & Tanriverdi, M. (2014). Comparison of serum leptin, glucose, total cholesterol and total protein levels in fertile and repeat breeder cows. *Revista Brasileira de Zootecnia*, *43*, 643-647. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982014001200003>
- Guzeloglu, A., Erdem, H., Saribay, M. K., Thatcher, W. W., & Tekeli, T. (2007). Effect of the administration of flunixin meglumine on pregnancy rates in Holstein heifers. *The Veterinary Record*, *160*(12), 404-406. <https://doi.org/10.1136/vr.160.12.404>
- Gwazdauskas, F.C., Wilcox, C.J. & Thatcher, W.W. (1975) Environmental and management factors affecting conception rate in a subtropical climate. *Journal of Dairy Science*, *58*(1), 88- 92. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(75\)84523-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(75)84523-1)
- Habeeb, A. A. M., El-Tarabany, A. A., Gad, A. E., & Atta, M. A. (2018). Negative effects of heat stress on physiological and immunity responses of farm animals. *Agricultural Studies*, *2*(1), 1-18. <https://doi.org/10.31058/j.as.2018.21001>
- Halasa, T., Huijps, K., Østerås, O., & Hogeveen, H. (2007). Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Veterinary Quarterly*, *29*(1), 18-31. <https://doi.org/10.1080/01652176.2007.9695224>
- Hammon, D., Evjen, I. M., Dhiman, T. R., Goff, J. P., & Walters, J. L. (2006). Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *113*(1-2), 21-29. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2006.03.022>
- Hansen, P. J. (2007). Exploitation of genetic and physiological determinants of embryonic resistance to elevated temperature to improve embryonic survival in dairy cattle during heat stress. *Theriogenology*, *68*(1), 242-249. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.04.008>
- Hansen, P. J. (2019). Reproductive physiology of the heat-stressed dairy cow: implications for fertility and assisted reproduction. *Animal Reproduction*, *16*(3), 497-507. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2019-0053>
- Hansen, P. J. (2020). The incompletely fulfilled promise of embryo transfer in cattle-why aren't pregnancy rates greater and what can we do about it?. *Journal of Animal Science*, *98*(11), skaa288. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa288>
- Hansen, P. J., Soto, P., & Natzke, R. P. (2004). Mastitis and fertility in cattle—possible involvement of inflammation or immune activation in embryonic mortality. *American Journal of Reproductive Immunology*, *51*(4), 294-301. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2004.00160.x>
- Hansen, C. H., Pieterse, M., Scenczi, O., & Drost, M. (2000). Relative accuracy of the identification of ovarian structures in the cow by ultrasonography and palpation per

- rectum. *The Veterinary Journal*, 159(2), 161-170.  
<https://doi.org/10.1053/tvj.1999.0398>
- Harizi, H., & Gualde, N. (2006). Pivotal role of PGE2 and IL-10 in the cross-regulation of dendritic cell-derived inflammatory mediators. *Cellular & Molecular Immunology*, 3(4), 271–277.
- Hasan, M. M. I., Hasan, M., Mohanta, R. C., Miah, M. A. H., Rahman, M., Rahman, M. S., & Juyena, N. S. (2021). Double-timed artificial insemination along with gonadorelin acetate injection improved the fertility in repeat breeder cows. *International Journal of Natural Sciences*, 11(2), 29-39.
- Hasib, F. M. Y., Reza, M. M. B., Alam, M. M. U., & Azizunnesa, T. H. (2020). Occurrence and risk factors of repeat breeding on household dairy cows of Hathazari in Chattogram. *Bangladesh Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 8(1), 102-111.
- Hassaneen, A. S. A., Rawy M. S., Yamanokuchi, E., Elgendy, O., Kawano, T., Wakitani, S., Kitahara, G. & Osawa, T. (2023) Use of platelet lysate for in-vitro embryo production and treatment of repeat breeding in cows. *Theriogenology*, 210, 199-206.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.07.034>
- Hatipoglu, F., Kiran, M. M., Ortatatlı, M., Erer, H., & Çiftçi, M. K. (2002). An abattoir study of genital pathology in cows: I. Ovary and oviduct. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 153(1), 29-33.
- Hawk, H. W. (1987). Transport and fate of spermatozoa after insemination of cattle. *Journal of dairy science*, 70(7), 1487-1503. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)80173-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80173-X)
- Healy, L.L., Cronin, J.G., & Sheldon, I.M. (2014). Endometrial cells sense and react to tissue damage during infection of the bovine endometrium via interleukin 1. *Scientific Reports*, 4(1), 7060. <https://doi.org/10.1038/srep07060>
- Herath, S., Fischer, D. P., Werling, D., Williams, E. J., Lilly, S. T., Dobson, H., Bryan C.E., & Sheldon, I. M. (2006). Expression and function of Toll-like receptor 4 in the endometrial cells of the uterus. *Endocrinology*, 147(1), 562-570.  
<https://doi.org/10.1210/en.2005-1113>
- Herath, S., Lilly, S. T., Santos, N. R., Gilbert, R. O., Goetze, L., Bryant, C. E., Whit J.O., Cronin, J., & Sheldon, I. M. (2009). Expression of genes associated with immunity in the endometrium of cattle with disparate postpartum uterine disease and fertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 7, 55. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-7-55>
- Herath, S., Williams, E. J., Lilly, S. T., Gilbert, R. O., Dobson, H., Bryant, C. E., & Sheldon, I. M. (2007). Ovarian follicular cells have innate immune capabilities that modulate their endocrine function. *Reproduction*, 134(5), 683-693. <https://doi.org/10.1530/REP-07-0229>

- Hermas, S. A., Young, C. W., & Rust, J. W. (1987). Effects of mild inbreeding on productive and reproductive performance of Guernsey cattle. *Journal of Dairy Science*, *70*(3), 712-715. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)80062-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80062-0)
- Hernandez, J., Shearer, J. K., & Webb, D. W. (2001). Effect of lameness on the calving-to-conception interval in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *218*(10), 1611-1614. <https://doi.org/10.2460/javma.2001.218.1611>
- Hertl, J. A., Gröhn, Y. T., Leach, J. D. G., Bar, D., Bennett, G. J., González, R. N., Rauch, B.J., Welcome, F.L., Tauer, L.W., & Schukken, Y. H. (2010). Effects of clinical mastitis caused by gram-positive and gram-negative bacteria and other organisms on the probability of conception in New York State Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *93*(4), 1551-1560. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2599>
- Hertl, J. A., Schukken, Y. H., Welcome, F. L., Tauer, L. W., & Gröhn, Y. T. (2014). Effects of pathogen-specific clinical mastitis on probability of conception in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *97*(11), 6942-6954. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8203>
- Heuwieser, W., Iwersen, M., & Goetze, L. (2011). Efficacy of carprofen on conception rates in lactating dairy cows after subcutaneous or intrauterine administration at the time of breeding. *Journal of Dairy Science*, *94*(1), 146-151. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3341>
- Heuwieser, W., Oltenacu, P. A., Lednor, A. J., & Foote, R. H. (1997). Evaluation of different protocols for prostaglandin synchronization to improve reproductive performance in dairy herds with low estrus detection efficiency. *Journal of Dairy Science*, *80*(11), 2766-2774. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76239-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76239-8)
- Hewett, C. D. (1968). A survey of the incidence of the repeat breeder cow in Sweden with reference to herd size, season, age, and milk yield. *The British Veterinary Journal*, *124*(8), 342-351. [https://doi.org/10.1016/s0007-1935\(17\)39254-0](https://doi.org/10.1016/s0007-1935(17)39254-0)
- Hill, J., & Gilbert, R. (2008). Reduced quality of bovine embryos cultured in media conditioned by exposure to an inflamed endometrium. *Australian Veterinary Journal*, *86*(8), 312-316. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2008.00326.x>
- Hockett, M. E., Almeida, R. A., Rohrbach, N. R., Oliver, S. P., Dowlen, H. H., & Schrick, F. N. (2005). Effects of induced clinical mastitis during preovulation on endocrine and follicular function. *Journal of Dairy Science*, *88*(7), 2422-2431. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72920-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72920-9)
- Hoelker, M., Salilew-Wondim, D., Drillich, M., Christine, G. B., Ghanem, N., Goetze, L., Tesfaye, D., Schellander, K., & Heuwieser, W. (2012). Transcriptional response of the bovine endometrium and embryo to endometrial polymorphonuclear neutrophil infiltration as an indicator of subclinical inflammation of the uterine environment. *Reproduction, Fertility, and Development*, *24*(6), 778-793. <https://doi.org/10.1071/RD11171>

- Holman, A., Thompson, J., Routly, J. E., Cameron, J., Jones, D. N., Grove-White, D., Smith, R. F., & Dobson, H. (2011). Comparison of oestrus detection methods in dairy cattle. *The Veterinary Record*, *169*(2), 47. <https://doi.org/10.1136/vr.d2344>
- Howell, J. L., Fuquay, J. W., & Smith, A. E. (1994). Corpus luteum growth and function in lactating Holstein cows during spring and summer. *Journal of Dairy Science*, *77*(3), 735-739. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77007-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77007-7)
- Hozé, C., Escouflaire, C., Mesbah-Uddin, M., Barbat, A., Boussaha, M., Deloche, M. C., Boichard, D., Fritz, S., & Capitan, A. (2020). A splice site mutation in CENPU is associated with recessive embryonic lethality in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*, *103*(1), 607-612. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17056>
- Hughes, H. D., Carroll, J. A., Burdick Sanchez, N. C., & Richeson, J. T. (2014). Natural variations in the stress and acute phase responses of cattle. *Innate Immunity*, *20*(8), 888-896. <https://doi.org/10.1177/1753425913508993>
- Hunter, A. G. (1989). Immunology and fertility in the bovine. *Journal of Dairy Science*, *72*(12), 3353-3362. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79498-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79498-4)
- Hunter R. H. F. (2003). Advances in deep uterine insemination: a fruitful way forward to exploit new sperm technologies in cattle. *Animal Reproduction Science*, *79*(3-4), 157-170. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00163-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00163-5)
- Hurtgen, J. P. (2006). Pathogenesis and treatment of endometritis in the mare: a review. *Theriogenology*, *66*(3), 560-566. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.006>
- Husnurrizal, H., Siregar, T. N., Gholib, G., Panjaitan, B., Armansyah, T., & Wahyuni, S. (2021). Profiles of progesterone and bovine interferon- $\tau$  in repeat breeding and non-repeat breeding Aceh cows. *Veterinary World*, *14*(1), 230-236. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.230-236>
- Huszenicza, G., Jánosi, S., Kulcsár, M., Kóródi, P., Reiczigel, J., Kátai, L., Peters, A. R., & De Rensis, F. (2005). Effects of clinical mastitis on ovarian function in post-partum dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, *40*(3), 199-204. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2005.00571.x>
- Ikeda, S., Kitagawa, M., Imai, H., & Yamada, M. (2005). The roles of vitamin A for cytoplasmic maturation of bovine oocytes. *Journal of Reproduction and Development*, *51*(1), 23-35. <https://doi.org/10.1262/jrd.51.23>
- Inskeep E. K. (2004). Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *Journal of Animal Science*, *82 E-Suppl*, E24-E39. [https://doi.org/10.2527/2004.8213\\_supplE24x](https://doi.org/10.2527/2004.8213_supplE24x)
- Ireland, J. L., Scheetz, D., Jimenez-Krassel, F., Themmen, A. P., Ward, F., Lonergan, P., Smith, G. W., Perez, G. I., Evans, A. C., & Ireland, J. J. (2008). Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. *Biology of Reproduction*, *79*(6), 1219-1225. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.071670>

- Ireland, J. J., Zielak-Steciwko, A. E., Jimenez-Krassel, F., Folger, J., Bettgowda, A., Scheetz, D., Walsh, S., Mossa, F., Knight, P. G., Smith, G. W., Lonergan, P., & Evans, A. C. (2009). Variation in the ovarian reserve is linked to alterations in intrafollicular estradiol production and ovarian biomarkers of follicular differentiation and oocyte quality in cattle. *Biology of Reproduction*, *80*(5), 954–964. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.073791>
- Islam, M. N., Habib, M. R., Khandakar, M. M. H., Rashid, M. H., Sarker, M. A. H., Bari, M. S., Islam, M. Z., Alam, M. K., Sarkar, M. M., Jahan, R., Mahzabin, R., & Islam, M. A. (2023). Repeat breeding: prevalence and potential causes in dairy cows at different milk pocket areas of Bangladesh. *Tropical Animal Health and Production*, *55*(2), 120. <https://doi.org/10.1007/s11250-023-03537-z>
- Itoh, K., Endo, N., Kataoka, S. I., & Tanaka, T. (2016). 0121 Assessment of tubal patency by hysterosalpingo-contrast sonography in cow. *Journal of Animal Science*, *94*(5), 56-57. <https://doi.org/10.2527/jam2016-0121>
- Izumi, T., Miura, R., Sobu, N., Hirase, A., Yoneyama, O., Miyake, Y. I., Haneda, S., & Matsui, M. (2020). Effects of human chorionic gonadotropin and intravaginal progesterone device treatment after artificial inseminations on the reproductive performance of normal and repeat breeder lactating dairy cows. *The Journal of Reproduction and Development*, *66*(6), 523–528. <https://doi.org/10.1262/jrd.2020-065>
- Jaśkowski, B. M., Opałka, A., Gehrke, M., Herudzińska, M., Czeladko, J., Baumgartner, W., & Jaśkowski, J. M. (2021). A critical overview on prostaglandin inhibitors and their influence on pregnancy results after insemination and embryo transfer in cows. *Animals*, *11*(12), 3368. <https://doi.org/10.3390/ani11123368>
- Janowski, T., Baranski, W., Lukasik, K., Skarzynski, D., Rudowska, M., & Zdunczyk, S. (2013). Prevalence of subclinical endometritis in repeat breeding cows and mRNA expression of tumor necrosis factor  $\alpha$  and inducible nitric oxide synthase in the endometrium of repeat breeding cows with and without subclinical endometritis. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, *16*(4), 693-699. <https://doi.org/10.2478/pjvs-2013-0098>
- Jarora, V., Gandotra, V. K., Cheema, R. S., Bansal, A. K., & Dhindsa, S. S. (2014). Relationship of in vitro cervical mucus penetration assay with IgA and IgG type antibodies in cross-bred cows. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, *2*(11), 606-611. <http://dx.doi.org/10.14737/journal.aavs/2014/2.11.606.611>
- Jaureguiberry, M., Madoz, L.V., & Sota, R.L.D.L. (2015). Actualización en el síndrome de vaca repetidora. *Taurus*, *65*, 14-19.
- Jayaganthan, P., Vijayarajan, A., Prabakaran, V., Rajkumar, R., Sivakumar, A., & Raja, S. (2016a). Effect of Ovsynch plus CIDR protocol in management of repeat breeding crossbred Jersey cows. *International Journal of Science, Environment and Technology*, *5*(6), 3707-3712.

