



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

MAESTRIA EN CIENCIAS VETERINARIAS

MENCIÓN: SALUD ANIMAL

**UTILIZACIÓN DEL METRICHECK™ PARA EL
DIAGNÓSTICO DE LAS ENDOMETRITIS EN BOVINOS
LECHEROS**

Autor
Vet. Sebastián, Recce

TESIS DE MAESTRIA en Ciencias Veterinarias

Esperanza
2013



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

MAESTRIA EN CIENCIAS VETERINARIAS
MENCIÓN: SALUD ANIMAL

**UTILIZACIÓN DEL METRICHECK™ PARA EL
DIAGNÓSTICO DE LAS ENDOMETRITIS EN BOVINOS
LECHEROS**

Autor
Vet. Recce, Sebastián

Director: Dr., MSc., Vet. Signorini, Marcelo

Co-Director: MSc., Vet. Russi, Norma

Vice-Director: Dr., Microb. Massera, Ariel

Miembros del Tribunal de Tesis:

MSc M.V. Bertero, Jorge

Dr. M.V. Patiño, Exequiel

MSc M.V. Romano, Gabriela

Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias Veterinarias

Esperanza
2013

DEDICATORIA

A mis padres, *Alejandro y Teresa*, por la incansable e inmensurable dedicación en nuestra educación, que forjaron en mis hermanos y en mí, para que seamos, ante todo, personas de bien.

A mi esposa *Natalia* e hijo *Bautista*, por entenderme y ayudarme en mi profesión que siempre anhelé.

A mis Hermanos *María, Alejandro y Hugo* y Toda mi *Familia*, que junto con mis padres, vivieron, me ayudaron y hasta padecieron mis momentos difíciles en todo mi proceso de formación.

A todos mis *Amigos*, que Gracias a Dios son muchos y están siempre presentes.

A la MSc Med Vet. *Viviana Orcellet* por ofrecerme la oportunidad de ser su Ayudante de Cátedra, que fue el prelude de mi dedicación a la docencia.

Al Vet. *Fernando Boris* por brindarme y enseñarme mis primeros pasos en la profesión y sobre todo por su amistad y confianza.

AGRADECIMIENTOS

A mi Director, Co-directora y Vice-director: Dr., MSc., Vet. *Marcelo, Signorini*; MSc., Vet. *Norma Russi* y al Dr., Microb. *Ariel Massera* por aceptarme como tesista y dedicar su valioso tiempo en mi formación.

A los *miembros del jurado*, por su tiempo y considerables aportes para enriquecer la tesis.

Al Dr. *Luis Calvino*, por facilitarme el encuentro con mis directores para la formación del equipo de trabajo que se ha generado.

A los *peones y propietarios* de los establecimientos donde se efectuó el trabajo de campo, por su valioso tiempo y dedicación al proyecto.

A la Vet. *Natalia Garbe*, Prof. *Alejandra Sahda*, alumna *Nadia Faba* y al Sr. *Daniel Mochales*, por su predisposición para colaborar en la investigación.

A la *Facultad de Ciencias Veterinarias* de la Universidad Nacional del Litoral, por permitirme ser parte de esta gran familia, en la que el trabajo diario de todos sus miembros, manifiesta a la sociedad que la educación es la mejor herramienta para el desarrollo de una nación.

INDICE GENERAL:

	PÁGINA
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Hipótesis	6
1.2. Objetivo General	6
1.3. Objetivos Específicos	6
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	7
2.1. Comportamiento Reproductivo de las Vacas Lecheras	7
2.2. Factores Predisponentes de Endometritis	12
2.3. Microbiología Uterina	16
2.4. Principales Métodos Diagnósticos de Endometritis	19
2.5. Metrichек tm	21
3. MATERIALES Y MÉTODOS	24
3.1. Animales Muestreados	24
3.2. Toma de Muestras	25
3.3. Aislamiento e Identificación de los Microorganismos	26
3.4. Análisis Estadístico	28
4. RESULTADOS	29
4.1 Análisis Descriptivo	29
4.2. Análisis Bivariado	30
4.3. Regresión Logística	32
4.4. Aislamiento Bacteriológico	34
5. DISCUSIÓN	45
6. CONCLUSIONES	55
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

INDICE DE TABLAS:

PÁGINA

1. Factores de Riesgo asociados a endometritis bovina expresados en <i>Odds Ratio</i> _____	12
2. Clasificación de las bacterias según su potencial patógeno esperado en el útero _____	17
3. Factores identificados a priori como potencialmente asociados con la presentación de endometritis con grado > 2 _____	31
4. Variables asociadas a endometritis sometidas a regresión logística _____	32
5. Detalle de los aislamientos bacterianos hallados a partir de las muestras obtenidas _____	35
6. Grados de endometritis y aislamientos anaerobios facultativos _____	36
7. Grados de endometritis y aislamientos anaerobios _____	37
8. Microorganismos anaerobios facultativos hallados en las muestras _____	38
9. Principales microorganismos anaerobios identificados _____	39
10. Asociaciones entre bacterias anaerobias facultativas y endometritis >2 diagnosticada con el Metricheck tm _____	40
11. Asociaciones entre bacterias anaerobias y endometritis >2 diagnosticada con el Metricheck tm _____	41
12. Asociaciones entre tipo de microorganismos y factores de riesgo _____	42
13. Asociaciones entre microorganismos anaerobios facultativos y anaerobios _____	43

INDICE DE FIGURAS:

	PÁGINA
1. Clasificación de endometritis de acuerdo a su contenido _____	<u>15</u>
2. Metricheck tm . Herramienta de uso veterinario para el diagnóstico de endometritis bovina _____	<u>22</u>

INDICE DE GRÁFICOS:

	PÁGINA
1. Grados de endometritis diagnosticado con el Metricheck tm _____	<u>29</u>
2. Número de vacas con y sin aislamiento bacteriológico _____	<u>34</u>

RESUMEN

Palabras Claves: Endometritis- Diagnóstico- Metrichecktm- Reproducción

El objetivo de esta tesis fue correlacionar el diagnóstico clínico a campo de endometritis con Metrichecktm con las pruebas estándar de aislamiento bacteriológico para microorganismos anaerobios facultativos y anaerobios y factores asociados a endometritis. Se tomaron 152 muestras uterinas para cultivo microbiológico (anaerobios facultativos y anaerobios) y diagnóstico de endometritis empleando Metrichecktm.

El 70% de las vacas no presentaron ningún tipo de anormalidades en el flujo uterino o mostraron un grado leve de endometritis. Las endometritis con grado mayor a dos estuvieron asociadas a partos distócicos (*Odds Ratio*=OR= 9,6), retención de membrana fetales (OR= 4,4) y vacas melliceras (OR= 5,1).

El 67% de las muestras presentaron crecimiento bacteriológico. Dentro de estos los anaerobios facultativos representaron el 92,16%, los anaerobios el 1,96% y las muestras con infecciones mixtas un 5,88%. Entre los primeros, *Escherichia coli* y los Estreptococos α - hemolíticos y dentro de los anaerobios *Clostridium* spp., fueron los agentes aislados en mayor proporción. La presencia de endometritis no estuvo asociada con el aislamiento de ningún microorganismo en particular.

El registro de los factores de riesgo, la revisión sistemática postparto y la utilización de herramientas que facilitan la inspección (Ej.: Metrichecktm) son aspectos relevantes a considerar para emitir un diagnóstico certero de endometritis y luego aplicar medidas de profilaxis y/o curativas.

ABSTRACT

Title: Use of Metrichcektm for the diagnosis of endometritis in dairy cattle

The objective of this thesis was to correlate the endometritis clinical diagnosis conducted in the field using Metrichcektm with bacterial standard tests for isolation of facultative anaerobic and anaerobic microorganisms and to identify factors associated with endometritis. A total of 152 uterine samples were taken in order to be analyzed by microbiological culture (aerobic and anaerobic) and by endometritis diagnosis conducted using Metrichcektm.

Seventy percent of the cows did not show any kind of abnormalities in the uterine discharge or showed a mild grade of endometritis. Endometritis which grade was higher than two were linked with difficult births (Odds Ratio=OR= 9.6), retained fetal membranes (OR= 4.4) and cows with multiple pregnancy (OR= 5.1).

Bacterial growth was showed by the 67% of the uterine samples, facultative anaerobic representated the 92.16%, anaerobic the 1.96% and mix infections were a 5.88%. The greater proportion of isolated pathogens within aerobics were *Escherichia coli* and α -hemolytic streptococci while *Clostridium* spp. were the most isolated into the anaerobic bacteria group. Endometritis presence was not linked to the isolation of any particular microorganism.

Risk factors registration, systematic postpartum review and using tools that facilitate the inspection (Metrichcektm) are important aspects to consider issuing an accurate diagnosis of endometritis and implementing prophylaxis and / or healing.

Key Words: Endometritis- Diagnosis- Metrichcektm- Reproduction

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, Argentina ha sufrido, por causas diversas, una serie de situaciones que llevaron al aumento de la superficie destinada al sector agrícola en detrimento de la producción ganadera en general y de la producción láctea en particular. Esto se tradujo en el cierre de establecimientos productores de leche de pequeña escala y al aumento de establecimientos de mayor tamaño, los que incrementaron el volumen de leche producido según datos del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación Argentina (2011). También se observó una reducción en la proporción de sistemas de producción de leche bajo condiciones estrictamente pastoriles, con escasa suplementación y simultáneamente se registró un aumento de explotaciones con mayor intensificación (incremento en la carga animal por hectárea y mayor suplementación estratégica). Al respecto, se observa que el incremento de la carga animal se produjo por una disminución de la superficie ganadera y no por un aumento en el número de cabezas. La menor oferta forrajera hizo necesaria la suplementación nutricional para lograr buenos parámetros productivos por animal. Dicha suplementación se basó en productos de la agricultura, principalmente grano y silaje de maíz (Melo, 2004). Todo lo mencionado le demanda a los actuales sistemas productivos incrementar su eficiencia para competir con el avance de la frontera agrícola (Schneider y Comerón, 2002).

Bajo el actual contexto, en un sistema de producción lechera existen una serie de factores que deben estar concatenados para el éxito del mismo. Uno de estos factores es la reproducción del ganado lechero. Las vacas deben parir a intervalos que permitan maximizar la producción lechera del rodeo y la producción individual en toda la vida de

la vaca (Forero, 2004). Dentro de tales factores, el comportamiento reproductivo de las vacas en el postparto (PP) juega un importante papel en el éxito reproductivo del rodeo y, por tanto, influye en la producción y el beneficio económico de la empresa agropecuaria. Este comportamiento ha sido evaluado a través de parámetros específicos como el Intervalo entre Partos (IEP), el cual es calificado como uno de los más importantes. El IEP considerado óptimo en el ganado bovino está comprendido entre los 12 y 13 meses, período durante el cual se obtiene la producción máxima de los animales (Forero, 2004) desde el punto de vista reproductivo.

Cuando los IEP son muy largos provocan disminución en la producción de leche en lactancias subsecuentes debido a una excesiva involución de la glándula mamaria entre partos. Es sabido que periodos secos e intervalos entre partos muy largos pueden resultar en vacas sobrecondicionadas, lo que conduce a la presentación de desórdenes metabólicos y baja producción de leche (Smith y Guthrie, 1995; Correa Cardona, 2004). Además, esta situación implica el aumento en los costos de alimentación y mantenimiento de vacas en períodos poco productivos. Los animales con IEP largos tienden a acumular grasa corporal en exceso, lo que puede ser factor de riesgo para la presentación de diferentes disturbios durante el parto o luego del mismo (partos distócicos, retención de placenta y cetosis, entre otras). Por otro lado, IEP muy cortos (< 12 meses) impiden la recuperación óptima y la reparación del tejido glandular de la ubre para iniciar una nueva lactancia lo que implica pérdidas apreciables en la producción (Forero, 2004).

Uno de los objetivos clave que persigue un sistema de producción lechera es lograr la máxima cantidad de terneras de reposición y disminuir el intervalo

generacional; siendo ambos aspectos de suma importancia en un programa de mejoramiento genético. Es decir, se podría realizar una intensa presión de selección sobre el rodeo, descartando animales que no satisfacen las necesidades del sistema, acrecentando además los terneros para invernada (Forero, 2004).

En programas reproductivos, las fallas en la concepción ocasionadas por una baja tasa de detección de celos, factores nutricionales, medioambientales e infecciosos, generan pérdidas económicas para el productor debido a IEP muy largos, incremento en el número de días abiertos, mantenimiento y alimentación de vacas en períodos de baja productividad, gastos en semen y servicios profesionales adicionales. Los días abiertos en vacas normales están compuestos por el puerperio fisiológico y el período de espera voluntario. Los primeros son los días necesarios para que el útero involucre y aparezca un primer celo después del parto, mientras que el segundo es un periodo que no es menor a 45 días y que no debería superar los 60 días. El llamado periodo de espera voluntario no puede ser modificado sustancialmente ya que responde a variables fisiológicas. Además existen otros componentes de los días abiertos originados en fallas en la detección de celos y en la concepción, lo cual implica en ambos casos, adicionar 21 días del nuevo ciclo estral a los días abiertos y por ende no obtener el IEP ideal.

