

Efecto del tratamiento de desinfección de los dispositivos intravaginales usados en la concentración de progesterona de vacas bajo condiciones de trópico seco

Effect of the disinfection treatment of used intravaginal devices on the concentration of progesterone on cows under dry tropical conditions

Cuicas-Huerta Rosendo¹ cuicas07@hotmail.com, **Aké-López Ricardo**² alopez@correo.uady.mx, **Estrada-Paqui Efren**¹ eeapaqui@hotmail.com, **Gómez-Vargas Julio C**¹ jgovar@hotmail.com, **Guadarrama-Trujillo Villey**¹ mvzguerrero_20@hotmail.com, **Montiel-Palacios Felipe**³ philmonpa777@hotmail.com, **Muñoz-García Canuto**⁴ munoz@colpos.mx, **Segura-Correa José**² jose.segura52@hotmail.com

¹Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia No.1 - Universidad Autónoma de Guerrero. México. ²Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Autónoma de Yucatán. México. ³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – Universidad Veracruzana. México. ⁴Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo, Texcoco. Estado de México. México. Autor Responsable: Cuicas-Huerta Rosendo. Autor de correspondencia: José Segura Correa. km 15.5 carretera Mérida Xmatkuil. Mérida, Yucatán, México, CP. 97315.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue comparar el efecto de la desinfección/limpieza de los dispositivos CIDR sobre las concentraciones séricas de progesterona (P4) en vacas Suizo x Cebú, a las cuales se les colocó por ocho días un dispositivo intravaginal (CIDR) nuevo (T1), reutilizado esterilizado en autoclave (T2) o reutilizado desinfectado en cloro (T3). Se utilizó un diseño completamente al azar con tres vacas por tratamiento. Los dispositivos CIDR reutilizados habían sido usados en una ocasión en vacas. Se colectaron muestras sanguíneas a los 0, 15, 30 min, 1, 3 y 6 h y posteriormente cada 12 h hasta el día 10, a partir de la inserción del CIDR (hora 0). La concentración de P4 se determinó mediante radioinmunoensayo. Las medias de las concentraciones de P4 fueron similares entre tratamientos (T1, 1.7 ± 0.9 ng/mL; T2, 1.31 ± 0.65 ng/mL; y T3, 1.33 ± 3.19 ng/mL; $P > 0.05$). En conclusión, el proceso de desinfección/limpieza de los dispositivos CIDR no afectó la disponibilidad del progestágeno, por lo que pueden ser reutilizados en el proceso de sincronización del estro.

Palabras clave: CIDR, Autoclave, progesterona, vacas.

ABSTRACT

The objective of the study was to compare the effect of disinfection/cleaning of CIDR devices on serum progesterone concentrations (P4) in Brown Swiss x Zebu cows, which received during eight days a new intravaginal device (CIDR; T1), used device, sterilized by autoclave (T2) or a used device, disinfected with chlorine (T3). A complete randomized design with three replicates per treatment was applied. The used CIDR devices were used previously in cows. Blood samples were collected at 0, 15, 30 min, as well as at 1, 3 and 6 h and then each 12 h until day 10, with respect to the moment of the insertion of the CIDR. The P4 concentration was determined by radioimmunoassay. Mean concentrations of P4 were similar among treatments (T1, 1.7 ± 0.9 ng/mL; T2, 1.31 ± 0.65 ng/mL; and T3, 1.33 ± 3.19 ng/mL; $P < 0.05$). In conclusion, the process of disinfection/cleaning of the CIDR devices did not affect the availability of progestogen, therefore the CIDR could be used for estrous synchronization.

Keywords: CIDR, Autoclave, progesterone, cows.

INTRODUCCIÓN

Los dispositivos intravaginales con progestágenos se han utilizado por más de cuatro décadas con el objetivo de controlar los ciclos estrales de vacas y ovejas (Lucy *et al.*, 2001; Martínez *et al.*, 2002). El dispositivo más utilizado en los Estados Unidos es el dispositivo de liberación de droga interna controlada (CIDR), para su uso en el ganado (Macmillan y Peterson 1993; Rathbone *et al.*, 1997). El CIDR es un inserto vaginal en forma de T que contiene 1.9 g (Canadá, México, Japón, Australia y Nueva Zelanda) o 1.38 g (Estados Unidos y otros países) de progesterona (P4) en silicona moldeada sobre una columna de nylon (Rathbone *et al.*, 2002; Mapletoft *et al.*, 2003). El contenido residual de P4 después de un periodo de inserción de 7 días de CIDR con 1.38 g, se ha reportado como de 0.72 g (Rathbone *et al.*, 2002); por lo tanto, podría ser reutilizado.