- Jayaganthan, P., Vijayarajan, A., Prabakaran, V., Sivakumar, A., & Raja, S. (2016b). Synchronization Of Ovulation In Repeat Breeding Crossbred Jersey Cows Using GnRH And PGF2 $\alpha$ . *International Journal of Science, Environment and Technology*, 5(4), 2377-2381.
- Jazmín, G. A. A., Gustavo, M. D., Dominguez, A. S., Alejandro, P. H. R., Cedillo, R. S., Diana, Z. Á. & Uziel, C. V. (2023) Anti-Müllerian Hormone and Its Utility in Cattle Reproduction. *Open Journal of Veterinary Medicine*, 13(1), 1-11. <https://doi.org/10.4236/ojvm.2023.131001>
- Jeong, J.K. & Kim, I.H. (2022) Risk factors for repeat breeder dairy cows and their impacts on reproductive performance. *Korean Journal of Veterinary Research*, 62(2), e15. <https://doi.org/10.14405/kjvr.20220003>
- Jimenez-Krassel, F., Folger, J. K., Ireland, J. L., Smith, G. W., Hou, X., Davis, J. S., Lonergan, P., Evans, A. C., & Ireland, J. J. (2009). Evidence that high variation in ovarian reserves of healthy young adults has a negative impact on the corpus luteum and endometrium during estrous cycles in cattle. *Biology of Reproduction*, 80(6), 1272–1281. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.075093>
- Jimenez-Krassel, F., Scheetz, D. M., Neuder, L. M., Ireland, J. L., Pursley, J. R., Smith, G. W., Tempelman, R. J., Ferris, T., Roudebush, W. E., Mossa, F., Lonergan, P., Evans, A. C., & Ireland, J. J. (2015). Concentration of anti-Müllerian hormone in dairy heifers is positively associated with productive herd life. *Journal of Dairy Science*, 98(5), 3036–3045. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8130>
- Jin, L., Yan, S., Shi, B., Bao, H., Gong, J., Guo, X., & Li, J. (2014). Effects of vitamin A on the milk performance, antioxidant functions and immune functions of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 192, 15-23. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.03.003>
- Jinagal, S., Dutt, R., Thakur, S., Punetha, M., Sharma, M., Saini, S., Chaudhari, S., Kumar, P., Yadav, P.S., & Kumar, D. (2023). Developmental Competence of Embryo vis-à-vis Lipopolysaccharide. *Animal Reproduction Update*, 3(1), 31-40. <https://doi.org/10.48165/aru.2023.3.1.6>
- Johnson, A. L., & Bridgham, J. T. (2002). Caspase-mediated apoptosis in the vertebrate ovary. *Reproduction-Cambridge*, 124(1), 19-27. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1240019>
- Jones, A. L., & Beal, W. E. (2003). Reproductive applications of ultrasound in the cow. *The Bovine Practitioner*, 37(1), 1-9. <https://doi.org/10.21423/bovine-vol37no1p1-9>
- Jung, M. Y., Kang, S., Lim, D. H., Kim, T. I., Lee, K., & Ha, S. (2021). Serum biochemical profiles of repeat breeder holstein friesian cows. *Korean Journal of Veterinary Service*, 44(4), 239-246. <https://doi.org/10.7853/kjvs.2021.44.4.239>
- Kadagi, M., Santhosh, S., Santhosh, H. M., Ashoka, P., & Jayshree, P. (2022). Effect of double dose PGF2 $\alpha$  on conception rate in repeat breeding dairy animals under field

- conditions. *Journal of Krishi Vigyan*, 11(si), 26-29. <https://doi.org/10.5958/2349-4433.2022.00067.8>
- Kadokawa, H., Blache, D., Yamada, Y., & Martin, G. B. (2000). Relationships between changes in plasma concentrations of leptin before and after parturition and the timing of first post-partum ovulation in high-producing Holstein dairy cows. *Reproduction, Fertility and Development*, 12(8), 405-411. <https://doi.org/10.1071/rd01001>
- Kara, N. K., Galic, A., & Koyuncu, M. (2011). Effects of stall type and bedding materials on lameness and hygiene score and effect of lameness on some reproductive problems in dairy cattle. *Journal of Applied Animal Research*, 39(4), 334-338. <https://doi.org/10.1080/09712119.2011.607890>
- Karki, B., Raut, R., Sankhi, K. P., Mandal, U., & Gautam, G. (2018). Fertility improvement by Ovsynch protocol in repeat breeder cattle of Kathmandu valley. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 6(3), 261-264. <https://doi.org/10.3126/ijasbt.v6i3.21183>
- Karsch, F. J., Battaglia, D. F., Breen, K. M., Debus, N., & Harris, T. G. (2002). Mechanisms for ovarian cycle disruption by immune/inflammatory stress. *Stress*, 5(2), 101-112. <https://doi.org/10.1080/10253890290027868>
- Karstrup, C. C., Pedersen, H. G., Jensen, T. K., & Agerholm, J. S. (2017). Bacterial invasion of the uterus and oviducts in bovine pyometra. *Theriogenology*, 93, 93-98. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.01.027>
- 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 postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 62(1-2), 9-23. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.03.001>
- Kasimanickam, R., Duffield, T. F., Foster, R. A., Gartley, C. J., Leslie, K. E., Walton, J. S., & Johnson, W. H. (2005a). 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), 255-259.
- Kasimanickam, R., Duffield, T. F., Foster, R. A., Gartley, C. J., Leslie, K. E., Walton, J. S., & Johnson, W. H. (2005b). The effect of a single administration of cephapirin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. *Theriogenology*, 63(3), 818-830. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.05.002>
- Kasimanickam, R. K., & Kasimanickam, V. R. (2020). IFNT, ISGs, PPARs, RXRs and MUC1 in day 16 embryo and endometrium of repeat-breeder cows, with or without subclinical endometritis. *Theriogenology*, 158, 39-49. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.09.001>

- Kasimanickam, R., & Kasimanickam, V. (2021). Impact of heat stress on embryonic development during first 16 days of gestation in dairy cows. *Scientific Reports*, *11*(1), 14839. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94278-2>
- Kasimanickam, R. K., Kasimanickam, V. R., Olsen, J. R., Jeffress, E. J., Moore, D. A., & Kastelic, J. P. (2013). Associations among serum pro-and anti-inflammatory cytokines, metabolic mediators, body condition, and uterine disease in postpartum dairy cows. *Reproductive Biology and Endocrinology*, *11*(103), 1-13. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-11-103>
- Kasrija, R., Singh, J., Dhaliwal, G. S., Honparkhe, M., & Matharoo, J. S. (2006). Skim milk progesterone profiles in relation to repeat breeding syndrome and conception in crossbred dairy cattle. *The Indian Journal of Animal Sciences*, *76*(8), 596-598.
- Katagiri, S., & Moriyoshi, M. (2013). Alteration of the endometrial EGF profile as a potential mechanism connecting the alterations in the ovarian steroid hormone profile to embryonic loss in repeat breeders and high-producing cows. *Journal of Reproduction and Development*, *59*(5), 415-420. <https://doi.org/10.1262/jrd.2013-048>
- Katagiri, S., Moriyoshi, M., & Takahashi, Y. (2013). Low incidence of an altered endometrial epidermal growth factor (EGF) profile in repeat breeder Holstein heifers and differential effect of parity on the EGF profile between fertile Holstein (dairy) and Japanese Black (beef) cattle. *Journal of Reproduction and Development*, *59*(6), 575-579. <https://doi.org/10.1262/jrd.2013-067>
- Katagiri, S., & Takahashi, Y. (2004). Changes in EGF concentrations during estrous cycle in bovine endometrium and their alterations in repeat breeder cows. *Theriogenology*, *62*(1-2), 103-112. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.08.019>
- Katagiri, S., & Takahashi, Y. (2006). Potential relationship between normalization of endometrial epidermal growth factor profile and restoration of fertility in repeat breeder cows. *Animal Reproduction Science*, *95*(1-2), 54-66. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.09.001>
- Katagiri, S., & Takahashi, Y. (2008). A progestin-based treatment with a high dose of estradiol benzoate normalizes cyclic changes in endometrial EGF concentrations and restores fertility in repeat breeder cows. *Journal of Reproduction and Development*, *54*(6), 473-479. <https://doi.org/10.1262/jrd.20078>
- Kauffold, J., Groeger, S., Bergmann, K., & Wehrend, A. (2009). Use of contrast sonography to test for tubal patency in dairy cattle. *Journal of Reproduction and Development*, *55*(3), 335-338. <https://doi.org/10.1262/jrd.20168>
- Kawano, K. (2023). Mechanisms causing reduced fertility under heat stress in relation to uterine environment and oocyte developmental competence in dairy cows [Tesis doctoral, Universidad de Hokkaido] <https://doi.org/10.14943/doctoral.k15508>
- Kawarsky, S. J., Basrur, P. K., Stubbings, R. B., Hansen, P. J., & Allan King, W. (1996). Chromosomal abnormalities in bovine embryos and their influence on development. *Biology of Reproduction*, *54*(1), 53-59. <https://doi.org/10.1095/biolreprod54.1.53>

- Kawata, K., & Koike, T. (1959). Studies on the tubal patency of the cow: II. tuboinsufflation test in clinical cases. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 7(1-4), 149-155. <https://doi.org/10.14943/jjvr.7.1-4.149>
- Kekan, P. M., Ingole, S. D., Nagvekar, A. S., Bharucha, S. V., & Kharde, S. D. (2020). Evaluation of anti-müllerian hormone in regular and repeat breeding Murrah buffaloes during estrous cycle. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 90(7), 1009-1010. <https://doi.org/10.56093/ijans.v90i7.106672>
- Kendall, N. R., Flint, A. P. F., & Mann, G. E. (2009). Incidence and treatment of inadequate postovulatory progesterone concentrations in repeat breeder cows. *The Veterinary Journal*, 181(2), 158-162. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.02.015>
- Keskin, A., Gümen, A., Yılmazbaş, G., Karakaya, E., Taşdemir, U., Çelik, Y., & Okut, H. (2010). The effect of progesterone based Ovsynch protocol and GnRH treatment after artificial insemination on conception rate in repeat breeder cows. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 29(2), 65-70.
- Kessy, B. M., & Noakes, D. E. (1985). Uterine tube abnormalities as a cause of bovine infertility. *The Veterinary Record*, 117(6), 122-124. <https://doi.org/10.1136/vr.117.6.122>
- Khan, A., Khan, M. Z., Umer, S., Khan, I. M., Xu, H., Zhu, H., & Wang, Y. (2020). Cellular and molecular adaptation of bovine granulosa cells and oocytes under heat stress. *Animals*, 10(1), 110. <https://doi.org/10.3390/ani10010110>
- Khan, A., Mushtaq, M. H., Ahmad, M.D., Hussain, A., Khan, A., Khan, A., & Nabi, H. (2016). Incidence of repeat breeding in varying breeds of buffaloes and cattle in different climatic conditions in Khyber Pakhtunkhwa (Pakistan). *Buffalo Bulletin*, 35(3), 445- 454.
- Kharche, S. D., & Srivastava, S. K. (2007). Dose dependent effect of GnRH analogue on pregnancy rate of repeat breeder crossbred cows. *Animal Reproduction Science*, 99(1-2), 196-201. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.05.006>
- Khasatiya, C. T., Singh, S. K., Dhami, A. J., & Kavani, F. S. (1998). Pathological investigations on tubal abnormalities in infertile buffaloes. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 68(4), 354-356.
- Khemarach, S., Yammuen-Art, S., Punyapornwithaya, V., Nithithanasilp, S., Jaipolsaen, N., & Sangsritavong, S. (2021). Improved reproductive performance achieved in tropical dairy cows by dietary beta-carotene supplementation. *Scientific Reports*, 11(1), 23171. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02655-8>
- Khillare, K., Birade, H. S., & Maini, S. (2010). Role of polyherbal intrauterine infusion in treatment of various reproductive disorders in cattle. *Veterinary World*, 3(8), 373-374. <https://doi.org/10.5455/vetworld.2010.373-374>

- Khoramian, B., Farzaneh, N., Garoussi, M. T., & Mohri, M. (2011). Comparison of the effects of gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin or progesterone on pregnancy per artificial insemination in repeat-breeder dairy cows. *Research in Veterinary Science*, *90*(2), 312-315. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.05.025>
- Kilic, N., Ceylan, A., Serin, I., & Gokbulut, C. (2007). Possible interaction between lameness, fertility, some minerals, and vitamin E in dairy cows. *Bulletin-Veterinary Institute in Pulawy*, *51*(3), 425-429.
- Killian G. (2011). Physiology and endocrinology symposium: evidence that oviduct secretions influence sperm function: a retrospective view for livestock. *Journal of Animal Science*, *89*(5), 1315–1322. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3349>
- Kim, U. H., Suh, G. H., Hur, T. Y., Kang, S. J., Kang, H. G., Park, S. B., Kim, H.S., & Kim, I. H. (2007). Comparison of two types of CIDR-based timed artificial insemination protocols for repeat breeder dairy cows. *Journal of Reproduction and Development*, *53*(3), 639-645. <https://doi.org/10.1262/jrd.18147>
- Kim, U. H., Suh, G. H., Nam, H. W., Kang, H. G., & Kim, I. H. (2005). Follicular wave emergence, luteal function and synchrony of ovulation following GnRH or estradiol benzoate in a CIDR-treated, lactating Holstein cows. *Theriogenology*, *63*(1), 260-268. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.04.005>
- Kimura, K., Goff, J. P., Kehrl, M. E., Jr, & Reinhardt, T. A. (2002). Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, *85*(3), 544–550. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74107-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74107-6)
- King, W. A. (1990). Chromosome abnormalities and pregnancy failure in domestic animals. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine*, *34*, 229-250. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-039234-6.50013-6>
- King, W. A., Coppola, G., Alexander, B., Mastromonaco, G., Perrault, S., Nino-Soto, M. I., Pinton, A., Joudrey, E.M., & Betts, D. H. (2006). The impact of chromosomal alteration on embryo development. *Theriogenology*, *65*(1), 166-177. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.09.031>
- King, W. A., Supplizi, A. V., Diop, H. E. P., & Bousquet, D. (1995). Chromosomal analysis of embryos produced by artificially inseminated superovulated cattle. *Genetics Selection Evolution*, *27*(2), 189-194. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-27-2-189>
- Kleczkowski, M., Kluciński, W., Sikora, J., & Zdanowicz, M. (2004). Role of antioxidants in the protection against oxidative stress in cattle--trace elements and enzymatic mechanisms (Part 3). *Polish Journal of Veterinary Sciences*, *7*(3), 233-240.
- Knight, P. G., & Glister, C. (2006). TGF-beta superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction (Cambridge, England)*, *132*(2), 191–206. <https://doi.org/10.1530/rep.1.01074>