Entre estos factores que afectan la performance reproductiva de las vacas lecheras, uno importante son las infecciones que sufre el útero en los periodos posteriores al parto. La endometritis es la inflamación del útero que involucra al endometrio, los tejidos glandulares subyacentes y las capas musculares. La endometritis implica a menudo la acumulación de líquido dentro del útero y la supresión del ciclo estral (Eilts, 2004).

Las pérdidas financieras asociadas con la infección uterina dependen de los costos de los tratamientos, la producción reducida de leche y la infertilidad. En el Reino Unido, los costos directos de tratamiento y producción reducida de leche de una vaca con enfermedad uterina son aproximadamente de €91, estimando una pérdida de 300 litros de leche en promedio por lactancia (Esslemont y Kossaibati, 2002). Los costos indirectos de un largo IEP debido a la mayor tasa de sacrificio, las inseminaciones extra y menor expresión del celo son de €101 por vaca, dando un total de €192 por animal debido a endometritis (Sheldon *et al.*, 2008). De la misma forma, se ha estimado que los productores pueden perder entre 0,5 a 2 dólares por vaca por cada día abierto, representados en mantenimiento, tratamientos y alimentación adicional (Forero, 2004).

Como se mencionara con anterioridad, dentro de los problemas que ocasionan un incremento del IEP, toman relevancia las enfermedades que sufre el útero a partir del parto. Diferentes estudios ponen en evidencia que la infección uterina podría afectar el eje hipotálamo-hipófisis-ovario, resultando en una ovulación retrasada luego del parto, una prolongada fase lútea o en menores concentraciones de estradiol plasmático (Sheldon *et al.*, 2002). Las infecciones uterinas retrasan la involución postparto del útero, prolongan el tiempo necesario para el reinicio de la actividad ovárica cíclica, aumentan el número de servicios por concepción y consecuentemente prolongan el IEP. Las infecciones uterinas no tratadas obligan al productor a descartar vacas que de otra manera podrían ser fuente de producción de leche y vaquillonas de reposición. Se calcula que en vacas con endometritis la tasa de concepción es aproximadamente 20 % inferior y el IEP es 30 días mayor dando como resultado un aumento del 3 % en los animales desechados por falla reproductiva (LeBlanc *et al.*, 2002; Sheldon *et al.*, 2006)

Por lo expuesto, se debe lograr que los animales tengan un puerperio óptimo, controlando rápidamente los factores de riesgo asociados a endometritis e implementando el diagnóstico y tratamiento precoz de las patologías uterinas. Palmer (2007) afirma que en la actualidad, el diagnóstico positivo de endometritis debe basarse en la presencia de uno o más de los siguientes signos clínicos: 1) descargas uterinas anormales visibles en la vulva; 2) por examen con vaginoscopio dentro de las 3 a 6 semanas posteriores al parto para la observación del contenido uterino; 3) ciclos estrales irregulares y 4) fallas para quedar preñada en un período determinado (Sheldon *et al.*, 2006). A nivel de campo es sabido que existe una necesidad imperiosa de diagnosticar rápidamente los problemas reproductivos. Aunque existen herramientas para tales fines, que se describirán en el presente trabajo en forma breve, éstas no son utilizadas rutinariamente por los veterinarios en la revisión de los animales. Es por ello, que se necesita incorporar nuevas técnicas para suplir esta demanda.

En los últimos años se ha desarrollado una novedosa herramienta denominada METRICHECKtm (SIMCRO, Nueva Zelanda). Aunque es usada en países como Nueva Zelanda, se carece de datos de su implementación y evaluación en la Argentina. Su diseño consiste en una simple varilla de acero inoxidable que en un extremo posee un dispositivo de caucho. Dicho dispositivo, se introduce a través de la vulva para coleccionar contenido uterino para su apreciación a simple vista y emitir un diagnóstico a campo de endometritis.

1.1 HIPÓTESIS:

El diagnóstico clínico a campo de las endometritis, mediante el empleo de herramientas como el Metrichcektm, conjuntamente con la identificación de factores de riesgo asociados a la presentación de esta enfermedad, colaborarán en la obtención de los resultados reproductivos ideales en una empresa tampera.

Se han establecido los siguientes objetivos en esta investigación:

1.2 OBJETIVO GENERAL:

Correlacionar el diagnóstico clínico a campo de endometritis con Metrichcektm con las pruebas estándar de aislamiento bacteriológico para microorganismos (anaerobios facultativos y anaerobios) y factores asociados a endometritis.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Estimar la prevalencia de endometritis bovina en los establecimientos donde se realizará el estudio.
- Estimar la prevalencia de los diferentes microorganismos aislados independientemente del grado de endometritis que presenten los animales.
- Correlacionar los microorganismos aislados con el grado de endometritis de los animales diagnosticados con el Metrichcektm.
- Identificar los factores asociados a la presencia de endometritis.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Comportamiento reproductivo de las vacas lecheras

El comportamiento reproductivo de las vacas en el postparto (PP) juega un importante papel en el éxito reproductivo del rodeo y, por tanto, influye en la producción y el beneficio económico de la empresa tambera. El Intervalo entre Partos (IEP) es considerado como uno de los parámetros más importantes para lograr ese éxito reproductivo (Forero, 2004). Sabiendo que el IEP óptimo se encuentra entre los 12 y 13 meses, todos los esfuerzos tienen que dirigirse para lograr ese objetivo.

Existen muchos factores que impactan negativamente sobre IEP extendiéndolo más allá de los 13 meses. Dentro de los más relevantes se menciona la endometritis y es por ello que su diagnóstico y el control de sus factores de riesgos, tales como la retención de membranas fetales, la hipocalcemia, los partos distócicos y de mellizos, el prolapso uterino (Smith y Risco, 2002) son claves para lograr un óptimo IEP.

En un trabajo de Boscán *et al.* (2010), sobre el perfil de la flora bacteriana vaginal, se citan diferentes autores que describen que la vagina es un órgano que posee diversas funciones: es el conducto excretor del útero, órgano femenino del coito y conducto del parto; su permeabilidad permite el paso de medicamentos, tiene capacidad inmunitaria y actúa como medio de depuración o defensa contra los microorganismos (Hafez y Hafez, 2002; Sheldon, 2004; Alba y Silveira, 2006). La vagina, al igual que la vulva y el cervix, presentan diferentes barreras de protección contra las bacterias que ascienden al tracto genital, siendo cada uno de estos órganos una barrera física. A su vez, el moco secretado actúa como barrera fisiológica; mientras que la invasión de polimorfonucleares describe una barrera inmune en respuesta a los desafíos bacterianos,

generando procesos inflamatorios que son la última defensa del aparato genital ante la invasión microbiana (Ababneh y Degefa, 2006).

La vagina de varias especies de mamíferos, entre ellas la vaca (*Bos taurus-indicus*), la oveja (*Ovis aries*), la cabra (*Capra hircus*), la perra (*Canis familiaris*) y la mujer (*Homo sapiens*), presentan una flora microbiana mixta, compuesta por microorganismos aerobios, anaerobios facultativos y anaerobios estrictos (Ross, 2003). Esta variedad de microorganismos incluye a los saprófitos, patógenos potenciales y oportunistas. Bajo condiciones saludables, el ambiente de la vagina bovina no permite la proliferación excesiva de microorganismos patógenos o saprofitos potencialmente patógenos (Otero *et al.*, 2000), debido a que este ambiente sufre variaciones en cuanto a temperatura, humedad, pH, presencia de nutrientes, sustancias inhibitorias, entre otras (Fernández Martínez *et al.*, 2006).

La inflamación del endometrio se inicia comúnmente al momento del parto. En condiciones normales, los animales son resistentes a las infecciones uterinas durante el estro debido al incremento del flujo sanguíneo y aumento de defensas celulares y humorales, propiciada por altos niveles de estrógenos circulantes (Jiménez y Hernández, 1995). Si la fertilización ocurre satisfactoriamente sin presencia de agentes patógenos durante la gestación, el proceso de infección uterina se inicia una vez desencadenado el parto. Por tales razones, la endometritis está asociada directamente con la higiene y el estrés sufrido por el animal al momento de parir (Ferguson, 1993), lo que se reflejará en un alargamiento del IEP. El útero de todas las vacas se contamina con bacterias después del parto pero esto no implica necesariamente infección, ni desarrollo de enfermedad uterina (Azawi, 2008). Las vacas normalmente logran controlar esta contaminación y

las infecciones más severas en el transcurso de la involución del útero, pero si la contaminación se traduce en infección y ésta persiste, se desarrollará enfermedad uterina (Lewis, 1997). Asimismo, es poco frecuente que la involución uterina progrese bajo la forma de un proceso aséptico. Lo que normalmente se observa es una infección espontánea caracterizada por un crecimiento bacteriano masivo que se ve favorecido por la presencia de los loquios. Por lo tanto, se debe diferenciar entre contaminación uterina e infección uterina. Para que haya infección debemos estar en presencia de adherencia a la mucosa de organismos patógenos, colonización o penetración de los mismos en el epitelio y/o liberación de toxinas bacterianas (Sheldon *et al.*, 2008).

Desde hace muchos años, se ha investigado sobre los microorganismos que residen temporal o permanentemente en el tracto genital de la hembra bovina, siempre con el interés de hacer lo más rentable posible la vida útil de la vaca, tanto productiva como reproductivamente (Sheldon *et al.*, 2002). Por ser el útero el órgano donde se facilita la gestación, ha existido gran interés en conocer qué tipo de microorganismos pueden ejercer alteraciones en la homeocinesis uterina (Sheldon, 2004). Es así como surge la necesidad de identificar estos microorganismos y dar respuestas clínicas y terapéuticas, en el momento oportuno a una vaca que presente un proceso infeccioso que repercuta en su producción y reproducción.

Las enfermedades uterinas postparto más comunes son: endometritis, metritis y piómetra. El criterio de diagnóstico varía de acuerdo a los investigadores y a pesar que se han hecho esfuerzos por estandarizar los conceptos estos han sido infructuosos (LeBlanc *et al.*, 2002; Sheldon *et al.*, 2006; Azawi, 2008). Se afirma que *metritis* es el proceso inflamatorio que afecta todas las capas del útero: endometrio, submucosa, muscular y serosa (Bondurant, 1999). Según los signos clínicos se puede clasificar

como metritis puerperal y metritis clínica (Sheldon *et al.*, 2006). Un caso de metritis puerperal se define como una vaca con el útero anormalmente agrandado y con descarga uterina acuosa, fétida y de color marrón rojizo, asociada con signos de enfermedad sistémica tales como disminución de la producción, depresión y fiebre, dentro de los 21 días postparto. Por otro lado, un caso de metritis clínica se define como una vaca que no tiene signos de enfermedad sistémica, pero tiene un útero anormalmente agrandado y descarga uterina purulenta detectable en la vagina dentro de los 21 días postparto. (Lewis, 1997; Lewis *et al.*, 2006). Por su parte, la *endometritis* es la inflamación superficial del endometrio, que no se extiende más allá del estrato esponjoso y los tejidos glandulares subyacentes, con evidencia histológica de inflamación (Sheldon *et al.*, 2006). Este proceso es caracterizado por cambios degenerativos en el epitelio superficial, congestión vascular con edema en el estroma y migración de neutrófilos y otras células inflamatorias al área afectada (Földi *et al.*, 2006). Durante el período puerperal el 90% de las vacas desarrollan una endometritis moderada. En la mayoría de las vacas, los mecanismos de defensa locales logran eliminar la infección y el problema se resuelve en unos días. No obstante, puede desencadenarse un cuadro de endometritis clínica cuando la infección persiste por más de 21 días (Sheldon, 2004), por ejemplo, como consecuencia de una metritis aguda donde se mantiene la infección. Clínicamente la endometritis está caracterizada por la presencia de exudado purulento o mucopurulento en la vagina 21 días o más después del parto. Se le asocia frecuentemente con retardo en la involución uterina y no está acompañada de signos clínicos sistémicos (Sheldon *et al.*, 2006). Cabe recalcar que diagnosticar un animal con endometritis clínica antes de 21 días postparto podría incluir a animales que tienen la capacidad de resolver espontáneamente la contaminación bacteriana. Además, la

eliminación normal de loquios puede dificultar el diagnóstico en este período de tiempo (LeBlanc *et al.*, 2002).

En cuanto, la *piómetra*, es un proceso caracterizado por la acumulación de material purulento o mucopurulento dentro del lumen uterino en presencia de un cuerpo lúteo activo. Debido a la presencia de progesterona luteal, el cérvix se encuentra cerrado (Sheldon *et al.*, 2006), aunque en algunos casos el lumen no está ocluido completamente y se puede observar descarga purulenta de la vagina (Sheldon *et al.*, 2004). En el caso de la piómetra, a la palpación rectal los cuernos uterinos se hallan agrandados por el contenido. Es importante realizar la diferenciación con la preñez antes de aplicar tratamiento. La mayoría de las veces, la piómetra se presenta como secuela de la endometritis. Cuando las vacas con este problema ovulan, desarrollan un cuadro de piómetra, por esta razón es detectada casi exclusivamente en vacas con un cuerpo lúteo activo, a partir de los 21 días postparto (Földi *et al.*, 2006).