Aunque el fabricante recomienda el uso sólo una vez, la reutilización del CIDR se ha investigado (Martínez *et al.*, 2003; Stevenson *et al.*, 2003; Colazo *et al.*, 2004). Inserciones de CIDR reutilizados suprimen el estro al menos un periodo adicional de 7 días, tanto en ganado de leche como de carne (Richardson *et al.*, 2002); no observándose diferencias en los porcentajes de preñez para ganado inseminado artificialmente a tiempo fijo con CIDR nuevo o utilizado (Colazo *et al.*, 2004).

Diferentes enfoques han sido utilizados para limpiar, desinfectar o esterilizar los dispositivos CIDR; sin embargo, aparentemente son escasos los informes que comparan las concentraciones séricas de progesterona producidas por dispositivos de segundo uso esterilizado en autoclave. Cerri *et al.*, (2005) no encontraron diferencias en las concentraciones plasmáticas de P4 en vacas lecheras que recibieron un dispositivo nuevo (1.38 g de P4), o un inserto desinfectado en autoclave y utilizado durante 7 días. Más escasos son los estudios que comparan las concentraciones séricas de P4 producidos por CIDR lavados y esterilizados en autoclave.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del tipo de desinfección (autoclave o en cloro) que reciben los CIDR para volverse a reutilizar, sobre la concentración de progesterona sérica de vacas Suizo x Cebú, en el trópico seco de Michoacán, México.

MATERIAL Y MÉTODOS

Localización y clima

El trabajo de investigación se desarrolló en un rancho ubicado en la comunidad de San Lucas, Michoacán, México (18° 35'' Latitud Norte y 100° 47'' Longitud Oeste); el cual se encuentra a una altura de 300 msnm. La precipitación pluvial anual es de 906 milímetros; con temperaturas que oscilan entre 20.2 y 37.6°C (INEGI, 2005). El clima de la región es tropical seco estepario, donde existe una época crítica de estiaje de febrero a junio.

Animales y manejo

Se utilizaron 9 vacas Suizo x Cebú, anéstricas y lactantes, con 60 días posparto, peso promedio de 400 ± 10 kg y condición corporal de 4-5 unidades en la escala del 1 al 9; donde 1 correspondió a un animal emaciado y 9 a un obeso (Ayala *et al.*, 1995).

Las vacas estuvieron a libre pastoreo en potreros de rastrojo de sorgo (*Sorghum bicolor*), rastrojo de maíz (*Zea mays*) y pastos nativos (*Paspalum spp*, *Cynodon dactylon*, *Bouteloa sp.* etc.); así como arbustos y plantas leguminosas. Las vacas se manejaron en un sistema con amamantamiento continuo, donde el becerro permaneció con la madre hasta el destete.

La ciclicidad de las vacas se evaluó previo al estudio mediante dos palpaciones con intervalos de 10 días, considerándose que una vaca estaba anéstrica, cuando a la palpación rectal, en la superficie del ovario, no se detectó la formación de folículos o la presencia de un cuerpo lúteo (Salas-Razo *et al.*, 2011); esto último se confirmó mediante las concentraciones de progesterona menores a 1 ng/ml (Grajales *et al.*, 2006); lo cual indica la ausencia de un cuerpo lúteo activo.

Aplicación del CIDR

Una vez que se diagnosticó el estado fisiológico de las vacas (anéstricas), se les insertó un CIDR en forma intravaginal por 8 días; formándose tres grupos tratados: 1) vacas que recibieron un CIDR nuevo, el cual estuvo impregnado con 1.9 g de progesterona (CN; n=3) (Laboratorio Pfizer); 2) vacas con un CIDR previamente utilizado (reutilizado), el cual previa limpieza fue esterilizado en autoclave a 121°C (CEA; n=3); y 3) vacas con CIDR reutilizado, el cual fue desinfectado en cloro, diluido en agua a razón de 3 ml de cloro por litro de agua (CDC; n=3). Al colocar el CIDR a todas las vacas, se les aplicó vía intramuscular 1 mg de Cipionato de estradiol (Laboratorio Wittney). Inmediatamente después del retiro y 24 h después, se aplicaron nuevamente 0.25 mg de Cipionato de estradiol.

