

## Relación de la endogamia con la retención de membranas fetales en vacas de hatos lecheros especializados de Costa Rica

Romero, J. J.<sup>1</sup>; Pérez, E.<sup>2</sup> y Rojas, J.<sup>3</sup>

- 1 Programa de Investigación en Medicina Poblacional, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.
- 2 Instituto Panamericano de Protección y Desarrollo de Alimentos y Zoonosis. Organización Panamericana de la Salud. Río de Janeiro, Brasil.
- 3 Centro Regional de Informática en Producción Animal Sostenible. Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional.

### ABSTRACT

A case-control study using data from 75 dairy herds that used VAMPP 5.1 as management information system was performed to investigate the relationships of inbreeding coefficient (IC) and retained fetal membranes (RFM). Inbreeding coefficient was calculated by Wright's formula. Six hundred and thirty cows with RFM were matched to all possible controls with follow characteristics: same farm, same breed, same parity, and with a calving date  $\pm$  180 days. Inbreeding distribution ranged from 0.0% to 25.0%, with average of 4.5%. Only 1400 calves had some grade of inbreeding. A coefficient of 6.25 % or greater were considered as a cutoff of potential negative effects due to inbreeding. Cows delivering calves with an IC greater or equal to 6.25% had 13.3 more chance of suffering RFM. These results indicate that the IC should be used as an additional criterion in the selection of the bull in reproduction programs. To our knowledge is the first epidemiological report of the relation of the offspring's IC and RFM in the dam.

**Keywords:** Inbreeding, Costa Rica, dairy cattle, Case-control, Risk factors.

### RESUMEN

Se realizó un estudio caso-control en 75 hatos lecheros de tres zonas geográficas de Costa Rica. Los datos corresponden a los partos entre el 1 de enero de 1988 y el 31 de agosto de 1996. Las fincas en estudio manejaban sus registros en el sistema de información VAMPP 5.1. Se verificaron 630 registros de vacas con retención de membranas fetales (RMF), luego de un parto normal (**casos**). Para cada **caso** se buscaron todos los **controles** posibles según apareo mediante las siguientes restricciones: misma finca, misma raza, mismo número de lactancia y haber parido dentro de un período de 90 días antes o después de los casos. El coeficiente de endogamia (CE) para las crías, fue calculado mediante una rutina creada para esta investigación y adaptada al programa VAMPP 5.1, siguiendo la fórmula de cálculo de Wright.

El procesamiento estadístico se realizó en dos fases: 1) estadística descriptiva de las variables, y 2) determinación del riesgo de RMF mediante la determinación de la razón de posibilidades (Odds ratio) para pares apareados. En total hubo 1,400 crías que presentaron algún grado de endogamia, para una tasa global de individuos con endogamia de 5.94%. El CE promedio, para la totalidad de las crías fue de 0.05%, con valores máximos y mínimos de 25.0% y 0.0% respectivamente. Cuando la endogamia estuvo en niveles del 6.25% o superiores, se constituyó en un fuerte factor de riesgo para la presentación de RMF, siendo 13.3 (IC 95%, 13.0-13.5) veces más probable la presentación de RMF en estos animales

Recibido: 06 de marzo del 2006

Aceptado: 01 de febrero del 2006

\* Autor para correspondencia: E-mail: jromero@ns.medvet.una.ac.cr, Telefax: (506) 237-5229, Apdo. Postal: 304-3000 Heredia, Escuela de Medicina Veterinaria, Barreal de Heredia, Costa Rica.

que en los que su CE fue menor al 6.25%. A la luz de estos resultados, el CE de la cría es un factor por considerar al momento de seleccionar el toro en programas de reproducción. Este es el primer estudio que documenta la relación de la endogamia de la cría con la RMF de la madre en vacas lecheras.