La involución uterina (puerperio) es un proceso dinámico que se sucede alrededor de los 30 a 50 días PP, siendo más demorado en vacas multíparas que en vaquillonas de primer parto. El puerperio normal es un proceso indiscutiblemente de carácter séptico durante el cual el útero está sujeto a sufrir infecciones por la penetración de diversos patógenos. Sin embargo, las infecciones tienden a ser autolimitantes y su presencia y duración dependen de factores tales como: estado inmunológico de los animales, virulencia de los organismos involucrados, retención de membranas fetales, infecciones secundarias, partos distócicos y presencia de enfermedades metabólicas (Forero, 2004).

2.2. Factores predisponentes de endometritis

Existen diferentes elementos que han sido asociados con la probabilidad de infección uterina (factores de riesgo). Forero (2004) reporta lo que Ferguson (1993) publicó en forma esquemática sobre los factores de riesgos asociados a endometritis y que se muestran en la tabla 1.

Alteración:	Razón de Productos Cruzados para Endometritis:
Fiebre de leche	1,5
Distocia	3,0
RMF(1)	5,8
Ternero nacido muerto	3,0
Mellizos	2,0

Referencias: (1) Retención de membranas fetales.

TABLA 1. Factores de Riesgo asociados a endometritis bovina expresados en *Odds Ratio* (Ferguson, 1993).

Los números en las celdas representan la Razón de Productos Cruzados (*Odds Ratio* OR), una medida usada en epidemiología que describe cuánto más riesgo tiene un animal de presentar una condición dado que se expuso a una determinada variable. Si el

Odds Ratio es <1 el factor es protector, si es >1 es un factor asociado con la presentación de la enfermedad. Por ejemplo, aquellas vacas que presentan fiebre de leche tienen 1,5 veces más probabilidad de presentar endometritis que las vacas que no presentan esta condición.

Las retención de membranas fetales (RMF) es el factor más predisponente para la metritis en el bovino (Smith y Risco, 2002). La mayoría de los reportes definen al diagnóstico positivo como la retención de las membranas por más de 24 horas luego del parto (Smith y Risco, 2005). La incidencia de la metritis PP en vacas con RMF puede ser tan alta como 90 % (Montes y Pugh, 1993). La probabilidad de que una vaca con RMF desarrolle metritis es aproximadamente 6 veces mayor que la de vacas sin esta condición, lo cual es mucho más alto que cualquier otro factor de riesgo estudiado (Tabla 1). La ocurrencia de gestación doble es la mayor causa natural de RMF en bovinos (Smith y Risco, 2005). Los porcentajes de mellizos en Holstein en Estados Unidos y por ende en establecimientos donde se utiliza esta genética, han aumentado en los últimos años debido a la selección para incrementar la producción de leche (Wiltbank *et al.*, 2000). Esta hipótesis se sustenta en que las vacas de alta producción se cree tienen aumentado el porcentaje de metabolismo de las hormonas tiroideas debido a un mayor flujo de sangre en el rumen y en el hígado. El estradiol del folículo dominante es metabolizado demasiado rápido y, por lo tanto, no suprime eficientemente los niveles de la hormona folículo estimulante (FSH). El aumento secundario de la concentración de FSH que ocurre luego de la ovulación es mucho mayor que lo normal, permitiendo que se desarrollen folículos auxiliares, maduren y ovulen (Wiltbank *et al.*, 2000).

Es necesario un endometrio saludable para la nutrición del blastocisto y el embrión y el éxito de una preñez. Esto se obstaculiza cuando luego del parto las contracciones y el tono uterino están significativamente disminuidos, se mantiene el lumen abierto más allá del período normal y en ese lumen se retienen loquios autolíticos, sangre, fluidos fetales, mucus, detritos epiteliales y, frecuentemente, remanentes placentarios (Jubb *et al.*, 1991).

Los fluidos luminales de cualquier estadio pueden sustentar el crecimiento bacteriano en un grado aceptable, siempre que los microorganismos no contacten con el endometrio (adhesión). Aparentemente la resistencia del útero estral depende, en gran medida, de la leucocitosis uterina normal del estro y de su aumento, en forma aguda, en presencia de una infección. Además, la remoción de las bacterias del endometrio y la respuesta fagocítica hacia las mismas está aumentada por el estrógeno y suprimida por la progesterona, lo cual sugiere una influencia hormonal directa en la fagocitosis opsonizante. Es importante destacar que la presencia de algunos leucocitos en el estroma puede generar equivocaciones o errores en el diagnóstico, ya que estos están presentes normalmente a los 2 o 3 días del parto y durante el estro (contrariamente a lo que sucede en la hembra equina que denotan siempre una inflamación). El mejor indicador de endometritis leve es la acumulación de células plasmáticas y la presencia de focos de linfocitos en el estroma (Jubb *et al.*, 1991).

Williams *et al.* (2005) realizaron una clasificación de endometritis que contempla el contenido recolectado del útero y la divide en 4 (cuatro) grados, que van del 0 (cero) al 3 (tres) (Figura 1).

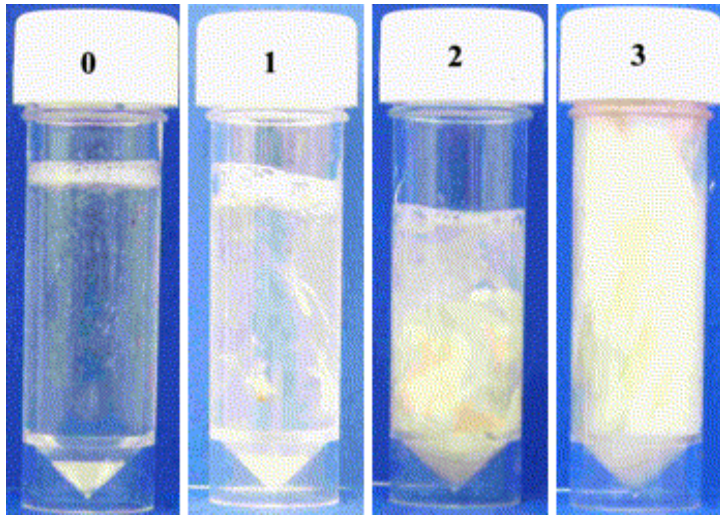


FIGURA 1. Clasificación de endometritis de acuerdo a su contenido (Williams *et al.*, 2005).

Referencias:

Grado 0 = mucus translúcido;

Grado 1 = mucus traslúcidos con pequeños flóculos de material purulento de color blanco;

Grado 2 = menor a 50 ml exudado mucoso con un 50% de material purulento blanco; y

Grado 3 = mayor a 50 ml de exudado purulento, de color blanco o amarillo, muchas veces sanguinolento (hemorrágico) y con olor putrefacto (asociado generalmente con síndrome febril, caída de la producción láctea, y una baja condición corporal).

2.3. Microbiología Uterina

El fluido contenido en el útero de una vaca con endometritis se comporta como un medio de cultivo anaeróbico. El ambiente intrauterino postparto rico en nutrientes ofrece un medio ideal para el desarrollo bacteriano, especialmente en los casos de inercia uterina o depresión de la respuesta inmune local. El número y tipo de bacterias recogidas por cultivo varían con el intervalo desde el parto (Blanch *et al.*, 1992). Es importante recalcar que en muchos casos los microorganismos no patogénicos pueden encontrarse en los cultivos uterinos con o sin signos de inflamación del endometrio. Hay que considerar que no siempre es posible demostrar la existencia de microorganismos en presencia de signos de inflamación, ya que durante los procesos de reparación los microorganismos desaparecen previo a los signos de inflamación o cuando hay microorganismos no siempre pueden ser considerados patogénicos (Blanch *et al.*, 1992).

Como se mencionara, el útero posparto es un buen ambiente para el crecimiento bacteriano ya que se encuentra lleno de líquido, contiene una cantidad variable de tejidos necróticos y una temperatura adecuada para el desarrollo microbiano. En un trabajo de Sheldon *et al.* (2002) se describen las principales bacterias aerobias y anaerobias que se aíslan por cultivo de hisopos uterinos, caracterizándolas de acuerdo a su potencial patógeno esperado en el útero. Dicha categorización se aprecia en la tabla 2. Una gran variedad de bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas, aerobias y anaerobias pueden encontrarse en el útero postparto temprano (Bottarelli *et al.*, 1985). La mayoría de estos contaminantes incidentales son eliminados gradualmente durante las primeras cuatro semanas postparto (Bretzlaff, 1987). Las infecciones generalmente

involucran a *Escherichia coli*, *Arcanobacterium pyogenes* (antiguamente *Actinomyces pyogenes*) y los anaerobios gram negativos *Fusobacterium necrophorum* y *Prevotella melaninogenica* (antiguamente especies de *Bacteroides*) (Murray *et al.*, 1990; Drillich *et al.*, 2001; Földi *et al.*, 2006). La mayoría de las otras bacterias tienden a ser invasores transitorios que producen o no lesiones inflamatorias menores y que no parecen afectar la fertilidad en el futuro (Smith y Risco, 2002).

Reconocidos patógenos uterinos	Potenciales patógenos uterinos	Contaminantes oportunistas uterinos
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Mannheimia haemolytica</i>	<i>Micrococcus</i> spp.
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Proteus</i> spp.	<i>Peptostreptococcus</i> spp.	Estafilococos coagulasa negativos
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Estreptococos α -hemolíticos
	Estreptococos no hemolíticos	<i>Streptococcus acidominimus</i>
		<i>Aspergillus</i> spp.

TABLA 2. Clasificación de las bacterias según su potencial patógeno esperado en el útero (Sheldon *et al.*, 2002).

Las infecciones mixtas de especies *Fusobacterium* y *Prevotella* junto con *A. pyogenes* son comunes (Bretzlaff, 1987) y pueden estar asociadas con los casos de endometritis más severos (Sheldon, 2004). A través de la síntesis de leucotoxinas, inhibidores de la fagocitosis y varios promotores del crecimiento, estas bacterias aumentan el crecimiento unas de otras. Estos tres agentes son las principales causas de endometritis persistentes que han demostrado afectar la fertilidad y por lo tanto, el IEP. Los coliformes de origen gastrointestinal son aislados con asiduidad, pero su importancia verdadera no se conoce y son contaminaciones no muy frecuentes en el tracto genital postparto. Los coliformes comprenden el 36% de las bacterias aisladas en vacas con un periodo postparto normal y tienden a ser encontrados más frecuentemente en el puerperio temprano. En las vacas con síntomas de endometritis, como depresión y descargas uterinas fétidas, los coliformes fueron aislados en el 29% de los casos (Smith y Risco, 2002).

Las especies de *Clostridium* spp. han sido aisladas en el útero de casi todas las vacas postparto (Smith y Risco, 2002). Estos mismos investigadores (Smith y Risco, 2005) han tenido problemas para identificar estas especies, fundamentalmente debido a su estricta naturaleza anaeróbica. Estas bacterias están asociadas con metritis tóxica gangrenosa, la que típicamente termina con la muerte del animal. Algunos establecimientos lecheros han reportado que tienen un gran problema con la patogenicidad de las especies de *Clostridium*, necesitando el uso de programas específicos de prevención y tratamiento (Smith y Risco, 2002). A través de modelos experimentales animales, se ha demostrado que existe sinergismo entre *A. pyogenes* y *Fusobacterium nucleatum*. Esto se debe a que *Fusobacterium* produce una toxina leucocitaria que promueve la propagación de *A. pyogenes* a través de los tejidos produciendo un factor

de crecimiento para el *F. nucleatum* (Noakes *et al.*, 1990 y 1991). Actualmente son escasos los reportes de agentes anaerobios como causantes de endometritis en Argentina.

2.4. Principales métodos diagnósticos de endometritis

El profesional veterinario debe, en primer lugar, reducir los factores de riesgo y luego detectar lo más rápido posible a los animales con patologías uterinas. En la actualidad existe una gama de procedimientos para el diagnóstico de endometritis.

A continuación se nombran y se realiza una breve descripción de las principales herramientas para diagnosticar afecciones uterinas:

- Tacto Rectal: utilizado de rutina en examen de animales para indicar el alta puerperal. Si bien es una herramienta valiosa, es considerado subjetivo para detectar endometritis debido a que la involución uterina varía entre las vacas por numerosos factores (un útero postparto pesa 10 kg aproximadamente y a los 25 días luego del parto 0,80 kg) y muchas endometritis no se detectan con este procedimiento diagnóstico.
- Ecografía Transrectal: se observa un útero aumentado de tamaño, con contenido en su interior que puede ser líquido (anecoico), purulento (hipoecoico) o mucoso (hiperecoico); a mayor concentración celular mayor ecogenicidad. No obstante, este procedimiento no permite la extracción de contenido para analizar en laboratorio y su rapidez y costo no son ventajosos (Ribadu *et al.*, 1994).

- Examen Manual de la Vagina: esta técnica es económica y rápida, proporcionando al mismo tiempo información sensorial, tal como la detección de laceraciones, desgarros y hemorragias. Previo al examen manual se higieniza la vulva con una toalla de papel seca y limpia. La mano enguantada se lubrica antes de su introducción a la vagina. Una vez dentro del aparato reproductor y luego de haber determinado su estado se puede llegar, si es abundante, a retirar moco contenido en la vagina para su examen. Este examen manual de la vagina no causa contaminación bacteriana del útero, ni provoca una respuesta de proteínas de fase aguda, ni afecta al diámetro del cuerno uterino; contrariamente a lo que se pensaba antiguamente (Sheldon *et al.*, 2002). Su inconveniente radica en que el animal debe estar muy bien sujetado y su implementación en animales de primer parto es dificultoso, debido al estrecho canal de parto que suele presentar esta categoría de animales. Si no se sujeta correctamente el animal existe un alto riesgo para el profesional actuante y el animal.