Análisis de progesterona

Para determinar las concentraciones de P4, se tomaron muestras sanguíneas a los 0, 15, 30 min, 1, 3 y 6 h y posteriormente cada 12 horas, hasta el día 10 a partir del momento de la inserción del CIDR (dos días después del retiro del CIDR). Las muestras se obtuvieron por punción de la vena coccígea en tubos vacutáiner, en los cuales se dejó coagular la sangre por una hora, y posteriormente se centrifugaron a 2500 rpm por 15 min. El suero se almacenó en alícuotas que se almacenaron a -20 °C, hasta su análisis. La medición de la P4 se realizó mediante un kit de radioinmunoensayo de fase sólida. La sensibilidad de la prueba fue 0.04 ng/ml y los coeficientes de variación intra e interensayo 6 y 8.5%

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar con tres vacas (repeticiones) por tratamiento. Todos los datos fueron sometidos a análisis de varianza de una vía, para cada momento de medición (0,15 30 min; 1, 3, 6 y 12 h; y posteriormente cada 12 h), mediante el procedimiento GLM (SAS, 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mayoría (75%) de los picos máximos de P4 ocurrieron entre las 6 y 12 h post-inserción del dispositivo intravaginal (Figura 1). Las concentraciones promedio (\pm DE) de P4 sérica durante los 8 días que permaneció el dispositivo, fueron similares ($P > 0.05$) para los grupos CN (1.7 ± 0.9 ng/ml), CEA (1.31 ± 0.65 ng/ml) y CDC (1.33 ± 3.19 ng/ml). Estos resultados fueron debido, principalmente a diferencias producidas durante las primeras 6 horas, después de la inserción del CIDR (Figuras 1 y 2).

Las concentraciones séricas de P4 obtenidas del dispositivo CIDR nuevo durante 8 días, son comparables a las concentraciones notificadas en otro estudio, utilizando el CIDR con 1.38 g (Rathbone *et al.*, 2002). Las concentraciones de P4 obtenidas con el CIDR esterilizado en autoclave fueron similares a las obtenidas por Martínez *et al.* (2007), quienes utilizaron un dispositivo reutilizado que originalmente contenía 1.9 g de P4 en vacas ovariectomizadas. Las concentraciones de P4 alcanzaron su punto máximo en las primeras 6 h después de la inserción, manteniéndose así hasta las 12 horas aproximadamente; sin embargo, no ocurrió lo mismo para el CIDR esterilizado con cloro, que sufrió un descenso considerable en la concentración de P4. Este descenso fue seguido por una disminución constante hasta la eliminación del CIDR el día 8. Macmillan *et al.* (1991) informaron que después de la inserción de un CIDR nuevo (1.9 g de progesterona) en novillas ovariectomizadas, las concentraciones de progesterona en plasma aumentaron hasta aproximadamente 8.7 ng/ml por 6 h, y luego se redujeron a 6.8 y 2.5 ng/ml en los días 1 y 12 post-inserción, respectivamente. Cerri *et al.* (2005) comparando las concentraciones plasmáticas de P4 posteriores a la inserción de un CIDR nuevo o uno utilizado por 7 días y esterilizado en autoclave, observaron que las concentraciones de P4 aumentaron inmediatamente después de la inserción, alcanzando su máxima concentración a los 90 minutos; siguiendo el mismo patrón durante el resto del periodo de inserción.