**Palabras claves:** *Endogamia, Costa Rica, Ganado lechero, Caso-control, Factores de Riesgo.*

### **Abreviaturas:**

**CE:** Coeficiente de endogamia

**OR:** Razón de posibilidades (OR por su nombre en inglés *Odds ratio*).

**RFM:** Retención de membranas fetales

**IC 95% :** Intervalo de confianza al 95%.

## **INTRODUCCIÓN**

La endogamia (consanguinidad) resulta del apareamiento de individuos emparentados entre sí por ascendencia (Falconer, 1981). Generalmente, los individuos endogámicos son poco productivos, menos resistentes y menos fértiles que los animales no endogámicos (Hudson y Van Vleck<sup>b</sup>, 1984; Ruiz *et al.*, datos no publicados). La endogamia aumenta la homocigosis y con ello, la probabilidad de que genes presentes en los ancestros estén presentes en las crías (Falconer, 1981; Miglior *et al.*, 1995). Esto puede conducir a que la compatibilidad genética entre ellos, sea más probable.

Varios estudios relacionan la RMF con una gran variedad de factores como: los períodos de gestación entre 260 y 270 días (Joosten *et al.*, 1991<sup>a</sup>), los partos gemelares (Correa *et al.*, 1993), los partos distócicos (Joosten *et al.*, 1991<sup>a</sup>; Correa *et al.*, 1993); la elevada edad de la madre (Joosten *et al.*, 1991<sup>a</sup>); el aborto por causas infecciosas

(Roberts, 1986) y la cesárea (Correa *et al.*, 1993). Adicionalmente, se reporta que los partos inducidos con corticosteroides (Fernández *et al.*, 1992) o con PgF2 $\alpha$  (Chassagne y Barnouin, 1992; Rasmussen *et al.*, 1996) inducen a elevadas tasas de RMF. Factores nutricionales, tales como la deficiencia de Vitamina A, de vitamina E y selenio han sido asociados con la RMF (Finkelshtein *et al.*, 1992). Otra serie de factores como niveles subóptimos de PgF2 $\alpha$  a nivel placental (Kankofer *et al.*, 1994), niveles disminuidos de estrógenos antes del parto (Grunert *et al.*, 1989) y defectos en la cantidad y la calidad del colágeno en los placentomas (Fecteau y Eiler, 1996) han sido relacionados con la RMF.

Por otra parte, se ha propuesto la participación del sistema inmunológico en la liberación de la membranas fetales: 1) por medio del complejo mayor de histocompatibilidad tipo I (MHC I) (Joosten *et al.* (1991<sup>a,b</sup>), y 2) la participación activa de los leucocitos (Gunnink, J.W., 1984; Heuwieser *et al.*,

1986; Davies *et al.*, 2004). Joosten *et al.* (1991<sup>b</sup>) han estudiado el papel que juega el MHC I en la presentación de la RMF como una posible causa para este problema, especialmente en los casos que presentan este padecimiento luego de un parto normal. Estos estudios han observado que cuando hay compatibilidad del MHC I entre la madre y la cría, la RMF es más frecuente. Por lo tanto, sugieren que al ser heredable el MHC I (Roit, 1991), la madre y el hijo tienen la probabilidad de compartir el MHC I, por lo que el feto no se comportaría completamente como un aloinjerto. Esto conduciría a que no se lleve a cabo la reacción inmunológica por la cual, mediante el MCH, las células T maternas reconocen los aloinjertos desencadenando la reacción inflamatoria que induce la producción de linfocinas que estimulan el crecimiento y maduración placentaria (Wegmann, 1988).

El riesgo que tiene la endogamia de la cría sobre la presentación de la retención de membranas fetales en ganado lechero, no ha sido determinado hasta la fecha mediante un estudio de corte epidemiológico; sólo se ha estudiado en yeguas (Sevinga *et al.*, 2004). El objetivo de este estudio es determinar la tasa global de endogamia y el efecto de ella como factor de riesgo para la presentación de la RMF, y la tasa global de endogamia, en hatos lecheros de las tres zonas más importantes para esta actividad productiva en Costa Rica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Población en estudio

Se realizó un estudio caso-control de tipo retrospectivo en 75 hatos lecheros de tres zonas geográficas de Costa Rica (Poás y Vara Blanca, San Carlos y Cartago). Los datos corresponden a los partos que fueron observados y registrados desde el 1 de enero de 1988 hasta el 31 de agosto de 1996. Vacas de todas las razas y número de lactancia ingresaron al estudio. Las fincas estudiadas pertenecen, según Holdridge (1978), a las siguientes zonas de vida: bosque muy húmedo montano (Bmh-m), bosque montano bajo (Bmb) y bosque muy húmedo tropical (Bmh-T), correspondiendo, respectivamente, a Poás + Vara Blanca, San Carlos y Cartago.