- Vaginoscopio: se lo suele utilizar envuelto en un plástico que se esteriliza en autoclave o se recubre con papel descartable. Otra opción es no recubrirlo con ningún material y se lo esteriliza entre un animal y el siguiente en solución antiséptica (llámese soluciones iodadas o amonios cuaternarios). Con este instrumento se visualiza el moco que se descarga desde el útero a través del cuello hacia la vagina. También con la ayuda de otro instrumento adecuado se podría retirar el contenido vaginal, siempre que el bovino se encuentre bien sujetado (Sheldon *et al.*, 2002). Este instrumento suele presentar las mismas desventajas que la mano enguantada.

- Citología Endometrial: basada en la presencia de células inflamatorias, es una forma aceptada de evaluar la enfermedad uterina en bovinos (Kasimanickam *et al.*, 2005). Las células inflamatorias pueden ser tomadas por dos técnicas: lavado uterino o *cytobrush* (raspado uterino). El lavado uterino consiste en la infusión de 20-60 ml de solución salina al 0,9% dentro del lumen del útero usando una pipeta plástica estéril seguido de un masaje suave del útero antes de la aspiración del fluido a través de la misma pipeta de infusión. Las muestras de fluidos son centrifugadas, se recupera el desecho celular, se realiza un extendido y se analiza en el microscopio después de colorearla con una tinción de Wright-Giemsa modificada (Kasimanickam *et al.*, 2005). El *cytobrush* emplea un pequeño cepillo unido a un mango originalmente diseñado para exámenes de citología cervical en humanos (Kasimanickam *et al.*, 2005). Si bien ambas técnicas son de reconocida sensibilidad, su utilización rutinaria a nivel de campo no se lleva a cabo debido a su poca practicidad.

2.5. Metrichcektm

En los últimos años, en Nueva Zelanda se ha desarrollado una herramienta para el diagnóstico de endometritis bovina a campo, la cual posee poca difusión y evaluación en la Argentina (Figura 2). El **Metrichcektm** (Simcro, Nueva Zelanda) consiste en una varilla de acero inoxidable de 55 cm de longitud que en uno de sus extremos posee un dispositivo en forma de copa de caucho y en el otro extremo una manija de acero (Sheldon y Noakes, 1998). Previa higiene de la zona vulvar se introduce el Metrichcektm por vagina y se toma una muestra del contenido uterino. Al retirar la herramienta

diagnóstica se establece la puntuación de la endometritis clínica a campo y se determina el pronóstico y las probabilidades de éxito del tratamiento en forma inmediata luego de la revisión del animal (Sheldon y Noakes, 1998).



FIGURA 2. *METRICHECKtm*. Herramienta de uso veterinario para el diagnóstico de endometritis bovina.

Una de las ventajas de esta herramienta es la practicidad y rapidez en cuanto al uso en circunstancias donde son muchos los animales a revisar, ya que entre un animal y otro solamente se enjuaga y sumerge en una solución antiséptica. Su costo no es significativo, si se lo coteja frente a un vaginoscopio o un ecógrafo. Asimismo, si se compara con la técnica de la mano enguantada para recolectar muestra vaginal, el Metrichecktm, es más ventajoso porque es más delgado que una mano y, por ende, se reduce la posibilidad de incorporar agentes contaminantes, ya que la superficie que se introduce es menor. Otra de sus cualidades es que prácticamente carece de riesgo para el

animal y el profesional que lo utiliza, ya que se coloca sin ninguna dificultad de una manera rápida.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Animales muestreados

El muestreo de los animales se realizó en cuatro (4) establecimientos de producción de leche. Tres (3) de ellos estaban localizados en la Provincia de Córdoba, de los cuales dos (2) en la ciudad de Tránsito y uno (1) en Arroyito. El cuarto establecimiento se encontraba asentado en el distrito Emilia, departamento La Capital, Provincia de Santa Fe. Los mismos se seleccionaron no por presentar problemas reproductivos, sino por expresa voluntad de los propietarios de colaborar en el trabajo de investigación.

Los establecimientos localizados en la provincia de Córdoba se caracterizaban por poseer 250 vacas en ordeño cada uno, mientras que el de la localidad santafesina contaba al momento de realizar el trabajo con 90 animales en ordeño. La genética en los cuatro (4) establecimientos comprendía, en su mayoría, Holando Argentino y Cruzas (Holando x Jersey) También se encontraban vacas Jersey, pero en número reducido. El promedio anual de producción diaria de leche fue de 19 litros/vaca en ordeño. Los sistemas productivos eran de tipo pastoriles base alfalfa con suplementación estratégica compuesta en su mayoría por maíz, concentrado proteico (pellet o expeler de soja), silo de maíz, silo de sorgo, eventualmente balanceado comercial al 16% de proteína y rollos de alfalfa. Se practicaba inseminación artificial y sincronización de celos con progestágenos sintéticos y protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo. Los dos establecimientos localizados en la localidad de Tránsito presentaban toros de repaso en el lote de vacas secas únicamente, en los lotes en ordeño se inseminaba. En las restantes explotaciones se inseminaba la totalidad de los rodeos, no existiendo la categoría toros.

3.2. Toma de muestras

En todos los establecimientos se comenzó la revisión de los animales *a posteriori* de un período de espera voluntario postparto estandarizado de al menos 40 días. De este grupo se tomaron 152 muestras en forma aleatoria para su análisis en el laboratorio. Además se registraron los datos de anamnesis del animal a revisar, suministrados por el programa de reproducción Protambo Master versión 3.0 creado por la empresa informática DIRSA, el cual brindó la fecha del último parto y si el animal había presentado estro.

Se higienizó la zona vulvar con yodo povidona y papel descartable. Seguidamente se introdujo un hisopo estéril de 45 cm de longitud diseñados comercialmente para la toma de muestras uterinas (Equivet[®], Kruuse). Una vez practicado el hisopado, se introdujo el hisopo en medio de transporte para anaerobios (BBLTM Port-A-CulTM, Becton Dickinson y Co., Nueva Jersey, USA) y se lo envió al laboratorio a temperatura ambiente (15-25°C). Se replicó el procedimiento de toma de muestra con otro hisopo nuevo, el cual fue colocado en un recipiente estéril con medio de transporte de Stuart (Britania Argentina), individualizado, rotulado y refrigerado para su envío al laboratorio para la búsqueda de microorganismos tolerantes al oxígeno (aerobios y microaerófilos).

La logística del muestreo se diseñó para que las muestras llegasen al laboratorio para ser procesadas, antes de las 12 h posteriores al muestreo.

Luego de la toma de muestra con los hisopos estériles se introdujo el Metrichecktm en el aparato reproductor. Seguidamente se retiró y el material recolectado con el instrumento obstétrico en estudio, se observó para realizar su clasificación a

campo del grado de endometritis según el criterio citado por Williams *et al.* (2005), tal como fue citado en la página 15 del presente trabajo. Entre un animal y otro la herramienta diagnóstica se desinfectó en un recipiente con solución antiséptica compuesta por yodo al 10%.

De cada animal se consignó su condición corporal (CC) en escala de uno (1) a cinco (5), el número de lactancia, la composición genética (Holando Argentino, Jersey o sus cruzas), el tipo de parto (normal o distócico), si presentó RMF, mellizos, si la cría nació viva o muerta. Todo esto, a fin de poder establecer factores asociados a la presentación de endometritis.

Las muestras para el aislamiento e identificación de microorganismos aerobios y anaerobios facultativos se procesaron en el Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral (UNL). Mientras que, las muestras para el aislamiento e identificación de microorganismos anaerobios fueron analizadas en el Laboratorio de Sanidad Animal de la Estación Experimental Agropecuaria Rafaela del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).

3.3. Aislamiento e identificación de los microorganismos

Para el aislamiento e identificación de microorganismos anaerobios facultativos se inoculó por deslizamiento del hisopo de cada muestra sobre la superficie de agar Columbia (Britania, Argentina) adicionado con un 5% de sangre desfibrinada ovina y otra sobre una placa de agar Mac Conkey (Britania, Argentina). Las mismas fueron incubadas por 48 h a 37 °C en microaerofilia y aerobiosis, respectivamente. La

identificación bioquímica de los microorganismos aislados se llevó a cabo por métodos estándares (Vadillo Machota *et al.*, 2002; Koneman *et al.*, 2008). Al respecto, los métodos seleccionados para identificación de *A. pyogenes* fueron: desarrollo en medios enriquecidos con sangre a partir de las 48 h de incubación, morfología colonial, estrecha zona nítida de beta-hemólisis, morfología microscópica característica y agrupación al Gram, reacción de catalasa, hidrólisis de gelatina, ureasa, movilidad, esculina, glucosa, xilosa, prueba de hidrólisis de pirrolidonil- β -naftilamida (PYR) (Koneman *et al.*, 2008). Para enterobacterias se utilizaron las técnicas convencionales tales como morfología colonial, Gram, oxidasa, catalasa, reducción de nitratos, fermentación de azúcares, urea, indol, citrato, Voges-Proskauer, rojo de metilo (Koneman *et al.*, 2008).

El aislamiento de los microorganismos anaerobios se llevó a cabo mediante el hisopado de cada muestra sobre la superficie de un medio base no selectivo Agar Columbia o Agar Infusión Cerebro Corazón (Britania, Argentina) adicionado con un 5% de sangre ovina defibrinada, vitamina K. y hemina. Las placas se incubaron durante 48 h a 37 °C en anaerobiosis. La identificación de las bacterias anaerobias aisladas se llevó a cabo siguiendo la metodología propuesta por Quinn *et al.* (1999).

Los aislamientos confirmados, fueron almacenados a -80 °C en caldo cerebro corazón (Britania, Argentina) con un 20% de glicerol.

3.4. Análisis estadístico

El universo de animales estuvo compuesto por 900 vacas lecheras. Con una estimación del 18% de prevalencia de endometritis (LeBlanc *et al.*, 2002), una confianza del 95% y un error estimado del 5%, se muestrearon 152 vacas.

Se analizó la existencia de asociación entre las variables relacionadas con el animal y el sistema productivo con la presencia de endometritis mediante la prueba de χ^2 . Posteriormente se halló el *odds ratio* y su intervalo de confianza 95%, seleccionándose aquellas que dieron una significancia $<0,10$. Aquellas variables asociadas con la presencia de endometritis con una $p < 0,10$ se ofrecieron a un modelo de regresión logística usando un “modelo multivariable forward LR”. Asimismo, se determinó la prevalencia de endometritis diagnosticada con el Metrichcektm y la prevalencia de los agentes etiológicos aislados. También se estableció la correlación entre el diagnóstico clínico a campo con el Metrichcektm y el aislamiento microbiológico en los laboratorios.

Las características de las vacas fueron consignadas y la búsqueda de asociación con los aislamientos se realizó mediante pruebas chi-cuadrado (o Test Exacto de Fisher) usando el programa informático InfoStat versión 2008 (Universidad Nacional de Córdoba).

Finalmente se dieron a conocer los resultados.

4. RESULTADOS

4.1. Análisis Descriptivo

Se muestrearon 152 animales a partir de los 4 rodeos bajo estudio. Aproximadamente el 70% de las vacas que fueron sometidas a revisión posparto presentaron un grado leve de infección uterina (grado 1) o directamente no presentaban ningún tipo de anomalías en el flujo uterino (grado 0) que permitiera diagnosticarlos como patológicos. El resto de las vacas analizadas presentaron grados severos de endometritis (grado 2 y 3) (Gráfico 1).

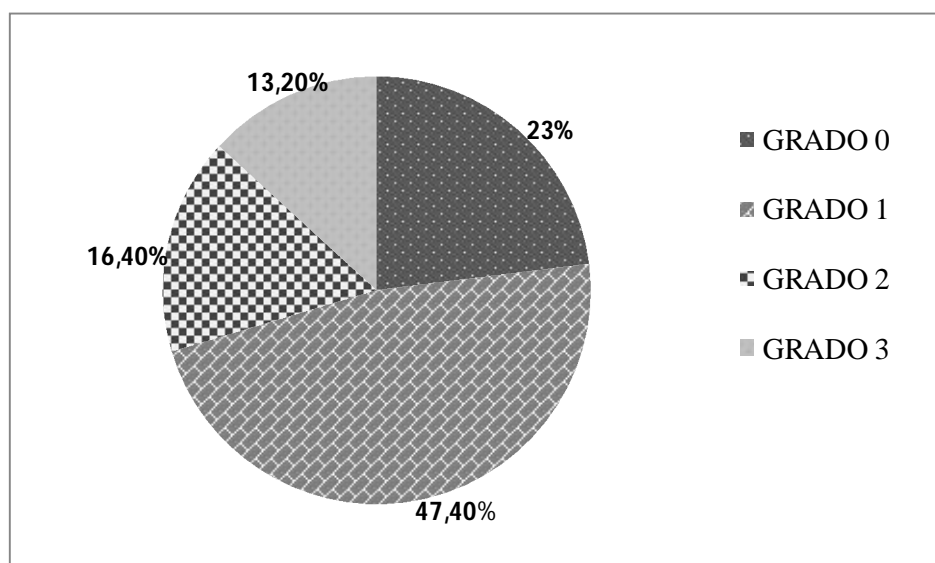


GRAFICO 1. Grados de endometritis diagnosticados con el Metrichcektm.