Aunque no hubo diferencia significativa entre tratamientos, es posible que las bajas concentraciones de P4 observadas con los dispositivos desinfectados en cloro en comparación con los dispositivos esterilizados en autoclave, fueran causadas por una exposición prolongada a la solución desinfectante. Por tanto, es muy probable que la esterilización de vapor del dispositivo en el T3 aumentó la tasa de elución durante las primeras horas, después de la inserción en comparación con el T2. Tal efecto indica

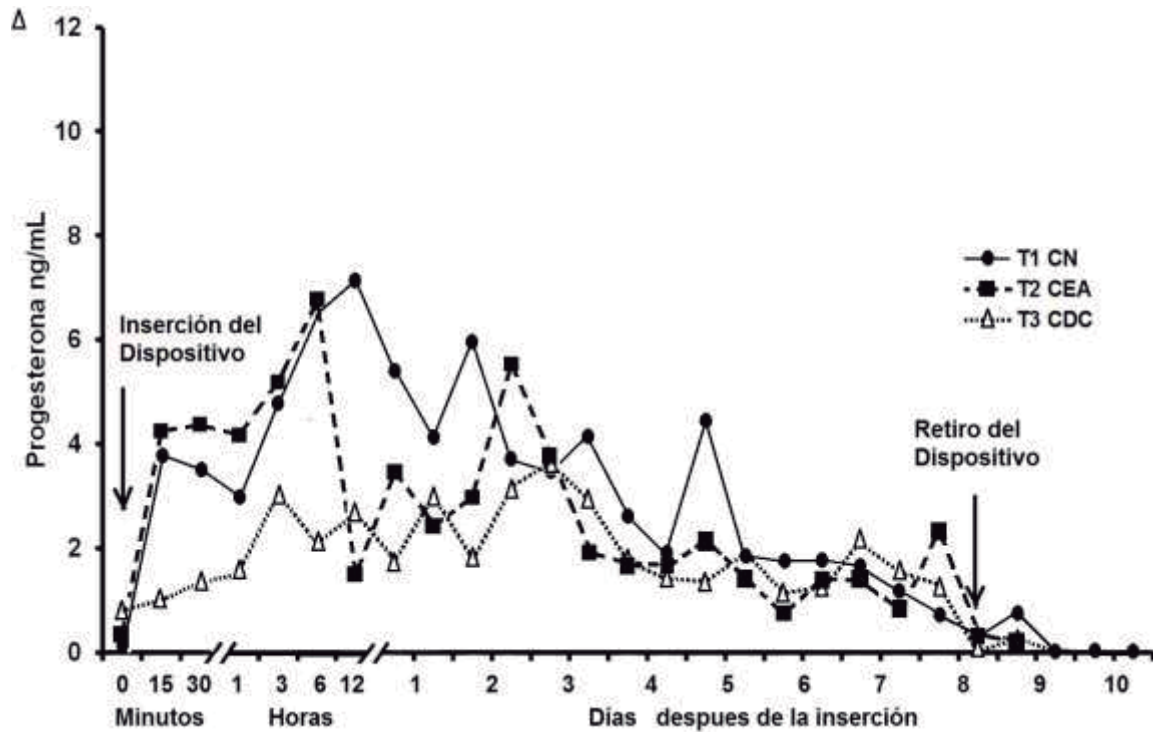


Figura 1. Concentraciones promedio de progesterona sérica (P4, ng/mL) en vacas Suizo x Cebú producidas por dispositivos CIDR nuevos (T1 CN), esterilizados en autoclave (T2 CEA) y desinfectados en cloro (T3 CDC).