- Kothari, B., Renton, J. P., Munro, C. D., & Macfarlane, J. (1978). Use of the phenolsulphonphthalein dye test for fallopian tube patency in cattle. *The Veterinary Record*, *103*(11), 229–232. <https://doi.org/10.1136/vr.103.11.229>
- Kubota, K., Miwa, M., Hayashi, K. G., Hosoe, M., & Sakatani, M. (2021). Steroidal but not embryonic regulation of mucin 1 expression in bovine endometrium. *Journal of Reproduction and Development*, *67*(6), 386–391. <https://doi.org/10.1262/jrd.2021-087>
- Kumar, S., Dholpuria, S., Kumar Chaudhary, A., Purohit, G. N., Singh Nirwan, S., Kumar, A., Kumar, A., & Nain, S. (2023). The incidence of subclinical endometritis in repeat breeding dairy cows and the comparative efficacy of different antibiotics and herbal intrauterine therapy. *Veterinarski Arhiv*, *93*(3), 299–306. <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.1645>
- Kunde, A. A. S., Raju, M. S., Murugavel, K., & Thanislass, J. (2018). Haemoglobin and plasma biochemical profile of repeat breeder cattle on the day of estrus could play a role in exhibition of estrus and subsequent pregnancy outcome. *The Indian Journal of Animal Reproduction*, *39*(1), 59–60.
- Kurykin, J., Jaakma, U., Jalakas, M., Aidnik, M., Waldmann, A., & Majas, L. (2007). Pregnancy percentage following deposition of sex-sorted sperm at different sites within the uterus in estrus-synchronized heifers. *Theriogenology*, *67*(4), 754–759. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.10.006>
- Kurykin, J., Waldmann, A., Tiirats, T., Kaart, T., & Jaakma, Ü. (2011). Morphological quality of oocytes and blood plasma metabolites in repeat breeding and early lactation dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, *46*(2), 253–260. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2010.01652.x>
- Kyaw, H. M., Sato, H., Tagami, T., Yanagawa, Y., Nagano, M., & Katagiri, S. (2022). Effects of milk osteopontin on the endometrial epidermal growth factor profile and restoration of fertility in repeat breeder dairy cows. *Theriogenology*, *184*, 26–33. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.02.008>
- Lafi, S. Q., & Kaneene, J. B. (1992). Epidemiological and economic study of the repeat breeder syndrome in Michigan dairy cattle. I. Epidemiological modeling. *Preventive Veterinary Medicine*, *14*(1–2), 87–98. [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(92\)90087-V](https://doi.org/10.1016/0167-5877(92)90087-V)
- Lamb, G. C., Dahlen, C. R., Larson, J. E., Marquezini, G., & Stevenson, J. S. (2010). Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle: a review. *Journal of Animal Science*, *88* (13), 181–192. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2349>
- Lambertz, C., Völker, D., Janowitz, U., & Gauly, M. (2014). Evaluation of vaginal discharge with the Metricheck device and the relationship to reproductive performance in postpartum dairy cows. *Animal Science Journal = Nihon chikusan Gakkaiho*, *85*(9), 848–852. <https://doi.org/10.1111/asj.12219>
- Lange-Consiglio, A., Cazzaniga, N., Garlappi, R., Spelta, C., Pollera, C., Perrini, C., & Cremonesi, F. (2015). Platelet concentrate in bovine reproduction: effects on in vitro

- embryo production and after intrauterine administration in repeat breeder cows. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 13, 65. <https://doi.org/10.1186/s12958-015-0064-6>
- Larkin, D. M., & Farré, M. (2015). Cytogenetics and chromosome maps. In *The genetics of cattle* (pp. 103-129). Wallingford UK: CABI. <https://doi.org/10.1079/9781780642215.0103>
- Lavon, Y., Ezra, E., Leitner, G., & Wolfenson, D. (2011a). Association of conception rate with pattern and level of somatic cell count elevation relative to time of insemination in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94(9), 4538-4545. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4293>
- Lavon, Y., Leitner, G., Klipper, E., Moallem, U., Meidan, R., & Wolfenson, D. (2011b). Subclinical, chronic intramammary infection lowers steroid concentrations and gene expression in bovine preovulatory follicles. *Domestic Animal Endocrinology*, 40(2), 98-109. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2010.09.004>
- Lavon, Y., Leitner, G., Voet, H., & Wolfenson, D. (2010). Naturally occurring mastitis effects on timing of ovulation, steroid and gonadotrophic hormone concentrations, and follicular and luteal growth in cows. *Journal of Dairy Science*, 93(3), 911-921. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2112>
- Lawange, S. R., Markandeya, N. M., Kumawat, B. L., Sawale, A. G., Anbhule, R. S., & Kadam, P. D. (2019). Efficacy of garlic extract±ashwagandha for the treatment of infectious repeat breeding in cattle. *The Indian Journal of Animal Reproduction*, 40(1), 31-34.
- Lazarević, M., Milanović, S., Kirovski, D., & Milovanović, A. (2003). Antisperm antibodies of the Ig A class in the cervical mucus and sera of artificially inseminated cows. *Acta Veterinaria*, 53(5-6), 311-320. <https://doi.org/10.2298/AVB0306311L>
- Lazarević, M., Suljkanović, A., Mickov, L., Šabanović, M., Paprikić, N., & Mlinar, S. (2013). The influence of antisperm Ig G and Ig A antibodies from cows sera and cervical mucus on bull sperm motility. *Acta Veterinaria*, 63(5-6), 499-511. <https://doi.org/10.2298/AVB1306499L>
- Lazzari, G., Colleoni, S., Duchi, R., Galli, A., Houghton, F. D., & Galli, C. (2011). Embryonic genotype and inbreeding affect preimplantation development in cattle. *Reproduction*, 141(5), 625-632. <https://doi.org/10.1530/REP-10-0282>
- Leblanc, S. (2010). Assessing the association of the level of milk production with reproductive performance in dairy cattle. *Journal of Reproduction and Development*, 56(S), S1-S7. <https://doi.org/10.1262/jrd.1056s01>
- LeBlanc, S. J. (2014). Reproductive tract inflammatory disease in postpartum dairy cows. *Animal*, 8(s1), 54-63. <https://doi.org/10.1017/S1751731114000524>

- LeBlanc, S. J. (2020). Relationships between metabolism and neutrophil function in dairy cows in the peripartum period. *Animal*, *14*(1), s44-s54. <https://doi.org/10.1017/S1751731119003227>
- LeBlanc, S. J. (2023) Relationship of peripartum inflammation with reproductive health in dairy cows. *JDS communications*, *4*(3), 230-234. <https://doi.org/10.3168/jdsc.2022-0328>
- LeBlanc, S. J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Bateman, K. G., Keefe, G. P., Walton, J. S., & Johnson, W. H. (2002). The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *85*(9), 2237-2249. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74303-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74303-8)
- LeBlanc, S. J., Herdt, T. H., Seymour, W. M., Duffield, T. F., & Leslie, K. E. (2004). Peripartum serum vitamin E, retinol, and beta-carotene in dairy cattle and their associations with disease. *Journal of Dairy Science*, *87*(3), 609–619. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73203-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73203-8)
- LeBlanc, S. J., Osawa, T., Dubuc, J. (2011). Reproductive tract defense and disease in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, *76*(9), 1610–1618. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.07.017>
- Lee C. N. (1993). Environmental stress effects on bovine reproduction. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, *9*(2), 263–273. [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(15\)30645-9](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(15)30645-9)
- Lee, S. C., Jeong, J. K., Choi, I. S., Kang, H. G., Jung, Y. H., Park, S. B., & Kim, I. H. (2018). Cytological endometritis in dairy cows: diagnostic threshold, risk factors, and impact on reproductive performance. *Journal of Veterinary Science*, *19*(2), 301-308. <https://doi.org/10.4142/jvs.2018.19.2.301>
- Lehimcioğlu, N. C., Öztürkler, Y., Yildiz, S., & Ari, U. Ç. (2019). The Effect of intrauterine infusion of carvacrol after insemination on conception rate in repeat breeder cows subjected to progesteron based estrus synchronization protocol. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *25*(5), 633-638. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.21505>
- Leroy, J. L. M. R., Van Soom, A., Opsomer, G., & Bols, P. E. J. (2008). The consequences of metabolic changes in high-yielding dairy cows on oocyte and embryo quality. *Animal*, *2*(8), 1120-1127. <https://doi.org/10.1017/S1751731108002383>
- Levine, H. D. (1999). The repeat breeder cow. *The Bovine Practitioner*, *33*(2), 97-105. <https://doi.org/10.21423/bovine-vol33no2p97-105>
- Lewis, G. S. (2004). Steroidal regulation of uterine immune defenses. *Animal Reproduction Science*, *82*, 281-294. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.026>
- Lewis, G. S. (1997). Uterine health and disorders. *Journal of Dairy Science*, *80*(5), 984-994. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76024-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76024-7)

- Lim, H.J., & Yoon, H.B. (2018) Investigation of Relation between the Ovulation Confirmation and Conception Rate in Dairy Cattle. *Journal of Embryo Transfer* 33(2), 55-59. <https://doi.org/10.12750/JET.2018.33.2.55>
- Lietaer, L., Demeyere, K., Heirbaut, S., Meyer, E., Opsomer, G., & Bogado Pascottini, O. (2021). Flow cytometric assessment of the viability and functionality of uterine polymorphonuclear leukocytes in postpartum dairy cows. *Animals*, 11(4), 1081. <https://doi.org/10.3390/ani11041081>
- Lietaer, L., Pascottini, O. B., Heirbaut, S., Demeyere, K., Vandaele, L., Meyer, E., Fievez, V., Leroy, J.L.M.R., & Opsomer, G. (2023). Viability and function dynamics of circulating versus endometrial polymorphonuclear leukocytes in postpartum dairy cows with subclinical or clinical endometritis. *Journal of Dairy Science*, 106(5), 3436-3447. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22471>
- Lima, F. S., Bisinotto, R. S., Ribeiro, E. S., Greco, L. F., Ayres, H., Favoreto, M. G., Carvalh M.R., Galvão, K.N., & Santos, J. E. P. (2013). Effects of 1 or 2 treatments with prostaglandin F2 $\alpha$  on subclinical endometritis and fertility in lactating dairy cows inseminated by timed artificial insemination. *Journal of Dairy Science*, 96(10), 6480-6488. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6850>
- Liu, K. H., Baumbach, G. A., Gillevet, P. M., & Godkin, J. D. (1990). Purification and characterization of bovine placental retinol-binding protein. *Endocrinology*, 127(6), 2696–2704. <https://doi.org/10.1210/endo-127-6-2696>
- Liu, K. H., Dore Jr, J. J., Roberts, M. P., Krishnan, R., Hopkins, F. M., & Godkin, J. D. (1993). Expression and cellular localization of retinol-binding protein messenger ribonucleic acid in bovine blastocysts and extraembryonic membranes. *Biology of Reproduction*, 49(2), 393-400. <https://doi.org/10.1095/biolreprod49.2.393>
- Liu, I. K. M., & Troedsson, M. H. T. (2008). The diagnosis and treatment of endometritis in the mare: Yesterday and today. *Theriogenology*, 70(3), 415-420. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.040>
- Loeffler, S. H., de Vries, M. J., & Schukken, Y. H. (1999). The effects of time of disease occurrence, milk yield, and body condition on fertility of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82(12), 2589–2604. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75514-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75514-1)
- Lomander, H., Svensson, C., Hallén-Sandgren, C., Gustafsson, H., & Frössling, J. (2013). Associations between decreased fertility and management factors, claw health, and somatic cell count in Swedish dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96(10), 6315-6323. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6475>
- Lonergan, P. (2011). Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. *Theriogenology*, 76(9), 1594–1601. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.06.012>
- Lonergan, P., Kommisrud, E., Andresen, O., Refsdal, A. O., & Farstad, W. (1994). Use of semen from a bull heterozygous for the 129 translocation in an IVF program. *Theriogenology*, 41(7), 1379-1384. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(94\)90189-p](https://doi.org/10.1016/0093-691x(94)90189-p)

- Lonergan, P., & Sánchez, J. M. (2020). Symposium review: Progesterone effects on early embryo development in cattle. *Journal of Dairy Science*, *103*(9), 8698-8707. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18583>
- Lonergan, P., Woods, A., Fair, T., Carter, F., , D., Ward, F., Quin K., & Evans, A. (2007). Effect of embryo source and recipient progesterone environment on embryo development in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, *19*(7), 861-868. <https://doi.org/10.1071/rd07089>
- López-Gatius, F. (2000). Site of semen deposition in cattle: a review. *Theriogenology*, *53*(7), 1407–1414. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00283-1](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00283-1)
- López-Gatius, F. (2012). Factors of a noninfectious nature affecting fertility after artificial insemination in lactating dairy cows. A review. *Theriogenology*, *77*(6), 1029–1041. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.10.014>
- López-Gatius, F., & Garcia-Ispuerto, I. (2020). Treatment with an elevated dose of the GnRH analogue deperheline in the early luteal phase improves pregnancy rates in repeat-breeder dairy cows. *Theriogenology*, *155*, 12–16. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.06.011>
- López-Gatius, F., & Garcia-Ispuerto, I. (2022). Clinical Overview of Luteal Deficiency in Dairy Cattle. *Animals*, *12*(15), 1871. <https://doi.org/10.3390/ani12151871>
- López-Gatius, F., García-Ispuerto, I., Santolaria, P., Yániz, J., Nogareda, C., & López-Béjar, M. (2006). Screening for high fertility in high-producing dairy cows. *Theriogenology*, *65*(8), 1678–1689. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.09.027>
- López-Gatius, F., López-Béjar, M., Fenech, M., & Hunter, R. H. (2005). Ovulation failure and double ovulation in dairy cattle: risk factors and effects. *Theriogenology*, *63*(5), 1298–1307. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.06.010>
- Lucy, M. C., Beck, J., Staples, C. R., Head, H. H., De La Sota, R. L., & Thatcher, W. W. (1992). Follicular dynamics, plasma metabolites, hormones and insulin-like growth factor I (IGF-I) in lactating cows with positive or negative energy balance during the preovulatory period. *Reproduction Nutrition Development*, *32*(4), 331-341. <https://doi.org/10.1051/rnd:19920403>
- Lüttgenau, J., & Bollwein, H. (2014). Evaluation of bovine luteal blood flow by using color Doppler ultrasonography. *Reproductive Biology*, *14*(2), 103-109. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2014.03.003>
- MacKenzie, S. H., Roberts, M. P., Liu, K. H., Doré, J. J., & Godkin, J. D. (1997). Bovine endometrial retinol-binding protein secretion, messenger ribonucleic acid expression, and cellular localization during the estrous cycle and early pregnancy. *Biology of Reproduction*, *57*(6), 1445-1450. <https://doi.org/10.1095/biolreprod57.6.1445>
- Madeja, Z. E., Warzych, E., Peippo, J., Lechniak, D., & Switonski, M. (2009). Gene expression and protein distribution of leptin and its receptor in bovine oocytes and

- preattachment embryos produced in vitro. *Animal*, 3(4), 568-578.  
<https://doi.org/10.1017/S1751731108003741>
- 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>
- Magata, F. (2020). Lipopolysaccharide-induced mechanisms of ovarian dysfunction in cows with uterine inflammatory diseases. *Journal of Reproduction and Development*, 66(4), 311-317. <https://doi.org/10.1262/jrd.2020-021>
- Magata, F., Horiuchi, M., Miyamoto, A., & Shimizu, T. (2014). Lipopolysaccharide (LPS) inhibits steroid production in theca cells of bovine follicles in vitro: distinct effect of LPS on theca cell function in pre-and post-selection follicles. *Journal of Reproduction and Development*, 60(4), 280-287. <https://doi.org/10.1262/jrd.2013-124>
- Magata, F., & Shimizu, T. (2017). Effect of lipopolysaccharide on developmental competence of oocytes. *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)*, 71, 1-7.  
<https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.04.001>
- Mali, S. S., Rangnekar, M. N., Amle, M. B., Khillare, K. P., Mali, A. B., & Mhase, P. P. (2020). Efficacy of intrauterine ozone therapy in repeat breeder cows with subclinical uterine infection. *The Haryana Veterinarian*, 59(SI), 83-86.
- Malik, M., Verma, H., Sharma, R. (2019). Prevalence, risk factors and constraints in control of repeat breeding in dairy animals of Punjab. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 89(8), 837-842. <https://doi.org/10.56093/ijans.v89i8.93011>
- Malik, A. A., Yousuf, N., Sofi, K. A., Naikoo, M., & KHatun, A. (2024). Efficacy of Different Therapeutic Regimens in Subclinical Endometritis in Cross Bred Dairy Cows. *The Indian Journal of Animal Reproduction*, 45(1), 39-43.  
<https://doi.org/10.48165/ijar.2024.45.01.9>.
- Mandefro, M., & Negash, G. (2014). Repeat breeder syndrome in dairy cows: influence of breed and age on its prevalence. *World Journal of Agricultural Sciences*, 10(4), 200-203. <https://doi.org/10.5829/idosi.wjas.2014.10.4.8651>
- Mandhwani, R., Bhardwaz, A., Kumar, S., Shivhare, M., Aich, R. (2017). Insights into bovine endometritis with special reference to phytotherapy, *Veterinary World*, 10(12), 1529-1532. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1529-1532>
- Mann, G. E., & Lamming, G. E. (1995). Progesterone inhibition of the development of the luteolytic signal in cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, 104(1), 1-5.  
<https://doi.org/10.1530/jrf.0.1040001>
- Mann, G. E., & Lamming, G. E. (2001). Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction (Cambridge, England)*, 121(1), 175-180.  
<https://doi.org/10.1530/rep.0.1210175>