El rango de lactancias que presentaron los animales muestreados estuvo comprendido entre uno y ocho, siendo la media de tres lactancias. En promedio, las vacas examinadas tuvieron 66 días (rango= 40-250 días) de anestro. La condición corporal, contemplada en escala ordinal de uno a cinco, presentó una mediana de 2,5, mientras que el 95,4% de las vacas presentaron condiciones corporales inferiores a 2,75.

En cuanto al tipo de parto, 143 fueron eutócicos y tan solo 9 distócicos. El sexo de las crías de los animales muestreados comprendió a 90 machos y 56 hembras, mientras que hubo seis vacas que parieron mellizos. Trece fueron las vacas que presentaron retención de placenta; igual número de animales fueron los que parieron crías muertas. La genética estuvo compuesta por 123 animales Holando Argentino, 28 cruza Holando por Jersey y 1 Jersey.

4.2. Análisis bivariado

Asociaciones entre las Características de los Animales y la Presencia de Endometritis.

Todos los factores identificados *a priori* como potencialmente asociados con la presentación de endometritis con grado igual o superior a dos fueron evaluados mediante la prueba chi-cuadrado o prueba exacta de Fisher según el número de eventos presentes. Los resultados se pueden observar en la tabla 3.

De aquellos animales que presentaron partos distócicos (n= 9) el 77,8% presentaron al posparto endometritis de grado dos o tres. El antecedente de haber presentado un parto distócico estuvo asociado significativamente con la presencia de endometritis ≥ 2 (p=0,003), siendo su OR=9,67 (IC 95% 1,92 - 48,61). De esta forma, aquellas vacas que presentaron partos distócicos tuvieron 9,67 veces más riesgo de presentar endometritis ≥ 2 que las vacas con partos normales.

Asimismo, se observó asociación entre el parto de mellizos y la presentación de endometritis (p=0,063). El 66,7% de las vacas melliceras (n=6) presentaron grados de endometritis dos o tres diagnosticada con el Metrichcektm, siendo el *odds ratio* calculado de 5,12 (IC95% 0,90 - 29,05).

También se observó que el 61,5% de las vacas que sufrieron retención de placenta (n=13) presentaron grados de endometritis mayor a dos con un OR=4,4 (IC95% 1,36 - 14,34). Esta asociación fue significativa (p=0,008).

Factores de Riesgo	Condición	Vacas con endometritis ≥ 2	OR (IC 95%)
Condición corporal	>2,5	18 (27,7%)	0,85
	$\leq 2,5$	27 (31%)	
Número de lactancias	primípara	10 (33,3%)	0,80
	multípara	35 (28,7%)	
Retención de placenta	si	8 (61,5%)	4,41 (1,36-14,34)
	no	37 (26,6%)	
Mellizos	si	4 (66,7%)	5,12 (0,90-29,05)
	no	41 (28,1%)	
Tipo de parto	normal	38 (26,6%)	9,60 (1,92-48,61)
	distócico	7 (77,8%)	
Genética	holando	39 (31,7%)	0,56
	holandoxjersey	6 (17,9%)	
Cría viva	muerta	4 (30,8%)	1,06
	viva	41 (29,5%)	

TABLA 3. Factores identificados *a priori* como potencialmente asociados con la presentación de endometritis con grado ≥ 2 .

Por su parte, analizando la tabla 3 se estableció que tanto el número de lactancias, la condición corporal, la genética y si la vaca parió su cría viva, fueron factores que no resultaron significativos, no asociándose a una probabilidad de una endometritis con grado mayor a 2.

4.3. Regresión logística

Las variables que resultaron asociadas en el análisis anterior con un $p < 0,10$ fueron ofrecidas a un modelo de regresión logística, tal como se observa en la tabla 4.

Variable predictiva	β	ES ¹	p=	OR (IC 95%)
Constante	-1,207	0,209	0,001	
Tipo de parto	2,258	0,837	0,007	9,56 (1,853 - 49,377)
Retención de placenta	1,221	0,643	0,058	3,39 (0,961 - 11,960)
Mellizos	1,555	0,919	0,091	4,73 (0,782 - 28,678)

1 Error Estándar.

Referencias: Tipo de parto= Normal; Retención de placenta= No; Mellizos= No.

TABLA 4. Variables asociadas a endometritis con grados ≥ 2 sometidas a regresión logística.

Si bien la única variable que resultó significativamente asociada a la presentación de endometritis con grado igual o superior a dos fue el tipo de parto, las otras dos variables presentaron valores de significancia muy cercanos a 0,05. Aquellas

vacas que sufrieron partos distócicos tuvieron, de acuerdo a los resultados generados por esta tesis, 9,56 veces (IC 95% 1,853 - 49,377) más probabilidades de sufrir endometritis que aquellas vacas con partos normales ($p=0,007$). De la misma forma, vacas que sufrieron retención de placenta o que parieron mellizos tuvieron 3,39 (IC 95% 0,961 - 11,960) y 4,73 (IC 95% 0,782 - 28,678) veces más riesgo de presentar endometritis que aquellas vacas que no tuvieron retención de placenta o que parieron una sola cría, respectivamente.

Los partos melliceros no estuvieron asociados a una mayor frecuencia de partos distócicos ($p=0,091$). De hecho, los seis partos de mellizos fueron normales y no explican los casos de distocias. Sin embargo, las vacas que tuvieron partos distócicos ($n=9$) presentaron posteriormente una mayor proporción de retención de placenta (22,2%) en comparación con aquellas vacas que tuvieron un parto normal (7,7%). Sin embargo, esta asociación no fue estadísticamente significativa ($p=0,173$). Por último, aquellas vacas que parieron mellizos ($n=6$) tuvieron mayor probabilidad de presentar retención de placenta (33,3%) en comparación con vacas cuyos partos no fueron melliceros (7,5%). Si bien se aprecia una tendencia de los partos melliceros a generar retención de placentas como complicación posparto, esta asociación no fue estadísticamente significativa ($p=0,083$). El bajo número de partos distócicos, partos melliceros y retenciones de placentas pudo ser una de las causas por las cuales no fue posible asociar estadísticamente estas variables y explicar la relación existente entre las mismas para poder analizar, a su vez, la relación con el grado de endometritis desarrollado por las vacas.

4.4. Aislamientos Bacteriológicos

En cuanto a los aislamientos bacteriológicos se pudo comprobar que del total de las muestras (n=152) el 67%, (n=102), presentaron crecimiento bacteriano independientemente del tipo de microorganismo interviniente, tal como se aprecia en el Gráfico 2.

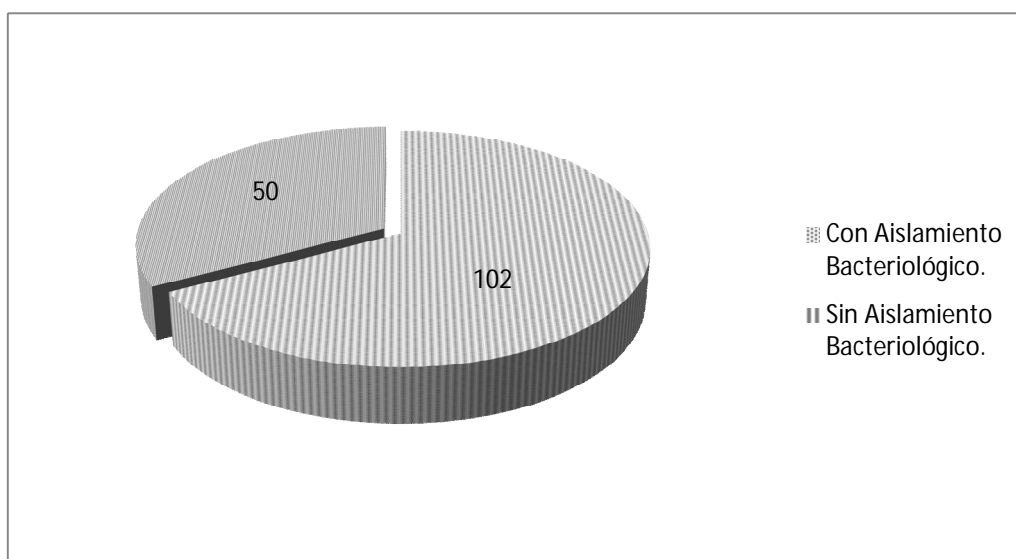


GRÁFICO 2. Número de vacas con y sin aislamiento bacteriológico.

Al observar en detalle los microorganismos aislados en los laboratorios, se pone en evidencia la alta prevalencia de agentes tolerantes al oxígeno en las muestras procesadas y una baja participación de microorganismos con crecimiento estrictamente anaerobio, ya sea solos o en infecciones mixtas con una bacteria aerobia. Dicha

observación se ha volcado en la Tabla 5 donde se describen los números de aislamientos y sus porcentajes.

	Número de aislamientos	Porcentaje de aislamientos
Sin Aislamiento	50	32,9
Aislamiento Anaerobios Facultativos	94	61,8
Aislamientos Anaerobios Facultativos y Anaerobios	6	4
Aislamiento Anaerobios	2	1,3
TOTAL	152	100

TABLA 5. Detalle de los aislamientos bacterianos hallados a partir de las muestras obtenidas.

Se analizaron las relaciones entre los grados de endometritis diagnosticados con el Metrichcektm (grado 0 a 3) y el número de aislamientos microbiológicos de cada grado. Tales resultados se aprecian en la tabla 6 y tabla 7. Como era de esperar, se observaron aislamientos a partir de vacas que presentaban grado mayor a uno de endometritis; pero lo interesante de los resultados observados en la tabla 6, es el desarrollo de microorganismos aun cuando no se evidenció endometritis con el Metrichcektm o cuando los animales presentaban un grado leve de endometritis (grado 1).

Grados de Endometritis diagnosticado con el Metrichcek tm	Aislamiento Anaerobios Facultativos			
	Sin aislamiento	Porcentaje sin aislamiento	Con aislamiento	Porcentaje con aislamiento
Grado 0	18	51,4	17	48,6
Grado 1	21	29,2	51	70,8
Grado 2	7	28	18	72
Grado 3	6	30	14	70
TOTAL	52	34,2	100	65,8

TABLA 6. Grados de Endometritis y aislamientos de anaerobios facultativos.

Respecto a los microorganismos anaerobios, solo se encontraron en ocho animales, lo que corresponde el 5,3% de las 152 muestras enviadas a los laboratorios que intervinieron en el ensayo. Se destaca en la tabla 7 que aproximadamente el 96% de las endometritis grado 0 no presentaron aislamientos de microorganismos anaerobios, encontrándose solo una muestra con crecimiento y grado 0 de endometritis.

Grados de Endometritis diagnosticado con el <i>Metricheck</i> tm	Aislamiento Anaerobios			
	Sin aislamiento	Porcentaje sin aislamiento	Con aislamiento	Porcentaje con aislamiento
Grado 0	34	97,1	1	2,9
Grado 1	69	95,8	3	4,2
Grado 2	22	88	3	12
Grado 3	19	95	1	5
TOTAL	144	94,7	8	5,3

TABLA 7. Grados de Endometritis y aislamientos de anaerobios.

Los principales agentes anaerobios facultativos identificados, su cantidad y porcentajes se detallan en la tabla 8. En la misma se observa que tanto *Escherichia coli*, como los estreptococos α - hemolíticos fueron los microorganismos aislados con mayor frecuencia en las muestras endometriales de vacas posparto.

Microorganismo aislado	Número de aislamientos	Porcentaje de aislamientos
<i>Escherichia coli</i>	51	33,6
Estreptococos α -hemolíticos	32	21
Estreptococos no hemolíticos	10	6,6
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	8	5,3
Estreptococos β -hemolíticos	6	3,9
<i>Enterobacter</i> spp.	5	3,3
<i>Kebsiella</i> spp.	5	3,3
<i>Bacillus</i> spp.*	4	2,6
Estafilococos coagulasa negativos	3	2
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	2	1,3
<i>Corynebacterium</i> spp.	2	1,3
<i>Proteus</i> spp.	2	1,3
TOTALES.	130	85.5

* Bacilo esporulado β hemolítico.

TABLA 8. Microorganismos anaerobios facultativos hallados en las muestras (n= 152).

Por su parte, las especies de microorganismos anaerobios aislados, el número de veces en que cada uno de ellos fueron identificados, así como la proporción de aislamientos, se presentan en la tabla 9, donde se evidencia que el grupo de clostridios sacarolíticos, no proteolíticos fue el de mayor relevancia. Este grupo de clostridios

comprende las especies *carnis*, *clostridioforme*, *paraputrificum*, *ranosum*, *ymbiosum* y *tertium*.

Microorganismo aislado	Número de Aislamientos	Porcentaje de Aislamientos
Clostridios sacarolíticos, no proteolíticos* ¹	5	3,3
<i>Clostridium perfringens</i>	1	0,7
<i>Prevotella</i> spp.* ²	1	0,7
<i>Fusobacterium varium</i>	1	0,7
TOTALES.	8	5,4

*¹ Grupo de clostridios sacarolíticos, no proteolíticos: comprende las especies *carnis*, *clostridioforme*, *paraputrificum*, *ranosum*, *ymbiosum* y *tertium*

*² *Prevotella* spp. (*enoeca*, *oris*, grupo *oralis*). Grupo de prevotelas no pigmentada.