El requisito de las fincas, para ingresar al estudio, fue poseer sus registros en el sistema de información VAMPP 5.1 (Veterinary Automated Management and Production Control Program, Noordhuizen y Buurman, 1984). Todas las fincas seleccionadas producen leche en forma tecnificada y con la participación de un técnico dentro del sistema de producción.

### Recolección de datos

Los eventos diarios ocurridos en las fincas se registraron manualmente por los propietarios o los encargados de las actividades de campo, quienes fueron entrenados para este fin por los Médicos Ve-

terinarios y técnicos que dan el soporte técnico al establecimiento. Los registros manuales, posteriormente, se digitaron en el programa VAMPP 5.1 (Noordhuizen y Buurman, 1984), en computadoras personales existentes en la misma finca, esto gracias a las empresas de asistencia técnica que ofrecen el servicio de llevar los registros de las fincas o por medio del Proyecto de Salud de Hato de la Universidad Nacional. Los datos generados en cada finca fueron almacenados, a su vez, en la base de datos central del Proyecto de Salud de Hato, en su sede en la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.

### Procesamiento de los datos

Se creó un grupo de datos a partir de la base de datos central, en la cual se incluyó todos los partos registrados durante el período de estudio. Las variables incluidas fueron: número de finca, número de vaca, tipo de parto (normal, distócico, mediante cesárea y si hubo RMF), número de lactancia, número de crías al parto y fecha de parto. En vista de que la RMF ocurre de manera independiente en cada lactancia, una vaca puede estar presente varias veces, pero con un registro diferente para cada lactancia. Luego, se eliminaron todos los registros de partos gemelares y distócicos para controlar estos factores, los cuales se constituyeron en fuertes factores de riesgo en el estudio anterior (Romero y Pérez, 1999), en estas mismas fincas.

Para este estudio se define como *caso* toda RMF luego de un parto normal. Del total de partos, se verificaron 630 casos. Para cada *caso* se buscaron todos los controles posibles (mediante apareo) considerando las siguientes características: provenir de la misma finca, ser de la misma raza, del mismo número de lactancia, y haber parido dentro de un período de 180 días antes o después que los casos. Una vaca pudo ser **control** para más de una vaca. Este apareamiento se desprende de los resultados del artículo presentado en el capítulo anterior (Romero y Pérez, 1999). De esta manera, se controló el efecto de hato, de región geográfica, de raza, de número de lactancias y de época de parto; además del parto distócico y el parto gemelar, los cuales ya habían sido controlados mediante exclusión. Se buscó toda la cantidad de controles posibles para cada caso, de manera que la razón para el apareo fue de 1:n. En total, se obtuvieron 22,985 controles, para una base de datos total de 23,595 partos.

### Cálculo del coeficiente de endogamia (CE)

El CE, para las crías, fue calculado mediante una rutina creada para esta investigación y adaptada al programa VAMPP 5.1, siguiendo la fórmula desarrollada por Wright (1932).

La rutina creada fue validada al comparar sus resultados con los obtenidos mediante la tilización del PROC INBREED (SAS/STAT® ver 6.12). Para

este propósito, se utilizó el módulo de genealogía del VAMPP 5.1, en el cual se incluye todo el árbol genealógico de las vacas y de los toros. La genealogía de los toros es sustentada en los registros del NAAB (National Association Animal Breeders, Columbia, USA).