- Mann, G. E., Lamming, G. E., & Payne, J. H. (1998). Role of early luteal phase progesterone in control of the timing of the luteolytic signal in cows. *Reproduction*, *113*(1), 47-51. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1130047>
- Mann, G. E., Mann, S. J., Blache, D., & Webb, R. (2005). Metabolic variables and plasma leptin concentrations in dairy cows exhibiting reproductive cycle abnormalities identified through milk progesterone monitoring during the post partum period. *Animal Reproduction Science*, *88*(3-4), 191-202. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.01.004>
- Manokaran, S., Ezakial Napolean, R., Selvaraju, M., Doraisamy, K. A., Balasubramaniam, G. A., & Geetha, T. (2019). Effect of vitamin A supplementation with ovsynch protocol on fertility in repeat breeder cows during different seasons. *International Journal of Advanced Biological Research*, *9*(2), 106-113.
- Manokaran, S., Napolean, R. E., Selvaraju, M., Doraisamy, K. A., & Balasubramaniam, G. A. (2016). Effect of Ovsynch protocol on conception rate in repeat breeder cows during high and low breeding seasons. *Indian Veterinary Journal*, *93*, 22-24.
- Marini, M. G., Perrini, C., Esposti, P., Corradetti, B., Bizzaro, D., Riccaboni, P., Fantinato, E., Urbani, G., Gelati, G., Cremonesi, F., & Lange-Consiglio, A. (2016). Effects of platelet-rich plasma in a model of bovine endometrial inflammation in vitro. *Reproductive Biology and Endocrinology : RB&E*, *14*(1), 58. <https://doi.org/10.1186/s12958-016-0195-4>
- Marnett, L. J., Rowlinson, S. W., Goodwin, D. C., Kalgutkar, A. S., & Lanzo, C. A. (1999). Arachidonic acid oxygenation by COX-1 and COX-2. Mechanisms of catalysis and inhibition. *The Journal of Biological Chemistry*, *274*(33), 22903–22906. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.33.22903>
- Martinez, N., Risco, C. A., Lima, F. S., Bisinotto, R. S., Greco, L. F., Ribeiro, E. S., Maunsell, F., Galvão, K., & Santos, J. E. (2012). Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *Journal of Dairy Science*, *95*(12), 7158–7172. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5812>
- Mastorakos, G., & Ilias, I. (2003). Maternal and fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axes during pregnancy and postpartum. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *997*, 136–149. <https://doi.org/10.1196/annals.1290.016>
- Mateus, L., Lopes da Costa, L., Bernardo, F., & Robalo Silva, J. (2002). Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, *37*(1), 31-35. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0531.2002.00317.x>
- Mattmiller, S. A., Carlson, B. A., & Sordillo, L. M. (2013). Regulation of inflammation by selenium and selenoproteins: impact on eicosanoid biosynthesis. *Journal of Nutritional Science*, *2*, e28. <https://doi.org/10.1017/jns.2013.17>

- Mattos, R., Castilho, L. F. F., Malschitzky, E., Naves, A. P., Keller, A., Gregory, R. M., & Mattos, R. C. (1997). Uterine lavage with saline in mares as treatment for endometritis. *Pferdeheilkunde*, *13*, 521-524.  
<http://dx.doi.org/10.21836/PEM19970516>
- Matubber, B., Paul, A., Das, S. (2018). Evaluation of different parameters in relation to repeat breeding of cows at the Coastal areas of Bangladesh. *Research in Agriculture Livestock and Fisheries* *5*(1), 49-55. <https://doi.org/10.3329/ralf.v5i1.36552>
- Maurer, R. R., & Echtenkamp, S. E. (1985). Repeat-breeder females in beef cattle: Influences and causes. *Journal of Animal Science*, *61*(3), 624-636.  
<https://doi.org/10.2527/jas1985.613624x>
- Mazeris, F. (2010). DeLaval Herd Navigator: proactive herd management. *Proceedings of First North American Conference on Precision Dairy Management* (pp. 26-27).
- McClure, M. C., Bickhart, D., Null, D., VanRaden, P., Xu, L., Wiggans, G., Liu G., Schroeder, S., Glasscock, J., Armstrong, J., Cole, J.B., Van Tassel, C.P., & Sonstegard, T. S. (2014). Bovine exome sequence analysis and targeted SNP genotyping of recessive fertility defects BH1, HH2, and HH3 reveal a putative causative mutation in SMC2 for HH3. *PloS one*, *9*(3), e92769.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092769>
- McCracken, J. A., Custer, E. E., & Lamsa, J. C. (1999). Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. *Physiological Reviews*, *79*(2), 263-323.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.1999.79.2.263>
- McDougall, S., Hussein, H., Aberdein, D., Buckle, K., Roche, J., Burke, C., Mitchell, M., & Meier, S. (2011). Relationships between cytology, bacteriology and vaginal discharge scores and reproductive performance in dairy cattle. *Theriogenology*, *76*(2), 229-240.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.12.024>
- McDougall, S., Macaulay, R., & Compton, C. (2007). Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, *99*(1-2), 9-23.  
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.03.017>
- McNeill, R. E., Diskin, M. G., Sreenan, J. M., & Morris, D. G. (2006). Associations between milk progesterone concentration on different days and with embryo survival during the early luteal phase in dairy cows. *Theriogenology*, *65*(7), 1435-1441.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.08.015>
- Meier, S., Priest, N. V., Burke, C. R., Kay, J. K., McDougall, S., Mitchell, M. D., Walker, C. G., Heiser, A., Loo, J. J., & Roche, J. R. (2014). Treatment with a nonsteroidal antiinflammatory drug after calving did not improve milk production, health, or reproduction parameters in pasture-grazed dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *97*(5), 2932–2943. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7838>
- Meira, E. B., Jr, Henriques, L. C., Sá, L. R., & Gregory, L. (2012). Comparison of ultrasonography and histopathology for the diagnosis of endometritis in Holstein-

- Friesian cows. *Journal of Dairy Science*, 95(12), 6969–6973.  
<https://doi.org/10.3168/jds.2011-4950>
- Meirelles, C., Kozicki, L.E., Weiss, R.R., Segui, M.S., Souza, A.A., Santos, I.W., & Breda, J.C. (2012). Comparison between deep intracornual artificial insemination (dIAI) and conventional artificial insemination (AI) using low concentration of spermatozoa in beef cattle. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55, 371-374.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132012000300006>
- Mekibib, B., Desta, T., & Tesfaye, D. (2013). Gross pathological changes in the reproductive tracts of cows slaughtered at two abattoirs in Southern Ethiopia. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 5(2), 46-50. <https://doi.org/10.5897/JVMAH12.060>
- Melendez, P., Bartolome, J., Archbald, L. F., & Donovan, A. (2003). The association between lameness, ovarian cysts and fertility in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 59(3-4), 927-937. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)01152-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01152-4)
- Melendez, P., Donovan, G. A., Risco, C. A., & Goff, J. P. (2004). Plasma mineral and energy metabolite concentrations in dairy cows fed an anionic prepartum diet that did or did not have retained fetal membranes after parturition. *American Journal of Veterinary Research*, 65(8), 1071–1076. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2004.65.1071>
- Mellado, M., García, J. E., Véliz Deras, F. G., de Santiago, M. D. L. Á., Mellado, J., Gaytán, L. R., & Ángel-García, O. (2018). The effects of periparturient events, mastitis, lameness and ketosis on reproductive performance of Holstein cows in a hot environment. *Austral Journal of Veterinary Sciences*, 50(1), 1-8.  
<https://doi.org/10.4067/S0719-81322018000100102>
- Mellado, M., Zuñiga, A., Veliz, F. G., De Santiago, A., Garcia, J. E., & Mellado, J. (2012). Factors influencing pregnancy per artificial insemination in repeat-breeder cows induced to ovulate with a CIDR-based protocol. *Animal Reproduction Science*, 134(3-4), 105-111. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.08.001>
- Michal, J. J., Heirman, L. R., Wong, T. S., Chew, B. P., Frigg, M., & Volker, L. (1994). Modulatory effects of dietary  $\beta$ -carotene on blood and mammary leukocyte function in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 77(5), 1408-1421.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77079-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77079-X)
- Mihm, M., Curran, N., Hyttel, P., Knight, P. G., Boland, M. P., & Roche, J. F. (1999). Effect of dominant follicle persistence on follicular fluid oestradiol and inhibin and on oocyte maturation in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*, 116(2), 293–304.  
<https://doi.org/10.1530/jrf.0.1160293>
- Milovanović, A., Lazarević, M., Milanović, S., Kirovski, D., & Jovicin, M. (2005) Open days period and antispermatozoal antibodies in artificially inseminated cows. *Acta Vet Beograd* 55(5-6), 449-460. <https://doi.org/10.2298/AVB0506449M>
- Miller, J. K., Brzezinska-Slebodzinska, E., & Madsen, F. C. (1993). Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *Journal of Dairy Science*, 76(9), 2812-2823.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77620-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77620-1)

- Millward, S., Mueller, K., Smith, R., & Higgins, H. M. (2019). A post-mortem survey of bovine female reproductive tracts in the UK. *Frontiers in Veterinary Science*, 6, 451. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00451>
- Mimoune, N., Messai, C. R., Khelef, D., Salhi, O., Azzouz, M. Y., & Kaidi, R. (2017). Reproductive parameters and metabolic profile of repeat breeder cows. *Livestock Research for Rural Development*, 29(8), 146.
- Mohammed, M., Muhamad, F., & Muhammed, M., (2015): Retrospective study of uterine tubes pathological abnormalities in slaughtered non-pregnant cows in Sulaimani province. *Assiut Veterinary Medical Journal*, 61(147), 164-170.
- Molina-Coto, R. E., & Lucy, M. C. (2018). Uterine inflammation affects the reproductive performance of dairy cows: A review. *Agronomía Mesoamericana*, 29(2), 449-468. <http://dx.doi.org/10.15517/ma.v29i2.29852>
- Mondal, M. K., & Paul, S. K. (2012). Haemato-biochemical profile in repeat breeding cross-bred cows. *Exploratory Animal and Medical Research*, 2(1), 60-65.
- Morris, M. J., Kaneko, K., Walker, S. L., Jones, D. N., Routly, J. E., Smith, R. F., & Dobson, H. (2011). Influence of lameness on follicular growth, ovulation, reproductive hormone concentrations and estrus behavior in dairy cows. *Theriogenology*, 76(4), 658-668. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.03.019>
- Moscuzza, C., Alvarez, G., Gutierrez, B., Zurita, M., Tropeano, M., & Perna, R. (2015). Endometrial cytology as a diagnostic tool for subclinical endometritis in beef heifers. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 39(1), 24-41. <https://doi.org/10.3906/vet-1311-65>
- Moss, N., Lean, I. J., Reid, S. W., & Hodgson, D. R. (2002). Risk factors for repeat-breeder syndrome in New South Wales dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine*, 54(2), 91-103. [https://doi.org/10.1016/s0167-5877\(02\)00016-8](https://doi.org/10.1016/s0167-5877(02)00016-8)
- Mossa, F., Jimenez-Krassel, F., Folger, J. K., Ireland, J. L., Smith, G. W., Lonergan, P., Evans, A. C., & Ireland, J. J. (2010). Evidence that high variation in antral follicle count during follicular waves is linked to alterations in ovarian androgen production in cattle. *Reproduction (Cambridge, England)*, 140(5), 713-720. <https://doi.org/10.1530/REP-10-0214>
- Mossa, F., Walsh, S. W., Butler, S. T., Berry, D. P., Carter, F., Lonergan, P., Smith, G. W., Ireland, J. J., & Evans, A. C. (2012). Low numbers of ovarian follicles  $\geq 3$  mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95(5), 2355-2361. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4325>
- Mulligan, F. J., & Doherty, M. L. (2008). Production diseases of the transition cow. *Veterinary Journal (London, England : 1997)*, 176(1), 3-9. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.018>

- Murugavel, K., Hemalatha, H., Kantharaj, S., & Antoine, D. (2020). Enhancement of conception rate by GNRH with tai in repeat breeder cows under field conditions. *The Indian Journal of Animal Reproduction*, 41(1), 21-22.
- Nabenishi, H., Ohta, H., Nishimoto, T., Morita, T., Ashizawa, K., & Tsuzuki, Y. (2012). The effects of cysteine addition during in vitro maturation on the developmental competence, ROS, GSH and apoptosis level of bovine oocytes exposed to heat stress. *Zygote*, 20(3), 249-259. <https://doi.org/10.1017/S0967199411000220>
- Naranjo-Gómez, J. S., Uribe-García, H. F., Herrera-Sánchez, M. P., Lozano-Villegas, K. J., Rodríguez-Hernández, R., & Rondón-Barragán, I. S. (2021). Heat stress on cattle embryo: gene regulation and adaptation. *Heliyon*, 7(3), e06570. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06570>
- Nath, B. K., Das, B. C., Bari, M. S., & Rahman, M. A. (2014). Prevalence and risk factors of repeat breeding in commercial dairy farms of Chittagong district of Bangladesh. *International Journal of Natural Sciences* 4(1): 21-27. <https://doi.org/10.3329/ijns.v4i1.28592>
- Ninpetch, N., Badrakh, D., Kyaw, H. M., Kawano, K., Yanagawa, Y., Nagano, M., & Katagiri, S. (2022). Leptin receptor expression and its change in association with the normalization of EGF profile after seminal plasma treatment in repeat breeder dairy cows. *Journal of Reproduction and Development*, 68(3), 209-215. <https://doi.org/10.1262/jrd.2021-142>
- Nishi, S., Sarder, J., Islam, H., Kamruzzaman, S., Islam, A., Khaton, R. (2018). Factors affecting the incidence of repeat breeding in dairy cows in Rajshahi district, Bangladesh. *International Journal of Livestock Research*, 8(10), 90–96. <https://doi.org/10.5455/ijlr.20171218102335>
- Niyas, E., Kurien, M.O., Jayakumar, C., Abhilash, R.S., Anil, K.S., & Reshma, S. (2019) Sonographic assessment of follicular and luteal characteristics in repeat breeding cattle with prolonged oestrus. *Pharma Innovation* 8: 486-491.
- Nowicki, A. (2021). Embryo transfer as an option to improve fertility in repeat breeder dairy cows. *Journal of Veterinary Research*, 65(2), 231-237. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2021-0018>
- O'Leary, S., Jasper, M. J., Warnes, G. M., Armstrong, D. T., & Robertson, S. A. (2004). Seminal plasma regulates endometrial cytokine expression, leukocyte recruitment and embryo development in the pig. *Reproduction (Cambridge, England)*, 128(2), 237–247. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00160>
- Olechnowicz, J., & Jaskowski, J. M. (2011). Behaviour of lame cows: A review. *Veterinarni Medicina*, 56(12), 581-588. <https://doi.org/10.17221/4435-VETMED>
- Opsomer, G., Gröhn, Y. T., Hertl, J., Coryn, M., Deluyker, H., & de Kruif, A. (2000). Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology*, 53(4), 841–857. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00234-X](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00234-X)