TABLA 9. Principales microorganismos anaerobios identificados (n=152).

Se puede observar en las tablas 10 y 11, las asociaciones entre grados de endometritis mayor a dos y aislamientos microbianos, con sus respectivos *Odds Ratio* e intervalos de confianza.

Tipo de microorganismo anaerobio facultativo	Aislamiento	Vacas con endometritis ≥ 2	Odds ratio	IC 95% OR	P= ¹
<i>Escherichia coli</i>	+	15 (29,4%)	0,98	0,471 - 2,063	0,97
	-	30 (29,7%)			
Estreptococos α -hemolítico	+	9 (28,1%)	0,91	0,385 - 2,166	0,84
	-	36 (30%)			
Estafilococos coagulasa negativos	+	0			
	-	45 (30,2%)			
Estreptococos no hemolíticos	+	3 (30%)	1,02	0,252 - 4,137	0,98
	-	42 (29,6%)			
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	+	4 (50%)	2,51	0,600-10,523	0,24
	-	41 (28,48%)			
<i>Enterobacter</i> spp.	+	1 (20%)	0,58	0,064 - 5,386	0,63
	-	44 (29,9%)			
<i>Bacillus</i> spp.	+	0			
	-	45 (30,4%)			
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	+	0			
	-	45 (30%)			
<i>Kebsiella</i> spp.	+	3 (60%)	3,75	0,605 - 23,252	0,15
	-	42 (28,6%)			
<i>Corynebacterium</i> spp.	+	2 (100%)	3,48	2,71 - 4,48	0,086
	-	43 (28,7%)			
Estreptococos β hemolíticos	+	3 (50%)	2,47	0,48 - 12,764	0,36
	-	42 (28,8%)			
<i>Proteus</i> spp.	+	1 (50%)	2,40	0,147 - 39,38	0,50
	-	44 (29,3%)			

¹ Valor de significancia del test de asociación (chi-cuadrado o test exacto de Fisher).

TABLA 10. Asociaciones entre bacterias anaerobias facultativas y endometritis ≥ 2 diagnosticada con el Metrichecktm.

Cabe aclarar que para aquellos microorganismos que no fueron aislados en vacas que presentaron endometritis con grado igual o superior a 2 no fue posible calcular la asociación y, consecuentemente, el *Odds Ratio* correspondiente.

Tipo de microorganismos anaerobios	Aislamiento	Vacas con Endometritis ≥ 2	<i>Odds ratio</i>	IC 95% OR	P= ¹
Clostridios sacarolíticos, no proteolíticos	+	2 (40%)	1.61	0,26 -9,993	0,633
	-	43 (29,3%)			
<i>Clostridium perfringens</i>	+	1 (100%)	3,44	2,67 – 4,40	0,296
	-	44 (29,1%)			
<i>Prevotella</i> spp.	+	1 (100%)	3,44	2,67 – 4,40	0,296
	-	44 (29,1%)			
<i>Fusobacterium varium</i>	+	0			
	-	45 (29,8%)			

¹ Valor de significancia del test de asociación (chi-cuadrado o test exacto de Fisher).

TABLA 11. Asociaciones entre bacterias anaerobias y endometritis ≥ 2 diagnosticada con *Metricheck*tm.

Analizando las tablas 10 y 11 se observó que ningún microorganismo aislado estuvo asociado con la presencia de endometritis mayor a dos, en otras palabras, el solo aislamiento del microorganismo no fue significado de enfermedad clínica uterina y a su vez, en la presentación de esta enfermedad pueden participar diferentes

microorganismos. Es decir, la endometritis necesita la presencia de microorganismos pero su sola presencia no es suficiente para que la misma se desarrolle.

En la tabla 12 se detallan las asociaciones entre los factores asociados con la presentación de endometritis con grado igual o superior a 2 y el aislamiento de microorganismos.

Factores de riesgo.	Tipo de microorganismo aerobio.	p= ¹
Parto distócico	Estreptococos α -hemolíticos	0,094
Mellizos	<i>Bacillus</i> spp.	0,15
	<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	0,033
	<i>Corynebacterium</i> spp.	0,078
Retención de placenta	Anaerobios facultativos	0,119
	<i>Corynebacterium</i> spp.	0,164
	<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	0,141
	<i>Clostridium perfringens</i>	0,086

¹ Valor de significancia del test de asociación (chi-cuadrado o test exacto de Fisher).

TABLA 12. Asociaciones entre tipo de microorganismos y factores de riesgo.

Resulta interesante destacar las asociaciones estadísticas entre el *A. pyogenes* y animales con partos melliceros, entre los Estreptococos α -hemolíticos y las vacas con partos distócicos y entre los *Corynebacterium* spp. y las vacas con partos melliceros. En cuanto a gérmenes anaerobios se observó, con una significancia de 0,086, la asociación entre *Clostridium perfringens* y la retención de membranas fetales. A pesar que en el muestreo hubo pocos eventos con los mencionados factores asociados a la presentación de endometritis y sus agentes, los resultados son de utilidad para futuras investigaciones.

No se han podido establecer en la investigación numerosas correlaciones entre microorganismos anaerobios facultativos y anaerobios. En la tabla 13 se describen las halladas.

Tipo de microorganismo aerobio.	Tipo de microorganismo anaerobio.	p
<i>Escherichia coli</i>	Anaerobios	0,119
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	Anaerobios	0,358
<i>Kebsiella</i> spp.	Anaerobios	0,022
<i>Kebsiella</i> spp.	Clostridios sacarolíticos, no proteolíticos.	0,008

TABLA 13. Asociaciones entre microorganismos anaerobios facultativos y anaerobios.

En la misma podemos afirmar, que más allá de que el número de microorganismos anaerobios encontrados fueron escasos, lo que no permite consolidar nuevas asociaciones y reforzar las encontradas; se aprecian algún tipo de asociaciones entre microorganismos que deberían ser motivos de nuevas investigaciones, tal es el caso entre *Kebsiella* spp. y Clostridios sacarolíticos, no proteolíticos.

5. DISCUSIÓN

Tal como afirma Forero (2004), el comportamiento reproductivo de las vacas luego del parto juega un importante papel en el éxito productivo del rodeo lechero y, por ende, en la rentabilidad de la empresa. Las infecciones uterinas bacterianas durante el posparto se asocian con menores tasas de concepción, intervalo entre el parto y primer servicio alargados, intervalos entre partos alejados del ideal y animales con indicación de rechazo por fallas en la concepción y por la falta de concebir (LeBlanc *et al.*, 2002). Por lo expuesto, dicho comportamiento reproductivo debe ser tenido en cuenta por todos los actores involucrados en el sistema y encontrarse a la vanguardia de los nuevos conocimientos que se generan.

Los partos distócicos, los melliceros y la retención de placenta detectados en el presente trabajo, fueron factores asociados a una mayor frecuencia de presentación de endometritis grado 2 o 3. De igual modo, García *et al.* (2004), analizando los factores de riesgo en metritis en vacas lechera al noroeste de España informó, a través del análisis de regresión logística múltiple, que el riesgo de metritis aumentaba con las distocias (OR= 2,22; $p<0,01$), los abortos (OR= 2,37; $p<0,05$), la retención placentaria (OR= 3,10; $p<0,01$) y el tamaño de explotación (OR= 1,01; $p<0,01$) y disminuía al aumentar el número de partos (OR= 0,90; $p<0,01$).

Por lo expuesto en el anterior párrafo, se podría afirmar que, debido al diestrés que suponen las distocias, éstas son un factor de riesgo de endometritis. Dicha asociación se afirma, debido a la disminución de la resistencia a las infecciones posterior a un evento de distocia, sumado al riesgo derivado de la introducción de agentes bacterianos en el interior del útero, cuando no se extremen las medidas

sanitarias. Como consecuencia los microorganismos patógenos tendrían mayor facilidad para ingresar y radicar en el lumen uterino, generando la manifestación clínica. Asimismo, la extracción manual forzada de los restos placentarios, puede producir un daño al epitelio uterino desencadenando una endometritis.

Por su parte, en el trabajo de García *et al.* (2004), el aborto se presentó como un factor de riesgo importante en la presentación de endometritis. Las causas del aborto son muy variadas, aunque en ganado vacuno, las de origen infeccioso son las más importantes llegando a suponer hasta el 50% (Tainturier *et al.*, 1997). La infección que origina el aborto es posible que se mantenga por un período de tiempo más allá de la expulsión del feto. Cabe remarcar que en la presente tesis, el evento aborto no estuvo presente en las vacas muestreadas, pero debe ser tenido en cuenta a la hora que se manifieste. Asimismo, se recuerda que el muestreo de los animales en la tesis, se llevó a cabo al azar y no por presentar problemas reproductivos de ninguna índole, es decir, la condición fue solamente la de anestro posparto mayor o igual a 40 días.

En cuanto a animales que retienen membranas fetales después del parto, Dohmen *et al.* (2001) determinó que son más a menudo infectadas con diferentes bacterias como *Escherichia coli*, *Clostridium* spp. y anaerobios gram negativos que las vacas sin desórdenes en el parto. En la tesis, se pudo evidenciar que las vacas que tuvieron partos distócicos presentaron posteriormente una mayor proporción de retención de placenta y endometritis. También se comprobó que aquellas vacas que parieron mellizos tuvieron mayor probabilidad de presentar retención de placenta. Tal como se mencionara en los resultados, aunque la tendencia entre los partos melliceros a generar retención de placentas existió, esta asociación no fue estadísticamente

significativa. Wischral *et al.* (2001) relacionaron la retención placentaria con deficiencias tanto de estrógenos como de PGF2 α , lo cual podría ser una consecuencia del destacado diestrés metabólico por la síntesis de PGE₂ y cortisol materno antes del parto (Dhaliwal, 2001). Kimura *et al.* (2002) encontraron que neutrófilos en vacas con placenta retenida tuvieron una actividad significativamente más baja en ensayos de quimiotáxis antes del parto, lo cual afecta la función luego de las primeras dos semanas después del parto. Varios autores han estudiado una posible contribución de desórdenes de la función hepática, desórdenes metabólicos y desbalance hormonal como posibles factores predisponentes del citado problema (Zerbe *et al.*, 2000); todos desórdenes frecuentes en vacas paridas recientemente.

Por lo desarrollado hasta aquí, es importante que los médicos veterinarios revisen, en las visitas periódicas aquellos animales que han tenido algún episodio durante el parto capaz de desencadenar infección uterina. A modo de ejemplo, si el encargado de los animales identificó, registró e informó que existieron eventos tales como partos distócicos, retenciones de membranas fetales, partos melliceros; el profesional debería revisarlos minuciosamente debido al potencial desarrollo de una endometritis causando el alargamiento del intervalo entre partos y consecuentemente los costos de la empresa.

Asimismo, tal como se mencionara en párrafos anteriores, en aquellos animales con partos distócicos, podrían los Estreptococos α -hemolíticos ser causantes de la infección uterina. Este acontecimiento se debería a que su ingreso estaría favorecido durante la distocia por insuficientes medidas higiénicas, posibles traumas y subsiguiente deformidad del cérvix causando un inadecuado cierre del canal cervical (Hernández

Suárez, 2011). Si el animal permanece en decúbito por largos períodos y esto se suma a un ambiente donde se aloja el parto que no reúne las condiciones indispensable para tal categoría de animales, es factible el ingreso vía ascendente de todo tipo de microorganismos, no solo de los Estreptococos α -hemolíticos (Hernández Suárez, 2011). También en el caso de animales que padecieron retención de membranas fetales, gérmenes del género *Clostridium* spp. podrían ser los agentes etiológicos de las endometritis. De igual modo, en una hembra bovina que tuvo mellizos, sería elevada la probabilidad de que el agente actuante sea *Arcanobacterium pyogenes*, ya sea solo o en combinación con otros microorganismos. Se sugiere que el animal con gestación doble tiene más probabilidad de sufrir algún grado de distocia o retención de membrana fetales que lo expone a adquirir dicha bacteria u otra que se encuentre en el medio. Resulta interesante resaltar el trabajo de Williams *et al.* (2007), donde estudiaron la relación entre la proporción del crecimiento de patógenos uterinos y la función ovárica en vacas lecheras posparto. En dicho trabajo se estableció que en vacas con un alto crecimiento de patógenos uterinos en el día siete después del parto, el diámetro del primer folículo dominante posparto fue más pequeño y las concentraciones plasmáticas de estradiol fueron menores. Sin embargo, estos autores, no dejan en claro si la supresión del crecimiento del folículo ovárico y su función, estuvo relacionada con la presencia de patógenos potencialmente patógenos o bacterias oportunistas contaminantes en el útero.

Si bien muchas asociaciones identificadas en esta tesis no fueron significativas, presentaron valores de significancias cercanas a 0,05. No obstante, estas asociaciones tienen relevancia para la práctica veterinaria a campo, en primer lugar como antecedentes y en segundo lugar en la aplicación de medidas profilácticas y/o

terapéutica que se podrían implementar en animales que presenten alguna de las lógicas descritas anteriormente.