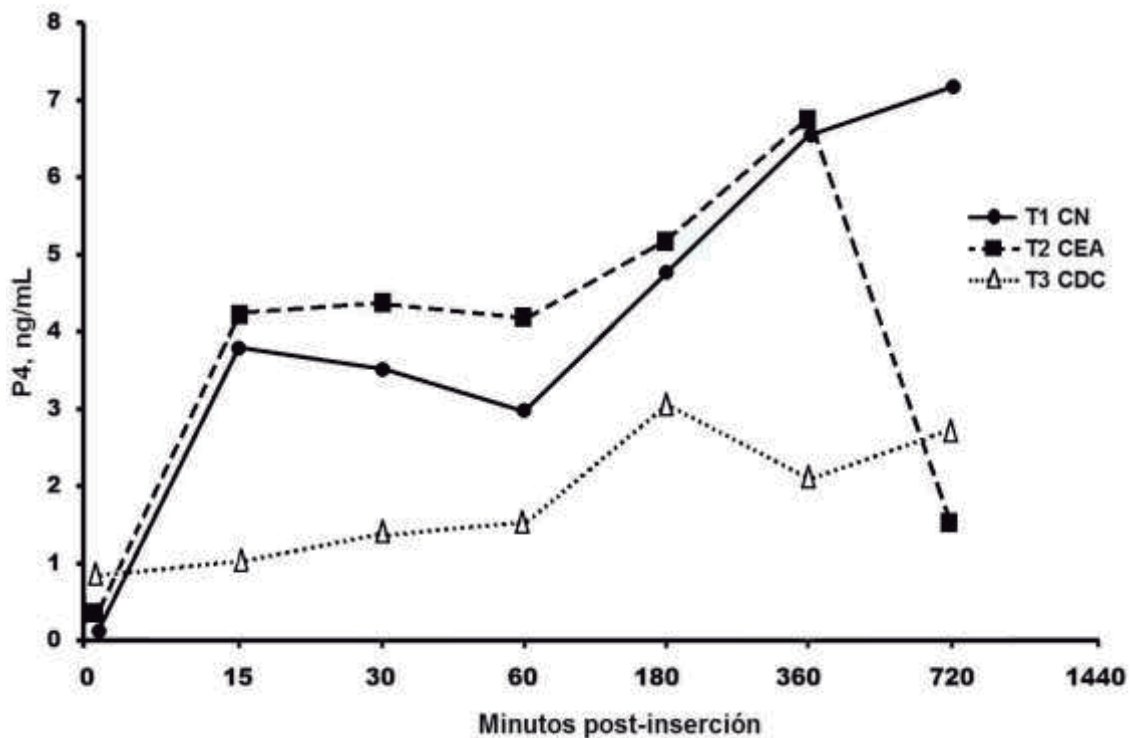


Figura 2. Concentraciones promedio de progesterona sérica (P4, ng/ml) en vacas Suizo x Cebú producidas por dispositivos nuevos (T1 CN), esterilizados en autoclave (T2 CEA) y desinfectados en cloro (T3 CDC) durante las primeras 12 h post-insertión.

que el proceso de esterilización en autoclave modifica de alguna manera la estructura del implante o la disposición de la P4 dentro del inserto.

Según McPhee *et al.* (1983), los perfiles plasmáticos de progesterona de los dispositivos intravaginales con progesterona (PRID) reutilizados y esterilizados en gas, fueron menores en comparación con los PRID tratados en autoclave; donde se observaron concentraciones plasmáticas en estado estacionario post-reinserción similares a un inserto nuevo. Los resultados se atribuyeron a la formación de una gran cantidad de P4 cristalina sobre la superficie del PRID en autoclave.

Existen similitudes estructurales y funcionales entre los dispositivos PRID y CIDR, ya que ambos dispositivos se construyen usando la progesterona micronizada en piel de caucho de silicona que se moldea en un nylon (CIDR), o estructura de acero inoxidable (PRID; Rathbone *et al.*, 1998). Debido a esta similitud, es posible que el proceso de esterilización térmica utilizada en el presente estudio puede haber resultado en el mismo efecto observado en dispositivos PRID esterilizados en autoclave.

Algunos investigadores (Colazo *et al.*, 2004) han utilizado CIDR sumergidos en una solución detergente con base en yodo de povidona durante 2 horas; seguido por lavado, aclarado con agua, secado al aire y esterilizado con vapor en un equipo autoclave; mientras que otros han utilizado esquemas restringidos, sólo por desinfecciones químicas (Van Cleeff *et al.* 1992; Martínez *et al.*, 2007) y esterilización en gas (Schmitt *et al.*, 1996b). Padula y Macmillan (2006) demostraron que los cambios en la microflora vaginal y uterina en el postparto temprano de vacas de carne, se produjeron durante 14 días post-inserción de un CIDR. Estos autores señalan que los cultivos microbianos en hisopos después del retiro del CIDR, produjeron intenso crecimiento bacteriano, siendo las especies aisladas *Pseudomonas aeruginosa* y *Actinomyces pyogenes*.

CONCLUSIÓN

El proceso de desinfección/limpieza de los dispositivos CIDR, no afectó el contenido y disponibilidad de su progestágeno, por lo que pueden ser utilizados nuevamente en el proceso de sincronización del estro en vacas bajo condiciones de trópico seco.