- Ortiz, W. G., Rizo, J. A., Carvalheira, L. R., Ahmed, B. M. S., Estrada-Cortes, E., Harstine, B. R., Bromfield, J.J., & Hansen, P. J. (2019). Effects of intrauterine infusion of seminal plasma at artificial insemination on fertility of lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, *102*(7), 6587-6594. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16251>
- Owhor, L. E., Reese, S., & Kölle, S. (2019). Salpingitis impairs bovine tubal function and sperm-oviduct interaction. *Scientific Reports*, *9*(1), 10893. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47431-x>
- Paiano, R. B., Moreno, L. Z., Gomes, V. T. D. M., Parra, B. M., Barbosa, M. R., Sato, M. I. Z. Bonilla, J., Pugliese, G., Baruselli, P.S., & Moreno, A. M. (2022). Assessment of the main pathogens associated with clinical and subclinical endometritis in cows by culture and MALDI-TOF mass spectrometry identification. *Journal of Dairy Science*, *105*(4), 3367-3376. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20642>
- Paksoy, Z., & Daş, H. (2013). Nonsteroid anti-inflammatory drugs to improve fertility in cows. *Success in Artificial Insemination: Quality of Semen and Diagnostics Employed*, *73*, 141. <https://doi.org/10.5772/51910>
- Pandey, N. K., Gupta, H. P., Prasad, S., & Sheetal, S. K. (2016). Plasma progesterone profile and conception rate following exogenous supplementation of gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone releasing intra-vaginal device in repeat-breeder crossbred cows. *Veterinary World*, *9*(6), 559-562. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.559-562>
- Pandey, V., Singh, A. K., & Sharma, N. (2009). Blood biochemical profile in fertile and repeat breeding crossbred cows under field conditions. *Veterinary Practitioner*, *10*(1), 45-48.
- Paria, B. C., Song, H., & Dey, S. K. (2001). Implantation: molecular basis of embryo-uterine dialogue. *International Journal of Developmental Biology*, *45*(3), 597-606.
- Parikh, S. S., Kavani, F. S., Pamar, K. H., Patbandha, T. K., Singh, V. K., Ahlawat, A. R., & Rajesh Kumar (2022) Diagnostic and Therapeutic Management of Subclinical Endometritis in Dairy Bovine: A Review. *Animal Reproduction Update*, *2*(2), 1-11. <https://doi.org/10.48165/aru.2022.2.2.1>
- Parikh, S. S., Savaliya, B. D., Makwana, R. B., Patbandha, T. K., & Gajbhiye, P. U. (2017). Therapeutic efficacy of various intrauterine drugs on repeat breeder Gir cows. *International Journal of Science and Environmental Technology*, *6*(3), 2107-2111.
- Parmar, S. C. (2015) Anovulation, delayed ovulation and luteal insufficiency. *Trends in Biosciences* *8*, 1203–1206.
- Parmar, S. V., Patel, J. A., & Dhama, A. J. (2013). Effect of hormone therapy on fertility and plasma minerals profile in repeat breeding Gir cows. *Indian Journal of Veterinary Sciences and Biotechnology*, *8*(4), 18-25.

- Pascottini, O. B. (2016). Subclinical endometritis in dairy cattle: a practical approach. [Tesis Doctoral, Universidad de Gante] <http://hdl.handle.net/1854/LU-8501765>
- Pascottini, O. B., Dini, P., Hostens, M., Ducatelle, R., & Opsomer, G. (2015). A novel cytologic sampling technique to diagnose subclinical endometritis and comparison of staining methods for endometrial cytology samples in dairy cows. *Theriogenology*, 84(8), 1438-1446. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.07.032>
- Pascottini, O. B., Hostens, M., Sys, P., Vercauteren, P., & Opsomer, G. (2017). Risk factors associated with cytological endometritis diagnosed at artificial insemination in dairy cows. *Theriogenology*, 92, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.01.004>
- Pascottini, O. B., LeBlanc, S. J., Gnemi, G., Leroy, J. L., & Opsomer, G. (2023). Genesis of clinical and subclinical endometritis in dairy cows. *Reproduction*, 166(2), R15-R24. <https://doi.org/10.1530/REP-22-0452>
- Pascottini, O. B., Van Schyndel, S. J., Spricigo, J. F. W., Carvalho, M. R., Mion, B., Ribeiro, E. S., & LeBlanc, S. J. (2020a). Effect of anti-inflammatory treatment on systemic inflammation, immune function, and endometrial health in postpartum dairy cows. *Scientific Reports*, 10(1), 5236. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62103-x>
- Pascottini, O. B., Van Schyndel, S. J., Spricigo, J. W., Rousseau, J., Weese, J. S., & LeBlanc, S. J. (2020b). Dynamics of uterine microbiota in postpartum dairy cows with clinical or subclinical endometritis. *Scientific Reports*, 10(1), 12353. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69317-z>
- Patel, J. A., Dhama, A. J., Kavani, F. S., & Sarvaiya, N. P. (2005). Effect of hormonal therapies at breeding on plasma progesterone profile and fertility in repeat breeding Holstein Friesian cows. *International Journal of Cow Science*, 1(1), 52-59.
- Penev, T., Dimov, D., Vasilev, N., Mitev, J., Miteva, T., Marinov, I., & Stojnov, M. (2021). Influence of heat stress on reproductive performance in dairy cows and opportunities to reduce its effects-a review. *Agricultural Science & Technology*, 13(1), 3-11. <https://doi.org/10.15547/ast.2021.01.001>
- Perez, B. C., Balieiro, J. C. D. C., Ventura, R. V., Bruneli, F. A. T., & Peixoto, M. G. C. D. (2017). Inbreeding effects on in vitro embryo production traits in Guzerá cattle. *Animal*, 11(11), 1983-1990. <https://doi.org/10.1017/S1751731117000854>
- Pérez-Marín, C. C., & España, F. (2007). Oestrus expression and ovarian function in repeat breeder cows, monitored by ultrasonography and progesterone assay. *Reproduction in Domestic Animals*, 42(5), 449-456. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00805.x>
- Perez-Marin, C. C., Moreno, L. M., & Calero, G. V. (2012). Clinical approach to the repeat breeder cow syndrome. *A bird's-eye view of veterinary medicine*, InTech, London, UK, 337-362. <https://doi.org/10.5772/31374>
- Pérez-Marín, C. C., & Quintela, L. A. (2023). Current Insights in the Repeat Breeder Cow Syndrome. *Animals: an open access journal from MDPI*, 13(13), 2187. <https://doi.org/10.3390/ani13132187>

- Perumal, P., Chauraisa, D., De, A. K., Bhattacharya, D., Bhowmick, S., Kundu, A., & Mishra, P. C. (2021). Hematological parameters, endocrinological profiles, antioxidant and oxidative stress profiles of repeat breeding crossbred cows in Andaman and Nicobar Islands. *The Indian Journal of Animal Sciences*, *91*(8), 670–674. <https://doi.org/10.56093/ijans.v91i8.115928>
- Peter, S., Gärtner, M. A., Michel, G., Ibrahim, M., Klopffleisch, R., Lübke-Becker, A., Jung M., Einspanier, R., & Gabler, C. (2018). Influence of intrauterine administration of *Lactobacillus buchneri* on reproductive performance and pro-inflammatory endometrial mRNA expression of cows with subclinical endometritis. *Scientific Reports*, *8*(1), 5473. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22856-y>
- Pinedo, P. J., De Vries, A., & Webb, D. W. (2010). Dynamics of culling risk with disposal codes reported by Dairy Herd Improvement dairy herds. *Journal of Dairy Science*, *93*(5), 2250-2261. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2572>
- Pirokad, W., Yadmak, C., Yama, P., Jitjumnong, J., U-Krit, W., Chaikol, W., Sangkate, M., Promsao, N., Montha, N., Sudwan, P., Mektrirat, R., Panatuk, J., Intawicha, P., Lumsangkul, C., Tang, P. C., & Moonmanee, T. (2022). Increased luteal tissues after secondary corpus luteum formation leads to enhanced progesterone concentrations and improved fertility in repeat-breeder dairy cows during heat stress condition in tropical climate. *Tropical Animal Health and Production*, *54*(5), 308. <https://doi.org/10.1007/s11250-022-03295-4>
- Place, S. E., & Mitloehner, F. M. (2010). Invited review: Contemporary environmental issues: A review of the dairy industry's role in climate change and air quality and the potential of mitigation through improved production efficiency. *Journal of Dairy Science*, *93*(8), 3407-3416. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2719>
- Pleticha, S., Drillich, M., & Heuwieser, W. (2009). Evaluation of the Metricheck device and the gloved hand for the diagnosis of clinical endometritis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *92*(11), 5429-5435. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2117>
- 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>
- Pluta, K., McGettigan, P. A., Reid, C. J., Browne, J. A., Irwin, J. A., Tharmalingam, T., Corfiel A., & Carrington, S. D. (2012). Molecular aspects of mucin biosynthesis and mucus formation in the bovine cervix during the peri-estrous period. *Physiological Genomics*, *44*(24), 1165-1178. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00088.2012>
- Polat, B., Cengiz, M., Cannazik, O., Colak, A., Oruc, E., Altun, S., Salar, S., & Bastan, A. (2015). Endometrial echotexture variables in postpartum cows with subclinical endometritis. *Animal Reproduction Science*, *155*, 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.01.015>

- Polat, B., Cengiz, M., Çolak, A., & Cannazik, O. (2016). Comparison of intrauterine ozone and rifaximine treatment in cows with subclinical endometritis. *Journal of Veterinary Science & Medical Diagnosis Kafkas* 5(5). <http://dx.doi.org/10.4172/2325-9590.C1.009>
- Pothmann, H., Prunner, I., Wagener, K., Jaureguiberry, M., de la Sota, R. L., Erber, R., Aurich, C., Ehling-Schulz, M., & Drillich, M. (2015). The prevalence of subclinical endometritis and intrauterine infections in repeat breeder cows. *Theriogenology*, 83(8), 1249-1253. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.01.013>
- Pryce, J. E., Coffey, M. P., & Simm, G. (2001). The relationship between body condition score and reproductive performance. *Journal of Dairy Science*, 84(6), 1508–1515. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70184-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70184-1)
- Priest, N. (2013). Effect of a non-steroidal anti-inflammatory drug on subclinical endometritis in dairy cows and the identification of at-risk cows [MSc Thesis, Universidad de Lincoln, Nueva Zelanda].
- Priest, N. V., McDougall, S., Burke, C. R., Roche, J. R., Mitchell, M., McLeod, K. L., Greenwood, S.L., & Meier, S. (2013). The responsiveness of subclinical endometritis to a nonsteroidal antiinflammatory drug in pasture-grazed dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96(7), 4323-4332. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6266>
- Prunner, I., Pothmann, H., Wagener, K., Giuliadori, M., Huber, J., Ehling-Schulz, M., & Drillich, M. (2014). Dynamics of bacteriologic and cytologic changes in the uterus of postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 82(9), 1316-1322. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.08.018>
- Purohit, G. N. (2014). Ovarian and oviductal pathologies in the buffalo: Occurrence, diagnostic and therapeutic approaches. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 3(2), 156-168. [https://doi.org/10.1016/S2305-0500\(14\)60020-8](https://doi.org/10.1016/S2305-0500(14)60020-8)
- Pursley, J. R., Mee, M. O., & Wiltbank, M. C. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. *Theriogenology*, 44(7), 915–923. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(95\)00279-h](https://doi.org/10.1016/0093-691x(95)00279-h)
- Quintela, L. A., Díaz, C., Becerra, J. J., Alonso, G., Gracia, S., & Herradón, P. G. (2008). Papel del  $\beta$ -caroteno y la vitamina A en la reproducción en el ganado vacuno: revisión. *ITEA, Información Técnica Económica Agraria*, 104(3), 399-410.
- Quintela, L.A., Vigo, M., Becerra, J.J., Barrio, M., Herradón, P.G., & Peña, A.I. (2018) Subclinical Endometritis in Dairy Cattle. In: Payan-Carreira R, editor. *New Insights into Theriogenology*, London: IntechOpen, p. 79–97.
- Quintela, L. A., Vigo, M., Becerra, J. J., Barrio, M., Peña, A. I., & Herradón, P. G. (2017). Endometritis subclínica en ganado vacuno lechero: etiopatogenia y diagnóstico. Revisión Bibliográfica. *ITEA, Información Técnica Económica Agraria: revista de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA)*, 113(3), 250-266. <http://doi.org/10.12706/itea.2017.016>

- Raab, D., Drillich, M., & Heuwieser, W. (2003) Diagnosis of subclinical endometritis and its effect on reproductive performance. In *American Association of Bovine Practitioners Conference Proceedings*, 36, 166-167.
- Rahman, M. A., Sadat, A. U., Uddin, F., Alam, M., & Habib, A. (2020). Implication of some biochemical parameters on normal cyclic and repeat breeding process in Bangladeshi dairy cows. *Asian Journal of Medical and Biological Research*, 6(2), 305-310. <https://doi.org/10.3329/ajmbr.v6i2.48076>
- Rajamanickam, K., Ali, M. S., & Leela, V. (2022). Effect of systemic cortisol on pregnancy rate in repeat breeding cows during early pregnancy. *Indian Journal of Animal Research*, 56(12), 1454-1461. <http://dx.doi.org/10.18805/IJAR.B-4240>
- Rajkumar, R., Vijay, A., Venkatesan, M., Hamsa Yamini, S., Venkatesakumar, E., & Ponnu Swamy, K. K. (2023). Impact of ovsynch protocol on dominant follicle diameter and fertility response in repeat breeder dairy cows. *The Pharma Innovation Journal*, SP-12(12): 277-279.
- Rajkumar, R., Vijayarajan, A., Jayaganthan, P., Prabakaran, V., Raja, S., & Palanisamy, M. (2018). Effect of controlled breeding using CIDR and PGF2 $\alpha$  on fertility in repeat breeding crossbred cows. *International Journal of Science, Environment and Technology*, 7(6), 1998-2003.
- Raliou, M., Dembélé, D., Düvel, A., Bolifraud, P., Aubert, J., Mary-Huard, T., Roch D., Piumi, F., Mockly, S., Heppelmann, M., Dieuzy-Labaye, I., Zieger, P., Smith, D.G.E., Schuberth, H.J., Sheldon, I.M., & Sandra, O. (2019). Subclinical endometritis in dairy cattle is associated with distinct mRNA expression patterns in blood and endometrium. *PLoS One*, 14(8), e0220244. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220244>
- Rambeaud, M., Almeida, R. A., Pighetti, G. M., & Oliver, S. P. (2003). Dynamics of leukocytes and cytokines during experimentally induced *Streptococcus uberis* mastitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 96(3-4), 193–205. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2003.08.008>
- Rapoport, R., Sklan, D., Wolfenson, D., Shaham-Albalancy, A., & Hanukoglu, I. (1998). Antioxidant capacity is correlated with steroidogenic status of the corpus luteum during the bovine estrous cycle. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1380(1), 133-140. [https://doi.org/10.1016/s0304-4165\(97\)00136-0](https://doi.org/10.1016/s0304-4165(97)00136-0)
- Rathbone, M. J., Kinder, J. E., Fike, K., Kojima, F., Clopton, D., Ogle, C. R., & Bunt, C. R. (2001). Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 50(3), 277-320. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(01\)00156-9](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(01)00156-9)
- Reddy, N.C.S. (2010). Efficacy of uterine lavage in the treatment of repeat breeding crossbred cows. [Tesis doctoral, Universidad de Sri Venkateswara]