De las muestras analizadas los microorganismos tolerantes al oxígeno, fueron los de mayor relevancia. Dentro de estos agentes, *E. coli* fue el agente microbiano aislado con mayor frecuencia. Fernández Martínez *et al.* (2006), citando un estudio de Fernández *et al.* (1984) sobre el análisis microbiológico de las secreciones cérvico-uterinas de vacas, evidenció igualmente que *E. coli* era el germen más frecuentemente aislado en las secreciones de vacas sanas (33,3 y 56,8%, respectivamente) desconociendo realmente su significado clínico. Fernández Martínez *et al.* (2006), mencionaron igualmente que *Escherichia coli* fue el germen de mayor incidencia en las muestras del cérvix y útero (28,1 y 23,1%, respectivamente) de animales clínicamente sanos (Fernández y Dimoso, 1984). Con menor frecuencia aislaron otras enterobacterias (19,7 y 22,3%, respectivamente) y bacterias de los géneros *Staphylococcus* (15,4 y 12,9%, respectivamente) y *Streptococcus* (8,4 y 6,4%, respectivamente). González *et al.* (1978) en estudios realizados en Cuba en vacas infecundas encontraron que el germen más frecuentemente aislado fue *A. pyogenes*, siguiéndole en incidencia *Streptococcus* spp. y *E. coli*.

Hernández Suárez (2011) describió numerosos trabajos que han mostrado que las endotoxinas y los lipopolisacáridos (LPS) son comúnmente los factores de virulencia más importantes de los coliformes, que pueden causar complicaciones en casos de distocia y placenta retenida. Además, las endotoxinas tienen efecto citotóxico directo, lo cual probablemente favorece el establecimiento de infecciones por *A. pyogenes* (Dohmen *et al.*, 1995). Zerbe *et al.* (2001) mostraron que un contacto prolongado entre

fragmentos o soluciones bacterianas de *E. coli* y *A. pyogenes* con neutrófilos bovinos resultaron en una depresión funcional de las células. Un efecto similar fue obtenido con la exposición de neutrófilos a secreciones uterinas de vacas infectadas con *A. pyogenes* y *E. coli* (Zerbe *et al.*, 2002). La más pronunciada depresión funcional de los neutrófilos por productos de *E. coli* soporta la hipótesis de que la primera aparición de *E. coli* en el útero puede apoyar más tarde la co-infección con *A. pyogenes*. Dohmen *et al.* (2001) encontraron una relación positiva entre la presencia de *E. coli* al día uno postparto y la presencia de *A. pyogenes* y anaerobios gram-negativos al día catorce posparto. Refuerzan esta hipótesis, el trabajo de Azawi (2008), donde se reporta a la asociación de *A. pyogenes* con *E. coli* como la causante de infecciones uterinas posparto en bovinos en un 69% de los animales evaluados. En estudios realizados en Cuba, se determinó que *A. pyogenes* era un agente altamente patógeno que causaba severas inflamaciones del útero y que también se encontraba en el semen de los toros, siendo éste el medio de transmisión a las hembras independientemente de que sea por monta directa o inseminación artificial (Silveira y Machado, 2005). Dichos estudios, cotejándolos con la presente tesis, coinciden en que la *E. coli* es un habitante que se encuentra en forma habitual en muestras uterinas. Asimismo, en la presente tesis no se evidenciaron asociaciones entre *E. coli* y *A. pyogenes*, ni entre otros microorganismos anaerobios facultativos en forma significativa. En otras palabras, cada microorganismo pareció actuar en forma independiente, no estando asociada la presencia de uno con otro. Evidentemente *Escherichia coli* se encuentra presente en vacas clínicamente sanas y bajo determinadas condiciones que atentan el sistema inmunitario del útero pueden comenzar su acción patogénica. Se postula que la contaminación bacteriana proviene principalmente de la región perineal, donde los diferentes esfínteres quedan con alguna

relajación después del parto, potenciada eventualmente por otros factores predisponentes (Fredriksson *et al.*, 1990). El mecanismo fisiológico y anatómico de cierre del canal genital resultan temporalmente insuficientes y las bacterias que normalmente habitan la región perianal y vulvar, pueden ascender y causar infecciones (Fredriksson *et al.*, 1990).

Sheldon *et al.* (2008) indicó que normalmente se observa luego del parto una infección endometrial espontánea caracterizada por un crecimiento bacteriano masivo que se ve favorecido por la presencia de los loquios. Fisiologicamente los loquios están formados principalmente por acumulación de fluidos placentarios, sangre, restos tisulares y exudación endometrial (Rutter, 2009). La sangre proviene de hemorragias capilares en el sitio donde se necrosan las carúnculas. Del día 2 al día 4 posparto, las contracciones uterinas son más frecuentes que intensas y participan activamente al vaciamiento del útero. A partir del día 10 hasta el 15 postparto la involución y el tono uterino aumentan y coincide con la primera onda folicular, que favorece la expulsión de restos de loquios a través del cuello uterino. La cantidad de loquios que se encuentran entre los días 14 a 18 posparto es del orden de algunos mililitros (Rutter 2009). En general, más allá del día 12 posparto, la acumulación de loquios no es más detectable por palpación rectal. Después del día 18 a 20 posparto, las descargas uterinas no son frecuentes. Por lo tanto, se debe diferenciar entre contaminación e infección uterina. Para que haya infección debemos estar en presencia de adherencia a la mucosa, colonización o penetración de los microorganismos patógenos en el epitelio y/o liberación de toxinas bacterianas. Del mismo modo, Azawi (2008) afirma que el útero de todas las vacas se contamina con bacterias después del parto, pero esto no implica necesariamente infección, ni desarrollo de enfermedad uterina.

El aparato reproductor de la hembra bovina presenta una compleja microbiota, la cual debe permanecer en equilibrio para no desencadenar una infección (Fernández Martínez *et al.*, 2006). Es por ello, que en situaciones donde se usa un antibiótico, especialmente si es de amplio espectro, hay que pensar en el cambio ecológico que puede sufrir la microbiota normal del animal. Con la exposición a agentes antimicrobianos, la microbiota normal se altera, lo que favorece las infecciones por bacterias patógenas resistentes y eventualmente la aparición de hongos (Fernández Martínez *et al.*, 2006). Es por ello que se necesita ser prudentes en la indicación de los antibióticos y en el tiempo de duración de los tratamientos. Es importante que el profesional establezca protocolos de tratamiento explícitos para las principales afecciones de los bovinos y capacitar al personal encargado en lo que respecta a este tema. Esto permitirá evitar la generación de resistencia bacteriana a los antibióticos, una de las consecuencias negativas del uso ineficiente de los mismos.

No fue posible asociar la presencia de microorganismos específicos con el diagnóstico de endometritis mayor a dos realizado con el Metrichcektm. Esto sustenta la idea de que la sola presencia de microorganismos en los loquios uterinos no es indicativa de la presencia de un proceso inflamatorio. Esto se observa en las muestras obtenidas a partir de animales con diagnóstico de endometritis grado 0 que evidenciaron crecimiento bacteriano, lo cual coincide con los trabajos de Fernández *et al.* (1984), donde se aislaron agentes de vacas clínicamente sanas. También Blanch *et al.* (1992) afirmaron que es importante resaltar que en muchos casos, microorganismos no patogénicos pueden encontrarse en los cultivos uterinos con o sin signos de inflamación del endometrio. Hay que considerar que no siempre es posible demostrar la existencia de microorganismos en presencia de signos de inflamación o cuando hay

microorganismos no siempre pueden ser considerados patogénicos, ya que durante los procesos de reparación, los microorganismos desaparecen previo a los signos de inflamación.

Resulta interesante recalcar que la totalidad de las muestras obtenidas a campo, es decir, extracción de material para cultivo (anaerobios facultativos y anaerobios) y el diagnóstico clínico con el Metrichecktm del presente trabajo de investigación, la concretó la misma persona. De esta forma se evitó caer en circunstancias donde la subjetividad hubiese podido modificar los resultados. Cabe aclarar que el trabajo de campo se llevó a cabo con estricta precaución para evitar contaminaciones de las muestras antes de su envío al laboratorio.

Pese a que la tesis arrojó escasos aislamientos de microorganismos anaerobios, los mismos son de utilidad como referencias para futuros estudios y su registro, junto con las bacterias anaerobias facultativas, permite contar con una colección de agentes en los establecimientos donde se desarrolló la investigación. Es conocida la complejidad que surge al trabajar con bacterias de carácter anaerobio, pero como se mencionara, las asociaciones encontradas en la presente tesis, entre potenciales factores de riesgos y bacterias anaerobias facultativas, sirven de base para profundizar su estudio. Otros investigadores (Smith y Risco, 2005) también han tenido problemas para identificar estas especies, especialmente debido a su estricta naturaleza anaeróbica.

Pleticha *et al.*, (2009), concluyeron que más animales fueron diagnosticados con signos indicativos de endometritis con el dispositivo Metrichecktm que por vaginoscopía o la mano enguantada. Dicho estudio confirma hallazgos previos donde se indica que las vacas con puntuaciones de flujo vaginal de 2 y 3 tienen menor rendimiento

reproductivo, en comparación con vacas clínicamente sanas. Al respecto, McDougall *et al.* (2006), en una investigación que asoció el diagnóstico de endometritis usando el Metrichcektm y el desempeño reproductivo en el ganado lechero, comparando el diagnóstico con el vaginoscopio; concluye que el dispositivo Metrichcektm fue más sensible en la detección de endometritis que la vaginoscopía. Además asoció el diagnóstico de la endometritis realizado con el mencionado dispositivo con un peor rendimiento reproductivo posterior. Los resultados de la presente tesis, aportan información útil, cuando al diagnóstico clínico efectuado con la herramienta neozelandesa, se aprecie una endometritis mayor a dos.

6. CONCLUSIONES

De las muestras analizadas los microorganismos anaerobios facultativos fueron los de mayor relevancia. Dentro de este grupo *Escherichia coli* y los Estreptococos α -hemolíticos fueron los de mayor prevalencia. En cuanto a microorganismos anaerobios aislados, aunque fueron escasos, se comprobó que las especies del género *Clostridium* del tipo sacarolítico, no proteolítico (*carnis*, *clostridioforme*, *paraputrificum*, *ranosum*, *symbiosum*, *tertium*), fueron las de mayor frecuencia.

Los partos distócicos, melliceros y animales con retención de membrana fetales, se asociaron con una mayor frecuencia de presentación de endometritis grado 2 o 3 diagnosticados con el Metrichecktm.

No fue posible asociar la presencia de microorganismos específicos con la presentación de endometritis.

La sola presencia de microorganismos en los loquios uterinos no es significativa de un proceso inflamatorio.

La revisión sistemática de las vacas en el posparto, la utilización de herramientas que facilitan la inspección, cómo el uso del Metrichecktm, el registro por parte del personal de los factores de riesgo que modifican la probabilidad de presentación de infección uterina, el trabajo interdisciplinario entre todos los actores del sistema y la capacitación permanente del personal encargado de los animales y la formación integral de los profesionales, son todos aspectos relevantes que deben considerarse para emitir un diagnóstico certero. De esta manera se aplicarán las medidas de profilaxis y/o

curativas apropiadas, con el fin de reducir el impacto negativo sobre la performance reproductiva de las vacas en ordeño que atenta contra la rentabilidad del sistema.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABABNEH, M; DEGEFA, T. (2006). Bacteriological findings and hormonal profiles in the postpartum balady goats. *Reprod. Dom. Anim.* 41: 12-16.
- ALBA, L.O.; SILVEIRA, E.A. (2006). La leucorrea vaginal bovina de carácter no inflamatorio y su significación clínica. *Rev. Electr. de Vet. REDVET.* VII (10). En línea: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101006.html>.
- AZAWI O.I. (2008). Postpartum uterine infection in cattle. *Animal Reproduction Science* 105: 187-208.
- BLANCH, M.S., BOSCH, R.A., ALANIS, G., VIVAS, A. (1992). Asociación Bacteriana Aeróbica–Anaeróbica en el desarrollo de las Endometritis Puerperales del Bovino. *Vet. Arg.* 84 (9):238–245.
- BONDURANT, R. (1999). Inflammation in the bovine female reproductive tract. *J. Anim. Sci.* 77: 101-110.
- BOSCÁN, J.O; NAVA, S.Z; NAVA, J; MARTÍNEZ, G.P. (2010). Perfil de la flora bacteriana vaginal: Un riesgo potencial para la reproducción de vacas criollo limonero. *Rev. cient. (Maracaibo)*. [online]. jun. 2010, vol.20, no.3 [citado 2013-02-27], p. 227-234. ISSN 0798-2259. Disponible en la World Wide Web: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592010000300002&lng=es&nrm=iso.
- BOTTARELLI, E., LUCIDI, E., CAVIRANI, S, PARMIGIANI, E. (1985). Indagini Microbiologiche su Feti Abortiti ed organi Genitali di Bovine Colpite da ipofertilita a Carattere Enzootico. *Archivio Veterinario Italiano.* 36 (516): 135–144.