### Procesamiento estadístico

El procesamiento estadístico se realizó en dos fases. La primera consistió en la estadística descriptiva de las variables dependiente e independiente mediante (SAS/STAT® ver 6.12). La variable dependiente fue la RMF. Se definió que la vaca había sufrido RMF cuando la expulsión de la placenta ocurrió 12 horas o más posparto (Roberts, 1984; Eiler, H. en Younquist, R.S., 1997). La variable independiente fue el CE. No hay estudios que indiquen el punto en el CE en el cual se comienzan a verificar los efectos negativos por depresión endogámica; sin embargo, para efectos de este estudio, el punto de corte para definir que el CE que sería riesgo, fue una valor  $\geq 0.0625$  (6.25%).

Al ser la endogamia un factor ligado al tipo de población (abierta o cerrada), siendo mayores sus coeficientes en poblaciones cerradas, se procedió a calcular el promedio de toros utilizados por finca durante el período en estudio (SAS/STAT ver. 6.12). Para dar más fuerza al análisis, se identificó el número de generaciones de ancestros presentes para las crías involucradas en el estudio durante el período de interés.

La segunda fase fue la determinación de la asociación del CE con la RMF mediante el cálculo de la razón de posibilidades (OR). Para este cálculo, se utilizó la metodología propuesta por Kelsey *et al.* (1986) para pares apareados. El procedimiento consiste en utilizar como base una tabla de contingencia de  $2 \times 2$ , en la cual las casillas correspondientes se completan con los pares concordantes y discordantes. Los pares concordantes se ubican en las casillas "a" y "d" y son aquellos que comparten el factor de exposición (CE  $\geq 6.25$  presente [+] o ausente [-]), mientras que los discordantes se ubican en las casillas "b" y "c".

## RESULTADOS

### Estadística descriptiva

Luego de la reducción y edición de los datos, se obtuvo una base de datos de 23,595 partos. Hubo un total de 630 casos, de los que fueron excluidos 20 por no poseer controles, resultando entonces 610 casos y 22,985 controles, para una base de datos total de 23,595 partos.

Un 39.1% de los casos fueron hembras y 60.9% machos. Según la época del año, el 60.5% se presentó en la época lluviosa y el 39.5% en la época seca. La raza con más casos de RMF presentó fue la Holstein, con 63.7%, la Jersey presentó únicamente 9.0%, mientras que la combinación de todas las demás razas y cruces presentó el 27.3%. De acuerdo con el número de lactancias,

la 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup>, y la 5<sup>a</sup> o más lactancias presentaron 22.1%, 17.0%, 15.6%, 14.3% y 31.1 % casos, respectivamente. Según la duración de la gestación, el 14.8% de los casos presentó gestaciones < 260 días; un 35.4% tuvo gestaciones entre los 260 y los 277 días, un 46.3% entre los 277 y 290 días, y el 3.5% > 290 días. Según la región de ubicación de la finca, los casos de RMF se distribuyen: 23.5% para Poás+Vara Blanca, 65.2% en San Carlos, y el 11.3% para Cartago.

En total, hubo 1,400 crías que presentaron algún grado de endogamia, para una tasa global de individuos con endogamia de 5.94%, mientras que las restantes 22.195 (94.06%), no presentaron endogamia. Las crías que mostraron algún grado de endogamia se distribuyen como se observa en el cuadro 1.

El CE promedio para la totalidad de las crías fue de 4.45%, con valores mínimos

y máximos de 0.0% y 25.0% respectivamente. De acuerdo con el criterio de codificación del grado de endogamia en riesgo y no riesgo de sufrir RMF, hubo 1,052 crías con riesgo (CE ≥ 6.25%) y 22,543 con no riesgo.

Según el cálculo de OR, para pares apareados (Kelsey *et al.*, 1986), cuando la endogamia estuvo en niveles ≥ 6.25%, se constituyó en un fuerte factor de riesgo para la presentación de RMF, siendo 13.3 (CI 95%, 13.0-13.5; p < 0.001) veces más probable la presentación de RMF en estos animales que en los que su CE fue < 6.25%. En el cuadro 2, se puede observar la tabla de contingencia que sirve de sustento para estos cálculos.