LITERATURA CITADA

AYALA A, Honhold R, Delgado R, Magaña J. 1995. A visual condition scoring scheme for *Bos indicus* and crossbred cattle. In: Anderson, S. and Wadsworth, J (editors) Proceeding of an International Workshop on Dual Purpose Cattle Research. IFS/FMVZ-UADY, Mérida, Yucatán, México.

CERRI RLA, Rutgliano HM, Bruno RGS, Santos JEP. 2005. Progesterone (P4) concentrations and ovarian response after insertion of a new or a 7-day used intravaginal P4 insert (IPI) in proestrus lactating cows. *Journal of Dairy Science*. 83 (Suppl. 1): 37. ISSN: 1525-3163. ISSN: 0022-0302

COLAZO MG, Kastelic JP, Whittaker PR, Gavaga QA, Wilde R, Mapletoft RJ. 2004. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol, with or without progesterone. *Animal Reproduction Science*. 81: 25–34. ISSN: 0378-4320 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2003.09.003>

GRAJALES H, Hernández A, Prieto E. 2006. Determinación de parámetros reproductivos basados en los niveles de progesterona en novillas doble propósito en el trópico colombiano. *Livestock Research for Rural Development*. 18. Article #144. Disponible en <http://www.lrrd.org/lrrd18/10/graj18144.htm>

INEGI. 2005. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática: X Censo de población y vivienda (Cartografía Geoestadística del Estado de Michoacán). México. Volumen I, Tomo 16, pp. 171.

LUCY MC, Billings HJ, Butler WR, Ehnis LR, Fields MJ, Kesler DJ, Kinder JE, Mattos RC, Short RE, Thatcher WW, Wettemann RP, Yelich JV, Hafs HD. 2001. Efficacy of an intravaginal progesterone insert and an injection of PGF2alpha for synchronizing estrus and shortening the interval to pregnancy in postpartum beef cows, peripubertal beef heifers, and dairy heifers. *Journal of Animal Science*. 79:982-995. ISSN: 1525-3163. doi:10.2527/2001.794982x Disponible: <file:///C:/Users/scorrea/Downloads/jas-79-4-982.pdf>

MACMILLAN KL, Peterson AJ. 1993. A new intravaginal progesterone releasing device (CIDR-B) for oestrous synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of postpartum anoestrus. *Animal Reproduction Science*. 33: 1–25. ISSN: 0378-4320. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(93\)90104-Y](https://doi.org/10.1016/0378-4320(93)90104-Y)

MACMILLAN KL, Taufas VK, Barnes DR, Day AM. 1991. Plasma progesterone concentrations in heifers and cows treated with a new intravaginal device. *Animal Reproduction Science*. 26: 25–40. ISSN: 0378-4320. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(91\)90063-6](https://doi.org/10.1016/0378-4320(91)90063-6)

MAPLETOFT RJ, Martinez MF, Colazo MG, Kastelic JP. 2003. The use of controlled internal drug release devices for the regulation of bovine reproduction. *Journal of Animal Science*. 81 (E. Supplement 2): E28–E36. ISSN: 1525-3163.

doi:10.2527/2003.8114_suppl_2E37x Disponible: file:///C:/Users/scorrea/Downloads/jas-81-14_suppl_2-E28.pdf

MARTINEZ MF, Kastelic JP, Adams GP, Mapletoft RJ. 2002. The use of a progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengesterol acetate with GnRH, LH, or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. *Journal of Animal Science*. 80:1746-1751. ISSN: 1525-3163. doi:10.2527/2002.8071746x Disponible [file:///C:/Users/scorrea/Downloads/jas-80-7-1746%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/scorrea/Downloads/jas-80-7-1746%20(1).pdf)

MARTINEZ MF, Colazo MG, Kastelic JP, Mapletoft RJ. 2003. Effects of estradiol and progesterone on plasma steroid and gonadotropin concentrations in CIDR-treated ovariectomized cows. *Theriogenology*. 59: 224-228. ISSN: 0093-691X. DOI: 10.1016/j.domaniend.2006.04.009

MARTINEZ MF, Kastelic JP, Colazo MG, Mapletoft RJ. 2007. Effects of estradiol on gonadotrophin release, estrus and ovulation in CIDR-treated beef cattle. *Domestic Animal and Endocrinology*. 33: 77-90. ISSN: 0739-7240 <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2006.04.009>