- BRETZLAFF, K. (1987). Rationale for treatment of endometritis in the dairy cows (Abstract). *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*. 3(3):593-607.
- CORREA CARDONA, H.J. (2004). Crecimiento de la glándula mamaria durante el periodo seco. Universidad Nacional de Colombia Departamento de Producción Animal.
<http://vaca.agro.uncor.edu/~pleche/material/Material%20II/A%20archivos%20internet/Biologia%20y%20fisiologia%20de%20la%20lactacion/creciglandula.pdf>
- DHALIWAL G.S; MURRAY R.D; WOLDEHIWET Z. (2001). Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatments for endometritis. *Anim Reprod Sci* 67:135-152.
- DOHMEN, M.J.W; LOHUIS, J.A; HUSZENICZA, G.Y; NAGY, P; GACS, M (1995). The relationship between bacteriological and clinical findings in cows with subacute/chronic endometritis. *Theriogenology* 43: 1379-1388.
- DOHMEN, M.J.W; JOOP, K; STURK, A; BOLS, P.E.J; LOHUIS, J.A.C.M (2001). Relationship between intra-uterine bacterial contamination, endotoxin levels and the development of endometritis in postpartum cows with dystocia or retained placenta. *Theriogenology* 54:1019-1032.
- DRILLICH, M; BEETZ, O; PFUTZNER, A; SABIN, M; SABIN, H.J; KUTZER, P. (2001). Evaluation of a systemic antibiotic treatment of toxic puerperal metritis in dairy cows. *J Dairy Sci*; 84:2010–2017.
- EILTS, B. (2004). Bovine Postpartum Problems. (en línea) Consultado 22 Jun.2006. Disponible en **<http://www.vetmed.isu.edu/eiltslotus/theriogenology>**

- ESSLEMONT, D; KOSSAIBATI, M.A. (2002). The Cost of Poor Fertility and Disease in UK Dairy Herds. Intervet UK Ltd., City, p. 146.
- FERGUSON, J.D (1993). Diseases affecting reproduction in dairy herds. (Tesis). University of Pennsylvania. Scholl of Veterinary Medicine. Keneth Square.
- FERNÁNDEZ MARTÍNEZ, A; SILVEIRA PRADO, E.A; LÓPEZ ROJAS, O.F. (2006). Las infecciones uterinas en la hembra bovina. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET ISSN Vol. VII, N° 10,–
<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/636/63617167007.pdf>
- FERNÁNDEZ, A; DIMOSO, Z.J.K (1984). Estudio cualitativo y cuantitativo de la flora bacteriológica de las secreciones cervicouterinas de vacas clínicamente sanas. (Tesis). Facultad de Ciencia Animal. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Santa Clara. Cuba.
- FERNÁNDEZ, A; VILLAVICENCIO, L; PELÁEZ, R; SILVEIRA, E.A; GARCÍA, P; PERAZA; N. (1984). Estudio cualitativo y cuantitativo de la microflora de secreciones cervico-uterinas en vacas con repetición de celo. Rev Cub Reprod Anim; 10(2):83-93.
- FÖLDI, J; KULCSÁR, M; PÉCSI, 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: 265-281.
- FORERO, L. (2004). Conceptos sobre metritis bovina: un problema poco considerado en la ganadería actual. Sitio Argentino de Producción Animal
http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/05-conceptos_metritis_bovina.pdf

- FREDRIKSSON, G; KINDAHL, H; ALENIUS, S; CARLSSON, V; CORT, N; EDQUIST, L.E; UGGLA, A. (1990) Uterine infections and impaired reproductive performance mediated through prostaglandin release. TI Joint IFS-SIPAR Seminar on Animal Reproduction in Montevideo. Paysandú. Uruguay. p. 81-90.
- GARCÍA, M; QUINTELA, L; TABOADA; M; ALONSO, G; VARELA-PORTAS, B; DÍAZ, C; BARRIO, M; BECERRA, J; PEÑA, A; DEIROS, J; HERRADÓN, P. (2004). Factores de riesgo de la metritis en vacas lecheras: estudio retrospectivo en el noroeste de España. Unidad de Reproducción y Obstetricia. Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. USC. 27002 Lugo. España. Archivos de Zootecnia Vol. 53, Num. 204: 383-386.
- GONZÁLEZ, J.A; ALBA, L.O; FERNÁNDEZ, A (1978). Hallazgos bacteriológicos en secreciones cervicovaginales de vacas infecundas en la provincia de Las Villas. Diagnóstico de Laboratorio desde 1972 hasta 1974. Rev Centro: Serie Ciencia Anim (Cuba) III: 57-64.
- HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. (2002). Anatomía funcional de la reproducción: Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 7ma Ed, Mc Graw-Hill Interamericana Editores. 519 pp.
- HERNÁNDEZ SUÁREZ I.A (2011). Patología, inmunología y tratamiento de la endometritis en el Ganado. Departamento técnico Intervet México.
http://www.agrytec.com/pecuario/index.php?option=com_content&view=article&id=5909:infecciones-uterinas-en-ganado-bovino&catid=7:articulos-tecnicos
- JIMÉNEZ, C; HERNÁNDEZ, A. (1995). Lecturas sobre reproducción bovina II. El ciclo estral de la vaca. Empresa Editorial Universidad Nacional. (Tesis)

Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Bogotá.

- JUBB, K; KENNEDY, P; PALMER, N. (1991). Patologías de los animales domésticos. 2^{da} Edición. Agropecuaria Hemisferio Sur. Montevideo. Uruguay. 631 pp.
- KASIMANICKAM, R; DUFFIELD, TE, FOSTER, R.A; GARTLEY, C.J; LESLIE, K.E; WALTON, J.S; JOHNSON, WH. (2005). A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Can. Vet. J.*; 46: 255-259.
- KIMURA K; GOFF J.P; KEHRLI M.E; REINHARDT T.A. (2002). Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. *J Dairy Sci*; 3: 544-550.
- KONEMAN, E. W; ALLEN, S. D; JANDA, W. M; SCHRECKENBERGER, P. C; WINN, W. C; PROCOP, G.W; WOODS, G.L. (2008). Enterobacteriaceae y Bacilos Gram positivos aerobios y facultativos. En: Koneman Diagnóstico Microbiológico. 6ta.edición. Ed Médica Panamericana, Buenos Aires. pp 171: 250 y 784.
- LEBLANC, S.J; DUFFIELD, TE, LESLIE, K.E; BATEMAN, K.G; KEEFE, G.P, WALTON, J.S; JOHNSON, WH. (2002). Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci* 85: 2223-2236.
- LEWIS G.S. (1997). Uterine health and disorders. *J Dairy Sci* 80: 984-994.
- LEWIS, G; LEBLANC, S; GILBERT, R; SHELDON, M (2006) Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* Vol. 65, Issue 8 : 1516-1530.

- McDOUGALL, S; MACAULAY, R; COMPTON, C (2006). Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. *Reproducción Animal Science: Volumen 99, Números 1-2 de mayo de 2007*, pp 9-23.
- MELO, O. (2004). Análisis crítico de la ganadería bovina argentina, 8ª Jornada El Negocio de la Carne, INTA Centro Regional Córdoba, E.E.A. Manfredi, Córdoba.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA DE LA NACIÓN ARGENTINA (2011). Producción Argentina de Leche-serie mensual. Subsecretaria de Lechería.
http://64.76.123.202/site/_subsecretaria_de_lecheria/lecheria/07_Estad%C3%ADsticas/_01_Nacional/serie/Prod_Mensual_2.htm
- MONTES, A.J, PUGH, D.G. (1993). Clinical approach to postpartum metritis. *Comp Contin Educ Pract Vet*; 15: 1131-1137.
- MURRAY R.D, ALLISON J.D, GARD R.P. (1990). Bovine endometritis: comparative efficacy of alfaprostol and intrauterine therapies, and other factors influencing clinical success. *Vet Rec*; 127:86–90.
- NOAKES, D.E; WALLACE, L.M; SMITH, G. R. (1990). Pyometra in a friesan helper; bacteriological and endometrial changes. *Vet. Rec.* 126 pp.509 –511.
- NOAKES, D.E; WALLACE, I; SMITH, G.R. (1991). Bacteria flora of the uterus of cows after calving on two hygienically contrasting farms. *Vet. Rec.* 128 (19): 440–442.
- OTERO, C.; SAAVEDRA, L.; SILVA DE RUIZ, C.; WILDE, O.; HOLGADO, A.R.; NADER-MACÍAS, M.E. (2000). Vaginal bacterial microflora modifications during the growth of healthy cows. *Lett. in Appl. Microbiol.* 31(3): 251-254.

- PALMER, C. (2007). Metritis post parto en vacas lecheras. *Taurus*, 9 (36):20-37.
- PLETICHA, S; DRILLICH, M; HEUWIESER, W. (2009). Evaluation of the Metrichcek device and the gloved hand for the diagnosis of clinical endometritis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92:5429-5435
- QUINN, P.J; CARTER, M.E; MARKEY, B; CARTER, G.R. (1999). *Clinical veterinary microbiology*. Mosby, New York, Estados Unidos. 648pp
- RIBADU, A.Y, WARD, W.R, DOBSON, H. (1994). Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography and plasma progesterone concentration. *Vet Rec*; 135:452–457.
- ROSS H. J. (2003). Bacterial and fungal organisms in the vagina of normal cows and cows with vaginitis. (Master's Thesis). Office of Graduate Studies of Texas A&M University. *Veterinary Microbiology*.
- RUTTER, B. (2009). Fisiología y diagnóstico del puerperio normal y patológico en la vaca lechera. <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-leche/sanidad/articulos/fisiologia-diagnostico-puerperio-normal-t2453/165-p0.htm>
- SCHNEIDER, G; COMERON, E. (2002) El Tambo versus la agricultura: el país de los extremos. <http://www.inta.gov.ar/rafaela/info/documentos/economia/>
- SHELDON, I.M; NOAKES, D. (1998). Reproductive improvements from new invention comparison of three treatments for bovine endometritis (Abstract). *Veterinary Record* 142(21):575-579.
- SHELDON, I.M; NOAKES, D.E; RYCROFT, A.N; DOBSON, H. (2002). Effect of postpartum manual examination of the vagina on uterine bacterial contamination in cows. *The Vet. Rec.* 151: 531-534.

- SHELDON, I.M. (2004). The postpartum uterus. *Vet. Clin. Food. Anim.* 20: 569-591.
- SHELDON, I.M; GREGORY, L; LEBLANC, S; GILBERT, R. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65 :1516–1530
- SHELDON, I.M; WILLIAMS, E; MILLER, A; NASH, D; HERATH; S. (2008). Uterine diseases in cattle after parturition. Department of Veterinary Clinical Sciences, Royal Veterinary College, Royal College Street, London. *The Veterinary Journal* 176: 115-121.
- SILVEIRA, E; MACHADO, R. (2005). Flora bacteriana del semen de toros antes y después de la congelación. *REDVET* ISSN: 1695-7504. (10): 1-8
- SMITH, J. W; GUTHRIE; L. D. (1995). Managing the Dry Dairy Cow. The University of Georgia College of Agricultural & Environmental Sciences Cooperative Extension Service Managing the Dry Dairy Cow. <http://www.ces.uga.edu/pubcd/L325-W.HTML>
- SMITH B.I; RISCO C.A. (2002). Predisposing factors and potential causes of postpartum metritis in dairy cattle. *Comp Contin Educ Pract Vet*; 24:S74-S80.
- SMITH B.I; RISCO C.A. (2005). Management of periparturient disorders in dairy cattle. *Vet Clin Food Anim*; 21: 503-521.
- TAINTURIER, D; FIENI, F; BRUYAS J; BATTUT, I. (1997). Etiologie des avortements chez la vache. *Le Point Vétérinaire*, 28: 1231-1238.
- VADILLO MACHOTA, S; PÍRIZ DURAN, S; MATEOS JANES, E.M. (2002). Manual de microbiología veterinaria. McGraw-Hill-Interamericana de España S.A. Madrid. España.853 pp.

- WILLIAMS, E.J; FISCHER, D.P; PFEFFIER, D; DOBSON, H.C; SHELDON, I.M. (2005). Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the inflammatory response to endometritis in cattle. *Theriogenology* 63: 102-117.
- WILLIAMS, E.J; FISCHER, D.P; NOAKES, D.E; ENGLAND, G.C.W; RYCROFT, A; DOBSON, H.C; SHELDON I.M. (2007). The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. *Theriogenology* 68: 549-559.
- WILTBANK, M.C, FRICKE, P.M, SANGSRITAVONG, S, SARTORI, R, GINTHER, O.J. (2000). Mechanisms that prevent and produce double ovulation in dairy cattle. *J Dairy Sci*; 83: 2998-3007.
- WISCHRAL, A; VERRESCHI, I.T; LIMA, S.B; HAYASHI, L.F; BARNABE, R.C. (2001). Pre-parturition profile of steroids and prostaglandin in cows with or without foetal membrane retention. *Anim Reprod Sci* 67: 181-188.
- ZERBE H; SCHNEIDER N; LEIPOLD W; WENSING T; KRUIP T.A.M; SCHUBERTH HJ. (2000). Altered functional and immunophenotypical properties of neutrophil granulocytes in post-partum cow associated with fatty liver. *Theriogenology* 54: 771-786.
- ZERBE, H; OSSADNIK, C; LEIBOLD, W; SCHUBERTH, HJ. (2001). Influence of *Escherichia coli* and *Arcanobacterium pyogenes* isolated from bovine puerperal uteri on phenotypic and functional properties of neutrophils. *VetMicrob*79:351-365.
- ZERBE, H; OSSADNIK, C; LEIBOLD, W; SCHUBERTH, H.J. (2002). Lochial secretions of *Escherichia coli* or *Arcanobacterium pyogenes* infected bovine uteri

modulate the phenotype and the functional capacity of neutrophilic granulocytes.

Theriogenology 57: 1161-1177.