El número de generaciones de ancestros presentes en la base de datos para las crías se puede observar en el cuadro 3, que el 43.6% de las crías tienen registros de más de 4 generaciones de ancestros.

**Cuadro 1**  
**Distribución de frecuencias de los coeficientes de endogamia para las crías.**

Coefficiente de Endogamia	Frec. absoluta	Frec. relativa (todas las crías)	Frec. relativa (solo con CE)
0.000000	22195	94.06	
0.0078125	60	0.25	04.30
0.0156250	189	0.80	13.50
0.0312500	99	0.42	07.07
0.0625000	172	0.73	12.28
0.1250000	40	0.18	02.85
0.2500000	840	3.56	60.00

Cuadro 2

Tabla de contingencia para el cálculo del OR utilizando los pares concordantes y discordantes para correlacionar el CE con la retención de membranas fetales.

		Controles (RMF -)	
		CE+	CE-
Casos (RMF +)	CE+	1052 (a)	21945 (b)
	CE-	1650 (c)	22543 (d)

CE = Coeficiente de Endogamia.

Pares concordantes:

**a** = (RMF +) y (CE +) + (RMF -) y (CE +).

**d** = (RMF +) y (CE -) + (RMF -) y (CE -).

Pares no concordantes:

**b** = (RMF +) y (CE +) + (RMF -) y (CE -).

**c** = (RMF +) y (CE -) + (RMF -) y (CE +).

Cuadro 3

Número de generaciones de ancestros presentes para las crías involucradas en el estudio

Generación	Frec. absoluta	Frec. relativa
1	3706	15.70
2	3370	14.30
3	6240	26.40
4	4938	20.90
5	4640	19.70
6	580	2.50
7	99	0.40
8	15	0.10
9	7	0.05

## Discusión

La tasa global de animales con endogamia (5.94%) es baja en comparación con otros estudios que reportan tasas de 16.89 % (Hudson y van Vleck, 1984a) y 23.32% (Dahlin *et al.*, 1995); aunque es similar al resultado obtenido en otra investigación realizada en Costa Rica por Ruiz *et al.* (1996), en la cual la tasa global de endogamia fluctuó entre 5.68% y 6.82%. De la misma manera, este resultado es similar al reportado por Allaire y Henderson (1965) en un estudio realizado en Estados Unidos de Norteamérica, en el cual encontraron un 7.4% de animales endogámicos. El valor de la tasa de endogamia encontrada en este estudio, puede deberse a que el hato nacional es "muy abierto". Como sustento de esta aseveración se puede observar que, para las fincas involucradas en este estudio, el promedio de toros utilizado por finca, durante el período, fue de  $84 \pm 39.75$ , con valores mínimos y máximos de 28 y 184 respectivamente. Está bien documentado que en programas de inseminación artificial (IA), cuando se utilizan pocos toros, aumenta la probabilidad de elevar las tasas de endogamia (Allaire y Henderson, 1965; Hudson y Van Vleck, 1984a).

Los resultados del estudio caso-control revelan un elevado riesgo de sufrir RMF luego de un parto normal en vacas cuyas crías presentan un coeficiente de endogamia superior o igual a 6.25%. Joosten *et al.* (1991<sup>b</sup>) sugieren

que este efecto puede deberse, al menos en parte, a la posible compatibilidad del MHC I entre la madre y su cría. Se conoce que la consecuencia esencial de que dos individuos tengan un ancestro común, es que ambos pueden llevar réplicas de uno de los genes presentes en el ancestro, y si se aparean, aumentan la posibilidad de pasar estas réplicas a su descendencia. De esta manera, los individuos endogámicos pueden llevar dos genes para un locus, los cuales son réplicas del mismo gen en una generación previa, aumentando su homociguidad (Falconer, 1981), efecto que parece ocurrir con los genes que codifican para el MHC I; los que se heredan en forma de bloque, como un rasgo mendeliano simple (Roitt, 1991).