MCPHEE SR, Doyle MW, Davis IF, Chamley WA. 1983. Multiple use of progesterone releasing intravaginal devices for synchronization of oestrus and ovulation in cattle. *Australian Veterinary Journal*. 60: 40-43. ISSN: 1751-0813 DOI: 10.1111/j.1751-0813.1983.tb05859.x. Disponible: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1751-0813.1983.tb05859.x/epdf?r3_referer=wol&tracking_action=preview_click&show_checkout=1&purchase_referrer=onlinelibrary.wiley.com&purchase_site_license=LICENSE_DE NIED

PADULA AM, Macmillan KL. 2006. Effect of treatment with two intravaginal inserts on the uterine and vaginal microflora of early postpartum beef cows. *Australian Veterinary Journal*. 84: 204-208. ISSN: 1751-0813. DOI: 10.1111/j.1751-0813.2006.tb12800.x Disponible: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1751-0813.2006.tb12800.x/epdf?r3_referer=wol&tracking_action=preview_click&show_checkout=1&purchase_referrer=onlinelibrary.wiley.com&purchase_site_license=LICENSE_DE NIED

RATHBONE MJ, Macmillan KL, Bunt CR, Burggraaf S, Burke C. 1997. Conceptual and commercially available intravaginal veterinary drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 28: 363-392. ISSN: 0169-409X [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(97\)00089-6](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(97)00089-6)

RATHBONE MJ, Macmillan KL, Inskeep K, Burggraaf S, Burke CR. 1998. Fertility regulation in cattle. *Journal of Controlled Release*. 54: 117–148. ISSN: 0168-3659. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(98\)00003-0](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(98)00003-0)

RATHBONE MJ, Bunt CR, Ogle CR, Burggraaf S, Macmillan KL, Burke R, Pickering KL. 2002. Reengineering of a commercially available bovine intravaginal insert (CIDR insert) containing progesterone. *Journal of Controlled Release*. 85:105–115. ISSN: 0168-3659 [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(02\)00288-2](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00288-2)

RICHARDSON AM, Hensley BA, Marple TJ, Johnson SK, Stevenson JS. 2002. Characteristics of estrus before and after first insemination and fertility of heifers after synchronized estrus using GnRH, PGF₂, and progesterone. *Journal of Animal Science*. 80: 2792–2800. ISSN: 1525-3163 doi:10.2527/2002.80112792x. Disponible: <file:///C:/Users/scorrea/Downloads/jas-80-11-2792.pdf>

SALAS-RAZO G, Gutiérrez-Vásquez E, Ku-Vera JC, Aké-López R. (2011). Reinicio de la actividad ovárica posparto y concentración plasmática de metabolitos lípidos y progesterona en vacas suplementadas con grasa de sobrepeso. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14:385-392. (ISSN: 1870-0462)

SAS. 2009. User's Guide: Statistics, Version 9.2th Edition. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina. USA.

SCHMITT EJP, Drost M, Diaz T, Roomes C, Thatcher WW. 1996. Effect of a gonadotropin-releasing hormone agonist on follicle recruitment and pregnancy rate in cattle. *Journal of Animal Science*. 74: 154–161. ISSN: 1525-3163. doi:10.2527/1996.741154x Disponible: <file:///C:/Users/scorrea/Downloads/jas-74-1-154.pdf>

STEVENSON JS, Lamb GC, Johnson SK, Medina-Britos M A, Grieger DM, Harmony KR., Cartmill JA, El- Zarkouny SZ, Dahlen CR, Marple TJ. 2003. Supplemental norgestomet, progesterone, or melengestrol acetate increases pregnancy rates in suckled beef cows after timed inseminations. *Journal of Animal Science*. 81: 571–586. ISSN: 1525-3163. doi:10.2527/2003.813571x Disponible: <file:///C:/Users/scorrea/Downloads/jas-81-3-0810571.pdf>

VAN CLEEFF JK, Lucy MC, Wilcox CJ, Thatcher WW. 1992. Plasma and milk progesterone and plasma LH in ovariectomized lactating cows treated with new or used controlled internal drug release devices. *Animal Reproduction Science*. 27: 91–106. ISSN: 0378-4320 [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(92\)90049-J](https://doi.org/10.1016/0378-4320(92)90049-J)