- Reith, S. & Hoy, S. (2018) Review: Behavioral signs of estrus and the potential of fully automated systems for detection of estrus in dairy cattle. *Animal*, 12(2), 398–407. <https://doi.org/10.1017/S1751731117001975>
- Reshma, A., Veerapandian, C., Sathiamoorthy, T., Arunmozhi, N., & Vairamuthu, S. (2020). Comparison of conception rate following CIDR±post insemination treatment with CIDR in repeat breeder cows. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 8(4), 500-504.
- Rhoads, M. L. (2023). Reproductive consequences of whole-body adaptations of dairy cattle to heat stress. *Animal*, 17, 100847. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2023.100847>
- Ribeiro, E. S., Bisinotto, R. S., Lima, F. S., Greco, L. F., Morrison, A., Kumar, A., Thatcher, W. W., & Santos, J. E. (2014). Plasma anti-Müllerian hormone in adult dairy cows and associations with fertility. *Journal of Dairy Science*, 97(11), 6888–6900. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-7908>
- Ribeiro, E. S., & Carvalho, M. R. (2018). Impact and mechanisms of inflammatory diseases on embryonic development and fertility in cattle. *Animal Reproduction (AR)*, 14(3), 589-600. <http://dx.doi.org/10.21451/1984-3143-AR1002>
- Ribeiro, E. S., Gomes, G., Greco, L. F., Cerri, R. L. A., Vieira-Neto, A., Monteiro Jr, P. L. J., Lima, Bisinotto, R.S., Thatcher, W.W., & Santos, J. E. P. (2016). Carryover effect of postpartum inflammatory diseases on developmental biology and fertility in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(3), 2201-2220. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10337>
- Rico, C., Fabre, S., Médigue, C., di Clemente, N., Clément, F., Bontoux, M., Touzé, J. L., Dupont, M., Briant, E., Rémy, B., Beckers, J. F., & Monniaux, D. (2009). Anti-Müllerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. *Biology of Reproduction*, 80(1), 50–59. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.072157>
- Risco, C. A., & Dahl, M. O. (2018). Effect of inflammatory response related to mastitis on dairy cattle reproduction. *Clinical Theriogenology*, 10(3), 253-257. <https://doi.org/10.58292/ct.v10.9924>
- Rivera, R. M., & Hansen, P. J. (2001). Development of cultured bovine embryos after exposure to high temperatures in the physiological range. *Reproduction-Cambridge*, 121(1), 107-115. <http://dx.doi.org/10.1530/rep.0.1210107>
- Rizos, D., Carter, F., Besenfelder, U., Havlicek, V., & Lonergan, P. (2010). Contribution of the female reproductive tract to low fertility in postpartum lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93(3), 1022–1029. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2605>
- Rizos, D., Maillo, V., & Lonergan, P. (2016). Role of the oviduct and oviduct-derived products in ruminant embryo development. *Animal Reproduction (AR)*, 13(3), 160-167. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2022-0015>

- Rizos, D., Scully, S., Kelly, A. K., Ealy, A. D., Moros, R., Duffy, P., Al Naib, A., Forde, N., & Lonergan, P. (2012). Effects of human chorionic gonadotrophin administration on day 5 after oestrus on corpus luteum characteristics, circulating progesterone and conceptus elongation in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, 24(3), 472-481. <https://doi.org/10.1071/RD11139>
- Rizzo, A., Lillo, E., Ceci, E., Maggiolino, A., Cicirelli, V., & Sciorsci, R. L. (2023). Scopolamine administration in repeat breeder cows on the day of heat. *Theriogenology*, 195, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.10.003>
- Rizzo, A., Roscino, M. T., Binetti, F., & Sciorsci, R. L. (2012). Roles of reactive oxygen species in female reproduction. *Reproduction in Domestic Animals*, 47(2), 344-352. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01891.x>
- Robinson, J. L., Dombrowski, D. B., Harpestad, G. W., & Shanks, R. D. (1984). Detection and prevalence of UMP synthase deficiency among dairy cattle. *Journal of Heredity*, 75(4), 277-280. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a109932>
- Rodrigues, C.A., Ayres, H., Ferreira, R.M., Teixeira, A.A., Mancilha, R.F., Oliveira, M.E.F., Souza A.H., & Baruselli, P. S. (2007a). Comparison of pregnancy rates after artificial insemination or embryo transfer in high producing repeat breeder Holstein cows. *Acta Scientiae Veterinariae*, 35(Suppl. 3), 1255.
- Rodrigues, C.A., Ayres, H., Ferreira, R.M., Teixeira, A.A., Mancilha, R.F., Oliveira, M.E.F. (2007b). Conception rate after artificial insemination and embryo transfer in high producing Holstein cows. *Acta Scientiae Veterinariae*, 33, 1254.
- Rodrigues, C. A., Ferreira, R. M., Vieira, L. M., Ranieri, A. L., Silva, P. R., & Baruselli, P. S. (2011). How FTAI and FTET impact reproductive efficiency of Brazilian dairy herds. *Acta Scientiae Veterinariae*, 39(1), s3–s13.
- Rodrigues, C.A., Teixeira, A.A., Ferreira, R.M., Ayres, H., Mancilha, R.F., Souza, A.H., Baruselli, P.S., (2010). Effect of fixed- time embryo transfer on reproductive efficiency in high-producing repeat-breeder Holstein cows. *Animal Reproduction Science*, 118(2-4), 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.06.020>
- Roelofs, J. B. (2008). Prediction of ovulation and optimal insemination interval. *Veterinary Quarterly*, 30, 58-78.
- Roelofs, J., López-Gatius, F., Hunter, R. H., van Eerdenburg, F. J., & Hanzen, C.h (2010). When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology*, 74(3), 327–344. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.02.016>
- Roman-Ponce, H., Thatcher, W. W., Caton, D., Barron, D. H., & Wilcox, C. J. (1978). Thermal stress effects on uterine blood flow in dairy cows. *Journal of Animal Science*, 46(1), 175-180. <https://doi.org/10.2527/jas1978.461175x>
- Romero-Aguilar, B. M., Narváez-Terán, J. A., & Ortuño-Barba, C. (2022). Uso de la ozonoterapia intrauterina para tratar la endometritis subclínica en vacas repetidoras de

- servicios. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 30(2), 71-74.  
<https://doi.org/10.53588/alpa.3000611>
- Roth, Z. (2008). Heat stress, the follicle, and its enclosed oocyte: mechanisms and potential strategies to improve fertility in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 43, 238-244. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01168.x>
- Roth, Z. (2017). Effect of heat stress on reproduction in dairy cows: insights into the cellular and molecular responses of the oocyte. *Annual Review of Animal Biosciences*, 5(1), 151-170. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022516-022849>
- Roth, Z. (2021). Heat stress reduces maturation and developmental capacity in bovine oocytes. *Reproduction, Fertility and Development*, 33(2), 66-75.  
<https://doi.org/10.1071/RD20213>
- Roth, Z., Meidan, R., Braw-Tal, R., & Wolfenson, D. (2000). Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, 120(1), 83-90.
- Ryan, N. J., Meade, K. G., Williams, E. J., O'Farrelly, C., Grant, J., Evans, A. C., & Beltman, M. E. (2020). Purulent vaginal discharge diagnosed in pasture-based Holstein-Friesian cows at 21 days postpartum is influenced by previous lactation milk yield and results in diminished fertility. *Journal of Dairy Science*, 103(1), 666-675.  
<https://doi.org/10.3168/jds.2019-17116>
- Saacké, R. G., Dalton, J. C., Nadir, S., Nebel, R. L., & Bame, J. H. (2000). Relationship of seminal traits and insemination time to fertilization rate and embryo quality. *Animal Reproduction Science*, 60, 663-677. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(00\)00137-8](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(00)00137-8)
- Saini, J. S., Dhaliwal, G. S., Ghuman, S. P. S., & Kumar, A. (2008). Reliability of ultrasonography for diagnosing genital tract abnormalities in buffaloes. *The Indian Journal of Animal Reproduction*, 29(1), 106-111.
- Sakaguchi, K., Tanida, T., Abdel-Ghani, M. A., Kanno, C., Yanagawa, Y., Katagiri, S., & Nagano, M. (2018). Relationship between the antral follicle count in bovine ovaries from a local abattoir and steroidogenesis of granulosa cells cultured as oocyte-cumulus-granulosa complexes. *The Journal of Reproduction and Development*, 64(6), 503-510. <https://doi.org/10.1262/jrd.2018-080>
- Sakatani, M. (2017). Effects of heat stress on bovine preimplantation embryos produced in vitro. *Journal of Reproduction and Development*, 63(4), 347-352.  
<https://doi.org/10.1262/jrd.2017-045>
- Sakatani, M., Kobayashi, S. I., & Takahashi, M. (2004). Effects of heat shock on in vitro development and intracellular oxidative state of bovine preimplantation embryos. *Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research*, 67(1), 77-82. <https://doi.org/10.1002/mrd.20014>

- Salasel, B., Mokhtari, A., & Taktaz, T. (2010). Prevalence, risk factors for and impact of subclinical endometritis in repeat breeder dairy cows. *Theriogenology*, 74(7), 1271-1278. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.05.033>
- Samal, L. (2013). Heat stress in dairy cows-reproductive problems and control measures. *International Journal of Livestock Research*, 3(3), 14-23.
- Samsonova, J. V., Safronova, V. A., & Osipov, A. P. (2018). Rapid flow-through enzyme immunoassay of progesterone in whole cows' milk. *Analytical Biochemistry*, 545, 43-48. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2018.01.011>
- Sanchez, T., Wehrman, M. E., Kojima, F. N., Cupp, A. S., Bergfeld, E. G., Peters, K. E., Mariscal, V., Kittok, R.J., & Kinder, J. E. (1995). Dosage of the Synthetic Progestin, Norgestomet, Influences Luteinizing Hormone Pulse Frequency and Endogenous Secretion of 17 $\beta$ Eestradiol in Heifers. *Biology of Reproduction*, 52(2), 464-469. <https://doi.org/10.1095/biolreprod52.2.464>
- Sangritavong, S., Combs, D. K., Sartori, R., Armentano, L. E., & Wiltbank, M. C. (2002). High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17beta in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 85(11), 2831-2842. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74370-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74370-1)
- Sani, R. N., Mohammadi, H. R., Mahdavi, A., & Dadashpour, H. (2016). Effects of different regimens of PGF2 $\alpha$  treatment during postpartum on reproductive performance in dairy cows. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 53(4), 1-9. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2016.107631>
- Santos, J. E. P., Cerri, R. L. A., Ballou, M. A., Higginbotham, G. E., & Kirk, J. H. (2004a). Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 80(1-2), 31-45. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00133-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00133-7)
- Santos, J. E. P., Thatcher, W. W., Chebel, R. C., Cerri, R. L. A., & Galvao, K. N. (2004b). The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Animal Reproduction Science*, 82, 513-535. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.015>
- Santos N. R., Roman H. B., Gilbert R. O. (2006) The use of leukocyte esterase reagent strips for diagnosis of subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology* 66, 663-687.
- Sarath, T., Joseph, C., Veeramani, P., Jeya, J. T., Chemmalar, S., Pugazharasi, C., Sureshkumar, R., & Gopikrishnan, D. (2019). Progesterone impregnated intra-vaginal device and timed artificial insemination (TAI) on fertility in repeat breeding Jersey crossbred cows. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 89(8), 853-854. <https://doi.org/10.56093/ijans.v89i8.93016>
- Sarkar, P., Patra, M. K., & Kumar, H. (2016). Strategic treatment with immunomodulators to resolve endometritis in cow: A review. *Agricultural Reviews*, 37(3), 186-195. <https://doi.org/10.18805/ag.v37i3.3534>

- Sarma D. K., Baishya, N., Sharma, D. K., Deka, B. C., & Bhuyan, D. (2009) Antisperm antibodies in serum and cervical mucus of normal and repeat breeding cows. *The Indian Journal of Animal Reproduction*, 30(1), 54-56.
- Sarma, D. K., Borpujari, D., Deka, N., Borah, B., Kalita, B., & Hussain, J. (2022) Association of Lactation Numbers of Crossbred Cows with Their Serum Antisperm Antibody Titre. *Indian Journal of Animal Research*, 1, 1-3. <https://doi.org/10.18805/IJAR.B-4930>
- Say, E., & Sağırkaya, H. (2021). Searching of pregnancy rate in repeat breeder cows by embryo transfer practices. *Journal of Agricultural Sciences*, 27(4), 436-440. <https://doi.org/10.15832/ankutbd.719266>
- Scalia, D., Lacetera, N., Bernabucci, U., Demeyere, K., Duchateau, L., & Burvenich, C. (2006). In vitro effects of nonesterified fatty acids on bovine neutrophils oxidative burst and viability. *Journal of dairy science*, 89(1), 147–154. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72078-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72078-1)
- Scenna, F. N., Hockett, M. E., Towns, T. M., Saxton, A. M., Rohrbach, N. R., Wehrman, M. E., & Schrick, F. N. (2005). Influence of a prostaglandin synthesis inhibitor administered at embryo transfer on pregnancy rates of recipient cows. *Prostaglandins & other lipid mediators*, 78(1-4), 38-45. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2005.02.003>
- Schmutz, S. M., Moker, J. S., Barth, A. D., & Mapletoft, R. J. (1991). Embryonic loss in superovulated cattle caused by the 1; 29 Robertsonian translocation. *Theriogenology*, 35(4), 705-714. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(91\)90411-6](https://doi.org/10.1016/0093-691X(91)90411-6)
- Schrick, F. N., Hockett, M. E., Saxton, A. M., Lewis, M. J., Dowlen, H. H., & Oliver, S. P. (2001). Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *Journal of Dairy Science*, 84(6), 1407-1412. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70172-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70172-5)
- Schweigert, F. J., & Zucker, H. (1988). Concentrations of vitamin A,  $\beta$ -carotene and vitamin E in individual bovine follicles of different quality. *Reproduction*, 82(2), 575-579. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0820575>
- Seidel, G. E., Jr, & Schenk, J. L. (2008). Pregnancy rates in cattle with cryopreserved sexed sperm: effects of sperm numbers per inseminate and site of sperm deposition. *Animal Reproduction Science*, 105(1-2), 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.11.015>
- Senger, P. L. (1994). The estrus detection problem: new concepts, technologies, and possibilities. *Journal of Dairy Science*, 77(9), 2745-2753. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77217-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77217-9)
- Selvaraj, P., & Kumar, H. (2001). Effect of administration of GnRH on ovulatory response, progesterone secretion and conception rate in repeat breeder cows. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 71(10). [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(02\)00133-1](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(02)00133-1)