La posible relación del MHC I con la retención placentaria, se puede fundamentar en la teoría de inmunotropismo placentario de Wegman (1988). Dentro de las funciones del MHC I, está la presentación de antígenos sobre las células blanco, para las células T citotóxicas (Roitt, 1991). De este modo, el reconocimiento de aloantígenos por parte de las células T maternas, conducen a la producción de linfocinas por parte de estas células, lo que a su vez estimula el crecimiento y maduración placentar en gestaciones semi-alogénicas.

Para reforzar la teoría expuesta, Low *et al.* (1990) observaron inmunodecoloración positiva para antígenos clase MHC I, pero no para MHC II en las membranas corialantoideas del área

interplacentomal de la placenta madura. Esto indica que la placenta fetal de la vaca expresa antígenos MHC I de una manera regionalmente definida, especialmente en la gestación tardía. Por lo tanto, en gestaciones singénicas, con alta compatibilidad en el MHC I de la madre y la cría, el efecto propuesto por Wegman (1988) no se lleva a cabo en forma satisfactoria y la RMF se instaura.

Los resultados de esta investigación se pueden sumar a los de otros estudios, en los cuales se ha observado efectos nocivos como producto de la endogamia (Polack y Ufford, 1978; Hudson y Van Vleck, 1984a,b; Ruiz *et al.*, 1996).

La baja tasas de endogamia presente en los hatos lecheros de Costa Rica (5.94%), puede deberse a que este hatillo lechero nacional se comporta como población muy abierta, debido al uso de un elevado número de toros para el servicio de las vacas. Este es el primer estudio de corte epidemiológico -en ganado lechero- que determina el riesgo para las vacas con parto normal de sufrir RMF cuando la endogamia de las crías es  $\geq 6.25\%$ .

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allaire, F.R. & C.R. Henderson. 1965. Inbreeding within an artificially bred dairy cattle population. *J. Dairy Sci.* 48: 1366-1371.



- Chassagne, M. & J. Barnouin. 1992. Circulating PgF2 and nutritional parameters at parturition in dairy cows with and without retained placenta: Relation to prepartum diet. *Theriogenology*. 38: 407-418.
- Correa, M.T., H. Erb & J. Scarlett. 1993. Path analysis for seven postpartum disorders of holstein cows. *J. Dairy Sci.* 76: 1305-1312.
- Dahlin, A., U.N. Khan, A.H. Zafar, M.Ñ. Saleem, M.A. Chaudry & J. Philipsson. 1995. Population structure of the Sahiwal breed in Pakistan. *Animal Sci.* 60:163-170.
- Davies, C.J., J.R. Hill, J.L. Edwards, F.N. Schrick, P.J. Fisher, J.A. Eldridge & D.H. Schlafer. 2004. Major histocompatibility antigen expression on the bovine placenta: its relationship to abnormal pregnancies and retained placenta. *Anim Reprod Sci.* 82-83: 267-80.
- Fecteau, K.A & H. Eiler. 1996. Evaluation of injections of collagenase and oxitetracycline via the umbilical artery as treatment for retained placenta in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 57: 522-525.
- Fernández, M. & A.D. Barth. Mapletoft, R.J. 1992. Reduced incidence of retained placenta with induction parturition in the cow. *Theriogenology*. 38: 45-61.
- Falconer, D.S. 1981. Introduction to quantitative genetics. 2nd. ed. Longman. Harlow. USA.
- Finkelstein, E., M.J. Lewis, B.E. Gillespie, T.L. Ingle, J.K. Miller & S.P. Oliver. 1992. Health of periparturient cows associated with vitamin E and selenium administration during nonlactating period. *J. Dairy Sci.* 75: Supplement 1. 195.
- Grunert, E., D. Ahlers & W. Heuwieser. 1989. The role of endogenous estrogens in the maturation process of the bovine placenta. *Theriogenology*. 31: 1081- 1091.
- Gunnink, J.W. 1984. Retained placenta and leukocyte activity. *Vet. Quart.* 6: 49-51.
- Heuwieser, W., J. Woicke, E. Grunert & R. Ehlert. 1986. Significance of chemotactic activity and leukocyte infiltration of placental tissue for the expulsion of the fetal membranes in cattle. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 99: 127-130.
- Hudson, G.F.S. & L.D. Van Vleck. 1984a. Inbreeding of artificially bred dairy cattle in the northeastern United States. *J. Dairy Sci.* 67: 161-170.
- Hudson, G.F.S. & L.D. Van Vleck. 1984b. Effects of inbreeding on milk and fat production, stayability, and calving interval of registered Ayrshire