- Selvaraju, S., Agarwal, S. K., Karche, S. D., Srivastava, S. K., Majumdar, A. C., & Shanker, U. (2002). Fertility responses and hormonal profiles in repeat breeding cows treated with insulin. *Animal Reproduction Science*, 73(3-4), 141-149. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(02\)00133-1](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(02)00133-1)
- Senosy, W. S., Izaike, Y., & Osawa, T. (2012). Influences of metabolic traits on subclinical endometritis at different intervals postpartum in high milking cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 47(4), 666-674. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01941.x>
- Sens, A., & Heuwieser, W. (2013). Presence of *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes*,  $\alpha$ -hemolytic streptococci, and coagulase-negative staphylococci and prevalence of subclinical endometritis. *Journal of Dairy Science*, 96(10), 6347-6354. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6646>
- Senthil Kumar, A., Sri Balaji, N., & Shanmugasundram, A. (2014). Four different therapeutic regimens for management of repeat breeder dairy cattle in Theni district of Tamilnadu. *International Journal Advanced Veterinary Science and Technology*, 3(1), 131-133.
- Shanks, R. D., & Robinson, J. L. (1989). Embryonic mortality attributed to inherited deficiency of uridine monophosphate synthase. *Journal of Dairy Science*, 72(11), 3035-3039. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79456-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79456-X)
- Sharma, A., Shukla, S. N., Agrawal, R. G., Joseph, E., & Sarkhel, B. C. (2011). Fertility response on administration of insulin in repeat breeding crossbred cows. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 81(2), 66-68.
- Sharma, A., Singh, M., & Vasishtal, N. K. (2006). Effect of gonadotrophin releasing hormone administration on conception rate following artificial insemination in repeat breeder cattle. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 76(4), 330-332.
- Sharma, P., Srivastava, S., Kumar, R., & Singh, V. B. (2018). Phytotherapy: An alternative low cost therapeutic management of endometritis in dairy animals: A review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7, 4581-4591.
- Shaw, D. W., Farin, P. W., Washburn, S. P., & Britt, J. H. (1995). Effect of retinol palmitate on ovulation rate and embryo quality in superovulated cattle. *Theriogenology*, 44(1), 51-58. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(95\)00147-Z](https://doi.org/10.1016/0093-691X(95)00147-Z)
- 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(1), 361-384. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-020518-115227>
- Sheldon, I. M., Cronin, J., Goetze, L., Donofrio, G., & Schuberth, H. J. (2009a). 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., Healey, G. D., Gabler, C., Heuwieser, W., Strey, D., Bromfield, J. J., Miyamoto, A., Fergani, C., & Dobson, H. (2014). Innate immunity and inflammation of the bovine female reproductive tract in health and disease. *Reproduction (Cambridge, England)*, *148*(3), R41–R51. <https://doi.org/10.1530/REP-14-0163>
- 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., Price, S. B., Cronin, J., Gilbert, R. O., & Gadsby, J. E. (2009b). Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, *44*(3), 1-9. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01465.x>
- Sheldon, I. M., Williams, E. J., Miller, A. N., Nash, D. M., & Herath, S. (2008). Uterine diseases in cattle after parturition. *The Veterinary Journal*, *176*(1), 115-121. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.031>
- Shivhare, M., Dhurvey, M., Gupta, V. K., Nema, S. P., Mehta, H. K., Jain, R., Sing N., & Shakya, V. (2012). Infertility due to fallopian tube affections. *DHR International Journal of Biomedical and Life Sciences*, *3*(1), 185-203.
- Silper, B. F., Madureira, A. M., Kaur, M., Burnett, T. A., & Cerri, R. L. (2015). Short communication: Comparison of estrus characteristics in Holstein heifers by 2 activity monitoring systems. *Journal of Dairy Science*, *98*(5), 3158–3165. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9185>
- Simenew, K., Bekana, M., Fikre, L., Tilahun, Z., & Wondu, M. (2011). Major gross reproductive tract abnormalities in female cattle slaughtered at Sululta slaughterhouse in Ethiopia. *Global Veterinaria* *6*(6), 506-513.
- Simpson, R. B., Chase, C. C., Spicer, L. J., Vernon, R. K., Hammond, A. C., & Rae, D. O. (1994). Effect of exogenous insulin on plasma and follicular insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding protein activity, follicular oestradiol and progesterone, and follicular growth in superovulated Angus and Brahman cows. *Reproduction*, *102*(2), 483-492. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1020483>
- Singh, H., Agarwal, S., Singh, P., Kumar, S., Kumar Verma, P., & Kumar, S. (2020a) Role of hCG administration at day 4 of the estrous cycle in repeat breeder cross-bred cow. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, *8*(4), 2201-2205.
- Singh, H., Brar, P. S., Singh, N., Jan, M. H., Honparkhe, M., & Dhindsa, S. S. (2020b). Effects of intra-uterine infusion of proteolytic enzymes on selected cytokine concentrations, uterine inflammation, and fertility in postpartum water buffalo cows with subclinical endometritis. *Animal Reproduction Science*, *215*, 106335. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106335>

- Singh, J., Honparkhe, M., Chandra, M., Kumar, A., Ghuman, S. P. S., & Dhindsa, S. S. (2016). Diagnostic efficacy of uterine cytobrush technique for subclinical endometritis in crossbred dairy cattle. *The Indian Veterinary Journal*, 93(2), 11-13.
- Singh, J., Honparkhe, M., Ghuman, S. P. S., Kumar, A., Dhindsa, S., & Chandra, M. (2017). Intrauterine proteolytic enzyme therapy for subclinical endometritis in dairy cattle. *The Indian Journal of Animal Reproduction*, 38(1), 1-3.
- Singh, S. P., Kumar, A., Bhavsar, P. P., Sahu, M., Kumar, P., & Kumar, S. (2020c). Evaluation of the effect of GnRH analogue, progesterone and tolfenamic acid on serum progesterone profile and conception rate in repeat breeding crossbred cattle. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(5), 2630-2637. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.905.301>
- Singh, B., Saravia, F., Båge, R., & Rodríguez-Martínez, H. (2005). Pregnancy rates in repeat-breeder heifers following multiple artificial inseminations during spontaneous oestrus. *Acta veterinaria Scandinavica*, 46(1-2), 1-12. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-46-1>
- Singh, M., Sharma, A., Kapse, S., Kashyap, A., & Kumar, P. (2019). Efficacy of different estrus synchronization protocols in repeat breeder cows. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 89(9), 958-960. <https://doi.org/10.56093/ijans.v89i9.93773>
- Singh, N., Singh, B., & Kumar, R. (2021). Therapeutic outcomes following uterine lavage, levamisole, PGF $2\alpha$  and their combinations in subclinical endometritic buffaloes. *The Indian Journal of Animal Reproduction*, 42(2), 17-21. <https://doi.org/10.48165/ijar.2021.42.2.3>
- Skarzynski, D. J., Miyamoto, Y., & Okuda, K. (2000). Production of prostaglandin f(2alpha) by cultured bovine endometrial cells in response to tumor necrosis factor alpha: cell type specificity and intracellular mechanisms. *Biology of Reproduction*, 62(5), 1116-1120. <https://doi.org/10.1095/biolreprod62.5.1116>
- Skliarov, P., Kornienko, V., Midyk, S., & Mylostyvyi, R. (2022). Impaired reproductive performance of dairy cows under heat stress. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 87(2), 85-92.
- Skovorodin, E., Bogolyuk, S., & Yurina, A. (2022). Clinical, laboratory, and morphological diagnosis of diseases in the oviducts and paraovarian structures of cows. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 86(3), 194-202.
- Sofi, K. A., Singh, M., Kumar, P., & Sharma, A. (2018). Laparoscopic chromopertubation for the evaluation of tubal patency in dairy cattle. *The Indian Journal of Animal Reproduction*, 39(1), 15-19.
- Sood, P., Singh, M., Vasishta, N. K., & Kumar, R. (2004). Phenolsulphonphthalene test to evaluate the lesions of the fallopian tubes in infertile cows. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 74(3), 270-271.

- Sood, P., Zachut, M., Dekel, I., Dube, H., Jacoby, S., & Moallem, U. (2017). Preovulatory follicle characteristics and oocyte competence in repeat breeder dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *100*(11), 9372-9381. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12973>
- Sood, P., Zachut, M., Dube, H., & Moallem, U. (2015). Behavioral and hormonal pattern of repeat breeder cows around estrus. *Reproduction*, *149*(6), 545-554. <https://doi.org/10.1530/REP-14-0598>
- Son, D. S., Choe, C. Y., Cho, S. R., Choi, S. H., Kim, H. J., Hur, T. Y., Jung, Y. G., Kang, H. G., & Kim, I. H. (2007). A CIDR-based timed embryo transfer protocol increases the pregnancy rate of lactating repeat breeder dairy cows. *The Journal of Reproduction and Development*, *53*(6), 1313-1318. <https://doi.org/10.1262/jrd.19066>
- Soquila, S., & Mingala, C. (2017). Anti-Müllerian hormone as a marker of embryo production in ruminants. *Animal Science and Genetics*, *13*(4), 9-16. <http://dx.doi.org/10.5604/01.3001.0013.5198>
- Sordillo, L. M., & Aitken, S. L. (2009). Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *128*(1-3), 104-109. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.10.305>
- Soto, P., Natzke, R. P., & Hansen, P. J. (2003). Identification of possible mediators of embryonic mortality caused by mastitis: actions of lipopolysaccharide, prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$ , and the nitric oxide generator, sodium nitroprusside dihydrate, on oocyte maturation and embryonic development in cattle. *American Journal of Reproductive Immunology*, *50*(3), 263-272. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0897.2003.00085.x>
- Souza, A. H., Carvalho, P. D., Rozner, A. E., Vieira, L. M., Hackbart, K. S., Bender, R. W., Dresch, A. R., Verstegen, J. P., Shaver, R. D., & Wiltbank, M. C. (2015). Relationship between circulating anti-Müllerian hormone (AMH) and superovulatory response of high-producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *98*(1), 169-178. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8182>
- Spencer, T. E., & Bazer, F. W. (2002). Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. *Frontiers in Bioscience*, *7*(1-3), 1879-1898. <https://doi.org/10.2741/spencer>
- Srivastava, S. K., Shinde, S., Singh, S. K., Mehrotra, S., Verma, M. R., Singh, A. K., Nandi, S., Srivastava, N., Singh, S. K., Goswami, T. K., Bhure, S. K., Kumar, H., & Ghosh, S. K. (2017). Antisperm antibodies in repeat-breeding cows: Frequency, detection and validation of threshold levels employing sperm immobilization, sperm agglutination and immunoperoxidase assay. *Reproduction in Domestic Animals*, *52*(2), 195-202. <https://doi.org/10.1111/rda.12877>
- Stangaferro, M. L., Wijma, R., Masello, M., Thomas, M. J., & Giordano, J. O. (2018). Extending the duration of the voluntary waiting period from 60 to 88 days in cows that received timed artificial insemination after the Double-Ovsynch protocol affected the reproductive performance, herd exit dynamics, and lactation performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *101*(1), 717-735. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13046>

- Stephani de Souza, J., Costa-Alexandre, E., Quintela, L. A., Becerra, J. J., Cainzos, J., Rivas, F., Prieto, A., & Herradón, P. G. (2010). Incidencia de alteraciones en el aparato reproductor de vacas sacrificadas en un matadero comercial de la Provincia de Lugo (Noroeste de España). *ITEA*, *106*(2), 100-114.
- Ster, C., Loisel, M. C., & Lacasse, P. (2012). Effect of postcalving serum nonesterified fatty acids concentration on the functionality of bovine immune cells. *Journal of dairy science*, *95*(2), 708–717. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4695>
- Stenman, U. H., Tiitinen, A., Alfthan, H., & Valmu, L. (2006). The classification, functions and clinical use of different isoforms of HCG. *Human Reproduction Update*, *12*(6), 769-784. <https://doi.org/10.1093/humupd/dml029>
- Stevenson, J. S., & Call, E. P. (1988). Reproductive disorders in the periparturient dairy cow. *Journal of dairy science*, *71*(9), 2572–2583. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(88\)79846-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79846-X)
- Stevenson, J. S., Call, E. P., Scoby, R. K., & Phatak, A. P. (1990). Double insemination and gonadotropin-releasing hormone treatment of repeat-breeding dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, *73*(7), 1766-1772. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78855-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78855-8)
- Stevenson, J. S., Hill, S. L., Nebel, R. L. & DeJarnette, J. M. (2014). Ovulation timing and conception risk after automated activity monitoring in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* *97*(7), 4296-4308. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7873>
- Stevenson, J. S., Portaluppi, M. A., Tenhouse, D. E., Lloyd, A., Eborn, D. R., Kacuba, S., & DeJarnette, J. M. (2007). Interventions after artificial insemination: conception rates, pregnancy survival, and ovarian responses to gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone. *Journal of Dairy Science*, *90*(1), 331-340. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)72634-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)72634-6)
- Stewart, B. M., Block, J., Morelli, P., Navarette, A. E., Amstalden, M., Bonilla, L., Hansen, P. J., & Bilby, T. R. (2011). Efficacy of embryo transfer in lactating dairy cows during summer using fresh or vitrified embryos produced in vitro with sex-sorted semen. *Journal of Dairy Science*, *94*(7), 3437–3445. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-4008>
- Stronge, A. J., Sreenan, J. M., Diskin, M. G., Mee, J. F., Kenny, D. A., & Morris, D. G. (2005). Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology*, *64*(5), 1212–1224. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.02.007>
- Studer, E. D. A. M., & Morrow, D. A. (1978). Postpartum evaluation of bovine reproductive potential: comparison of findings from genital tract examination per rectum, uterine culture, and endometrial biopsy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *172*(4), 489-494.
- Sturman, H., Oltenacu, E. A. B., & Foote, R. H. (2000). Importance of inseminating only cows in estrus. *Theriogenology*, *53*(8), 1657-1667. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00305-8](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00305-8)

- Sultana, J., Khan, S. A., Pasha, M. R., Imtiaz, M. A., Saif, A., Nova, F. K., & Shaikat, A. H. (2022). Alteration of physiological parameters in repeat breeder cows. *Asian Journal of Advances in Research*, 5(1), 601-605.
- Suzuki, C., Yoshioka, K., Iwamura, S., & Hirose, H. (2001). Endotoxin induces delayed ovulation following endocrine aberration during the proestrous phase in Holstein heifers. *Domestic Animal Endocrinology*, 20(4), 267-278. [https://doi.org/10.1016/s0739-7240\(01\)00098-4](https://doi.org/10.1016/s0739-7240(01)00098-4)
- Takatsu, K., Kuse, M., Yoshioka, S., & Acosta, T. J. (2018). Expression of epidermal growth factor (EGF) and its receptor in bovine endometrium throughout the luteal phase: effects of EGF on prostaglandin production in endometrial cells. *Animal Reproduction*, 12(2), 328-335.
- Takeuchi, O., & Akira, S. (2010). Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*, 140(6), 805-820. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.022>
- Talukdar, D. J., Talukdar, P., & Ahmed, K. (2016). Minerals and its impact on fertility of livestock: A review. *Agricultural Reviews*, 37(4), 333-337. <https://doi.org/10.18805/ag.v37i4.6464>
- Tanikawa, M., Lee, H. Y., Watanabe, K., Majewska, M., Skarzynski, D. J., Park, S. B., Lee, D. S., Park, C. K., Acosta, T. J., & Okuda, K. (2008). Regulation of prostaglandin biosynthesis by interleukin-1 in cultured bovine endometrial cells. *Journal of Endocrinology*, 199(3), 425-434. <https://doi.org/10.1677/JOE-08-0237>
- Taru, M., Katoh, T., Koshimizu, K., Kuribayashi, S., Miura, R., Hamano, S., & Shirasuna, K. (2024). Inflammatory uterine microenvironment in long-term infertility repeat breeder cows compared with normal fertile cows. *Veterinary and Animal Science*, 100369. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2024.100369>
- Teeli, A. S., Sheikh, P. A., Patra, M. K., Singh, D., Kumar, B., Kumar, H., Singh, S. K., Verma, M. R., & Krishnaswamy, N. (2019). Effect of dietary n-3 polyunsaturated rich fish oil supplementation on ovarian function and interferon stimulated genes in the repeat breeding cow. *Animal Reproduction Science*, 211, 106230. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106230>
- Thangamuthu, B. C., Pandian, C. S., Sivakumar, S. A., Sivakumar, P., & Perumal, P. (2024). Serum biochemical profiles between repeat breeder and normal cyclic jersey crossbred cows. *International Journal of Advanced Biochemistry Research*, SP8(5): 188-191. <https://doi.org/10.33545/26174693.2024.v8.i5Sc.1152>
- Thatcher, W. W., Guzeloglu, A., Meikle, A., Kamimura, S., Bilby, T., Kowalski, A. A., Badinga, L., Pershing, R., Bartolome, J., & Santos, J. E. (2003). Regulation of embryo survival in cattle. *Reproduction (Cambridge, England). Supplement*, 61, 253-266. <http://dx.doi.org/10.1530/biosciproc.5.019>
- Thomas, I., & Dobson, H. (1989). Oestrus during pregnancy in the cow. *The Veterinary record*, 124(15), 387-390. <https://doi.org/10.1136/vr.124.15.387>