- cattle in the northeastern United States. *J. Dairy Sci.* 67: 171-179.
- Joosten, I., P. van Eldick, Elving & G.J.W. van der Mey. 1991a. Factors affecting occurrence of retained placenta in cattle. Effect of sire on incidence. *Anim. Reprod. Sci.* 25: 11-22.
- Joosten, I., M.F. Sanders & E.J. Hensen. 1991b. Involvement of major histocompatibility complex class I compatibility between dam and calf in aetiology of bovine retained placenta. *Animal Genetics*. 22: 455-463.
- Kankofer, M., M. Hoedemaker, H.A. Schoon & E. Grunert. 1994. Activity of placental 15-hidroxy-prostaglandin dehydrogenase in cows with and without retained fetal membranes. *Theriogenology*. 42: 1311-1322.
- Kelsey, J.L., W.D. Thompson & A.S. Evans. 1986. *Methods in observational epidemiology*. Oxford University Press. New York.
- Low, B.G., P.J. Hansen, M. Drost & J. Gogolin-Ewens. 1990. Expression of major histocompatibility complex antigens on the bovine placenta. *J. Reprod. Fert.* 90: 235-243.
- Miglior, F., E.B. Burnside & J.C. Dekkers. 1995. Nonadditive genetic effects and inbreeding depression for somatic cell counts of Holstein cattle. *J Dairy Sci.* 78: 1168-1173.
- Noordhuizen, J.P.T.M. & J. Buurman. 1984. Veterinary automated management and production control programme for dairy farms (VAMPP), the application of MUMPS for data processing. *Veterinary Quarterly*. 6: 62-77.
- Rasmussen, F.E., M.C. Wiltbank, J.O. Christensen & E. Grummer. 1996. Effects of fenprostalene and estardiol-17 $\beta$  benzoate on parturition and retained placenta in dairy cows and heifers. *J. Dairy Sci.* 79: 227-234.
- Roberts, S.J. 1986. *Veterinary obstetrics and genital diseases*. 3th Edition. Edwards Brothers, Inc. Michigan, U.S.A.
- Roitt, I.M. 1991. *Essential immunology*. 7<sup>th</sup> Edition. Balckwell Scientific Publications. Oxford. England.
- Romero, J.J. & E. Pérez. 1999. Retención de membranas fetales: caracterización y definición de los factores de riesgo para hatos lecheros de tres zonas de Costa Rica. *Ciencias Veterinarias*. 22: 71-86.
- Ruiz, A., A. Tewolde, F. Holman, P. Ferreira, D. Vogt & B. Vargas. 1996. Determinación de niveles críticos y efectos de consanguinidad sobre características reproductivas y de crecimiento en ganado Romosinuano bajo condiciones de trópico húmedo. No publicado.

- SAS/STAT. 1990. User's guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- SAS/STAT. 1996. Software: Changes and enhancements for release 6.12. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Sevinga, M., T. Vrijenhoek, J.W. Hesselinks, H.W. Barkema & A.F. Groen. 2004. Effect of inbreeding on the incidence of retained placenta in Friesian horses. *J Anim Sci.* 82: 982-986.
- Wegmann, T.G. 1988. Maternal T cells promote placental growth and prevent spontaneous abortion. *Immunol Lett.* 17: 297-302.
- Wright, S. 1932. The roles of mutation, inbreeding, crossbreeding and selection in evolution. *Proc. 6th Int. Cong. Genet.* 1: 356-366.
- Younquist, R.S. 1997. Current therapy in large animal theriogenology. W.B. Saunders Co. Philadelphia, USA.