- Trent, M. S., Stead, C. M., Tran, A. X., & Hankins, J. V. (2006). Invited review: diversity of endotoxin and its impact on pathogenesis. *Journal of Endotoxin Research*, 12(4), 205-223. <https://doi.org/10.1179/096805106X118825>
- Trevisi, E., & Bertoni, G. (2008). Attenuation of inflammatory conditions in periparturient dairy cows with acetylsalicylate treatments. *P.I. Quinn (Ed.), Aspirin and Health Research Progress*, Nova Science Publishers, New York, NY (2008), 22-37.
- Tüfekçi, E. C., Girit, S., Bayirli, E., Durmuşoğlu, F., & Yalti, S. (1992). Evaluation of tubal patency by transvaginal sonosalpingography. *Fertility and Sterility*, 57(2), 336-340. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)54841-9](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)54841-9)
- Van Eerdenburg, F.J.C.M., Loeffler, H.S.H., & Van Vliet, J.H. (1996). Detection of oestrus in dairy cows: a new approach to an old problem. *Veterinary Quarterly*, 18(2), 52-54. <https://doi.org/10.1080/01652176.1996.9694615>
- VanRaden, P. M., & Miller, R. H. (2006). Effects of nonadditive genetic interactions, inbreeding, and recessive defects on embryo and fetal loss by seventy days. *Journal of Dairy Science*, 89(7), 2716-2721. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72347-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72347-5)
- VanRaden, P. M., Null, D. J., Olson, K. M., & Hutchison, J. L. (2011a) Reporting of haplotypes with recessive effects on fertility. *Interbull Bulletin*, 44, 117-121.
- VanRaden, P. M., Olson, K. M., Null, D. J., & Hutchison, J. L. (2011b). Harmful recessive effects on fertility detected by absence of homozygous haplotypes. *Journal of Dairy Science*, 94(12), 6153-6161. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4624>
- Velazquez, M. A. (2008). Assisted reproductive technologies in cattle: applications in livestock production, biomedical research and conservation biology. *Annual Review of Biomedical Sciences*, 10, 36-62. <https://doi.org/10.5016/1806-8774.2008.v10p36>
- Verberckmoes, S., Van Soom, A., Dewulf, J., Thys, M., & de Kruif, A. (2005). Low dose insemination in cattle with the Ghent device. *Theriogenology*, 64(8), 1716-1728. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.04.017>
- Verma, S., Srivastava, S., Verma, R. K., Kumar, A., & Yadav, S. K. (2018). Incidence of repeat breeding in cows in and around Kumarganj, Faizabad (Uttar Pradesh), India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7, 4860-4870.
- Villarroel, A., Martino, A., Bondurant, R. H., Dèletang, F., & Sischo, W. M. (2004). Effect of post-insemination supplementation with PRID on pregnancy in repeat-breeder Holstein cows. *Theriogenology*, 61(7-8), 1513-1520. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.09.001>
- Von Krueger, X., & Heuwieser, W. (2010). Effect of flunixin meglumine and carprofen on pregnancy rates in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 93(11), 5140-5146. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3072>

- Wagener, K., Gabler, C., & Drillich, M. (2017a). 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>
- Wagener, K., Pothmann, H., Prunner, I., Peter, S., Erber, R., Aurich, C., Drillich, M., & Gabler, C. (2017b). Endometrial mRNA expression of selected pro-inflammatory factors and mucins in repeat breeder cows with and without subclinical endometritis. *Theriogenology*, *90*, 237-244. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.12.013>
- Waldron, M. R., & Revelo, X. S. (2008). Causes and effects of periparturient immunosuppression. *WCDS Advances in Dairy Technology* (20), 97-109.
- Waldmann, A., Reksen, O., Landsverk, K., Kommisrud, E., Dahl, E., Refsdal, A. O., & Ropstad, E. (2001). Progesterone concentrations in milk fat at first insemination—effects on non-return and repeat-breeding. *Animal Reproduction Science*, *65*(1-2), 33-41. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(00\)00227-x](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(00)00227-x)
- Walker, W. L., Nebel, R. L., & McGilliard, M. L. (1996). Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, *79*(9), 1555–1561. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76517-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76517-7)
- Walker, S. L., Smith, R. F., Jones, D. N., Routly, J. E., & Dobson, H. (2008). Chronic stress, hormone profiles and estrus intensity in dairy cattle. *Hormones and Behavior*, *53*(3), 493-501. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2007.12.003>
- Wall, E., Brotherstone, S., Kearney, J. F., Woolliams, J. A., & Coffey, M. P. (2003). Effect of including inbreeding, heterosis and recombination loss in prediction of breeding values for fertility traits. *Interbull Bulletin*, (31), 117-121.
- Walsh, R. B., Kelton, D. F., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Walton, J. S., & LeBlanc, S. J. (2007). Prevalence and risk factors for postpartum anovulatory condition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *90*(1), 315-324. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)72632-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)72632-2)
- Walsh, S. W., Williams, E. J., & Evans, A. C. (2011). A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal Reproduction Science*, *123*(3-4), 127–138. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.12.001>
- Walton, J. S., Halbert, G. W., Robinson, N. A., & Leslie, K. E. (1990). Effects of progesterone and human chorionic gonadotrophin administration five days postinsemination on plasma and milk concentrations of progesterone and pregnancy rates of normal and repeat breeder dairy cows. *Canadian Journal of Veterinary Research*, *54*(3), 305-308.
- Wang, M. L., Liu, M. C., Xu, J., An, L. G., Wang, J. F., & Zhu, Y. H. (2018). Uterine Microbiota of Dairy Cows With Clinical and Subclinical Endometritis. *Frontiers in Microbiology*, *9*, 2691. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02691>
- Wann, R. A., & Randel, R. D. (1990). Effect of uterine manipulation 35 days after parturition on plasma concentrations of 13, 14-dihydro-15-keto prostaglandin F<sub>2</sub>α in multiparous

- and primiparous Brahman cows. *Journal of Animal Science*, 68(5), 1389-1394. <https://doi.org/10.2527/1990.6851389x>
- Warriach, H. M., Ahmad, N., Ahmad, G., Khan, M. S., Rabbani, M., & Ahmad, I. (2008). Effect of antibiotic treatment on pregnancy rate of repeat breeder dairy cross bred cows with sub-clinical uterine infection. *Pakistan Veterinary Journal*, 28(1), 40-42.
- Wathes, D. C., Cheng, Z., Chowdhury, W., Fenwick, M. A., Fitzpatrick, R., Morris, D. G., Patton, J., & Murphy, J. J. (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>
- Whay, H. R., Waterman, A. E., & Webster, A. J. F. (1997). Associations between locomotion, claw lesions and nociceptive threshold in dairy heifers during the peripartum period. *The Veterinary Journal*, 154(2), 155-161. [https://doi.org/10.1016/s1090-0233\(97\)80053-6](https://doi.org/10.1016/s1090-0233(97)80053-6)
- Widayati, D. T., Bintara, S., Natawihardja, I., & Maharani, D. (2018). Blood Biochemical Profile in Fertile and Repeat Breeder Ongole Cross Breed Cows. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 21(4), 166-170. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2018.166.170>
- Widayati, D. T., Darmawan, M. A., & da C Freitas, J. (2019). Progesterone level of normal cycling and repeat breeding Ongole grade cows. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 387(1), 012008. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/387/1/012008>
- Wiggans, G. R., & Carrillo, J. A. (2022). Genomic selection in United States dairy cattle. *Frontiers in Genetics*, 13, 994466. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.994466>
- Williams, E. J. (2013). Drivers of Post-partum Uterine Disease in Dairy Cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 48, 53-58. <https://doi.org/10.1111/rda.12205>
- Williams, C. Y., Harris, T. G., Battaglia, D. F., Viguí, C., & Karsch, F. J. (2001). Endotoxin inhibits pituitary responsiveness to gonadotropin-releasing hormone. *Endocrinology*, 142(5), 1915-1922. <https://doi.org/10.1210/endo.142.5.8120>
- Wilson, D. J., Grohn, Y. T., Bennett, G. J., González, R. N., Schukken, Y. H., & Spatz, J. (2008). Milk production change following clinical mastitis and reproductive performance compared among J5 vaccinated and control dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 91(10), 3869-3879. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1405>
- Wilson, S. J., Marion, R. S., Spain, J. N., Spiers, D. E., Keisler, D. H., & Lucy, M. C. (1998). Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1. Lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 81(8), 2124–2131. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75788-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75788-1)
- Wiltbank, M. C., Souza, A. H., Carvalho, P. D., Cunha, A. P., Giordano, J. O., Fricke, P. M., Baez, G. M., & Diskin, M. G. (2014). Physiological and practical effects of

- progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal : an international journal of animal bioscience*, 8(1), 70–81. <https://doi.org/10.1017/S1751731114000585>
- Wodaje, H. B., & Mekuria, T. A. (2016). Risk factors of repeat breeding in dairy cattle. *The International Journal of Advanced Biological Research*, 10(4), 213-221. <https://doi.org/10.5829/idosi.abr.2016.10.4.104142>
- Wolfenson, D., Leitner, G., & Lavon, Y. (2015). The disruptive effects of mastitis on reproduction and fertility in dairy cows. *Italian Journal of Animal Science*, 14:4125, 650-654. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.4125>
- Wolfenson, D., & Roth, Z. (2019). Impact of heat stress on cow reproduction and fertility. *Animal Frontiers*, 9(1), 32-38. <https://doi.org/10.1093/af/vfy027>
- Wolfenson, D., Roth, Z., & Meidan, R. (2000). Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Animal Reproduction Science*, 60, 535-547. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(00\)00102-0](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(00)00102-0)
- Wolfenson, D., Thatcher, W. W., Badinga, L., Savio, J. D., Meidan, R., Lew, B. J., Braw-Tal, R., & Berman, A. (1995). Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. *Biology of Reproduction*, 52(5), 1106–1113. <https://doi.org/10.1095/biolreprod52.5.1106>
- Yaginuma, H., Funeshima, N., Tanikawa, N., Miyamura, M., Tsuchiya, H., Noguchi, T., Iwat H., Kuwayama, T., Shirasuna, K., & Hamano, S. (2019). Improvement of fertility in repeat breeder dairy cattle by embryo transfer following artificial insemination: possibility of interferon tau replenishment effect. *Journal of Reproduction and Development*, 65(3), 223-229. <https://doi.org/10.1262/jrd.2018-121>
- Yáñez, U., Barrio, M., Fernández, I., Becerra, J. J., Herradón, P. G., Peña, A. I., & Quintela, L. A. (2023). Assessment of Luteal Function Using Rectal Palpation, B-Mode Ultrasonography, and Progesterone Determination to Improve Recipient Selection in Embryo Transfer Programs. *Animals : an open access journal from MDPI*, 13(18), 2865. <https://doi.org/10.3390/ani13182865>
- 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>
- Yildiz, A. (2016). Effect of intrauterine *Allium sativum* extract on recovery and conception rate in dairy cows with subclinical endometritis. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 86(2), 154-157. <https://doi.org/10.56093/ijans.v86i2.55791>
- Yusuf, M., Nakao, T., Ranasinghe, R. B., Gautam, G., Long, S. T., Yoshida, C., Koike, K., & Hayashi, A. (2010). Reproductive performance of repeat breeders in dairy herds. *Theriogenology*, 73(9), 1220–1229. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.01.016>

- Yusuf, M., Rahim, L., Asja, M. A., & Wahyudi, A. (2012). The incidence of repeat breeding in dairy cows under tropical condition. *Media Peternakan*, 35(1), 28-31. <https://doi.org/10.5398/medpet.2012.35.1.28>
- Zerbe, H., Schneider, N., Leibold, W., Wensing, T., Kruip, T. A. M., & Schuberth, H. J. (2000). Altered functional and immunophenotypical properties of neutrophilic granulocytes in postpartum cows associated with fatty liver. *Theriogenology*, 54(5), 771-786. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00389-7](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00389-7)
- Zhang, Y., Li, X., Zhang, H., Zhao, Z., Peng, Z., Wang, Z., Liu, G., & Li, X. (2018). Non-esterified fatty acids over-activate the TLR2/4-NF- $\kappa$ b signaling pathway to increase inflammatory cytokine synthesis in neutrophils from ketotic cows. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 48(2), 827-837. <https://doi.org/10.1159/000491913>
- Zhao, S. J., Pang, Y. W., Zhao, X. M., Du, W. H., Hao, H. S., & Zhu, H. B. (2017). Effects of lipopolysaccharide on maturation of bovine oocyte in vitro and its possible mechanisms. *Oncotarget*, 8(3), 4656-4667. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13965>
- Zobel, R. (2013) Endometritis in Simmental cows: incidence, causes, and therapy options. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 37(2), 134-140. <https://doi.org/10.3906/vet-1105-2>
- Zobel, R., & Tkalčić, S. (2012). Efficacy of ozone and other treatment modalities for retained placenta in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 48(1), 121-125. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02041.x>
- Zobel, R., Tkalčić, S., & Cole, W. (2013). Fertility issues in Simmental cows in Central Croatia: a 5-year study. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 37(4), 454-461. <https://doi.org/10.3906/vet-1204-14>
- Zralý, Z., Čanderle, J., Diblíková, I., Švecová, D., Mašková, J., & Kummer, V. (2003). Antisperm antibodies in cows as related to their reproductive health. *Acta Veterinaria Brno*, 72(1), 27-32. <https://doi.org/10.2754/avb200372010027>
- Zulu, V. C., Nakao, T., & Sawamukai, Y. (2002). Insulin-like growth factor-I as a possible hormonal mediator of nutritional regulation of reproduction in cattle. *Journal of Veterinary Medical Science*, 64(8), 657-665. <https://doi.org/10.1292/jvms.64.657>



El síndrome de repetición de celos supone una de las principales problemáticas reproductivas que afectan al ganado bovino lechero, generando importantes pérdidas económicas y aumentando el riesgo de eliminación de animales. El objetivo de esta tesis fue determinar su prevalencia, estudiar las causas y los factores de riesgo implicados en su aparición, y valorar posibles alternativas terapéuticas. En base a los resultados obtenidos, la inmunización frente al semen, la endometritis subclínica y la oclusión oviductal no parecen estar entre las causas principales de este trastorno. En este estudio se obtuvieron resultados positivos tras el tratamiento de la endometritis subclínica con antiinflamatorios no esteroideos y se identificaron además varios factores de riesgo del síndrome en vacas primíparas y múltiparas.