



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN Y SERVICIO EN ZOOTECNIA

POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE VACAS HOLSTEIN CON ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA TRATADAS CON OXITETRACICLINA MÁS FLUNIXIN

TESIS

Que como requisito parcial
para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

Presenta:

JOSÉ MANUEL HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

Bajo la dirección de: **RAYMUNDO RANGEL SANTOS, Ph.D.**



Junio 2010

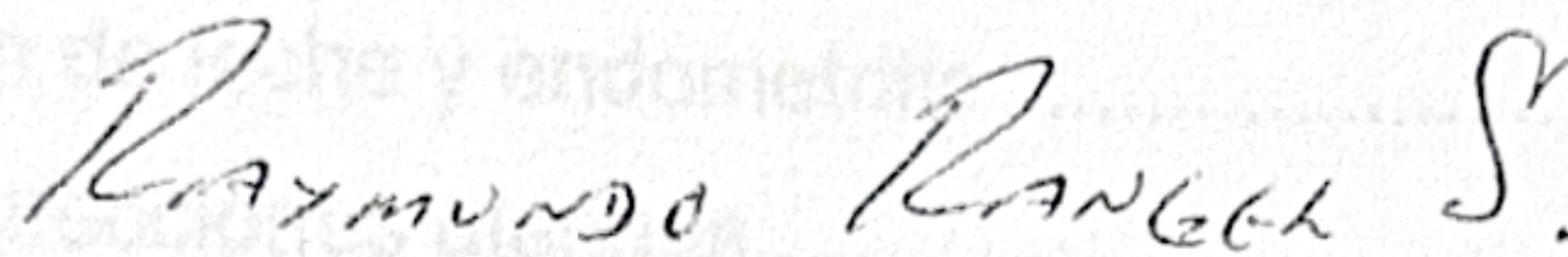
Chapingo, Estado de México

COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE VACAS HOLSTEIN CON
ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA TRATADAS CON OXITETRACICLINA MÁS
FLUNIXIN

Tesis realizada por **JOSÉ MANUEL HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

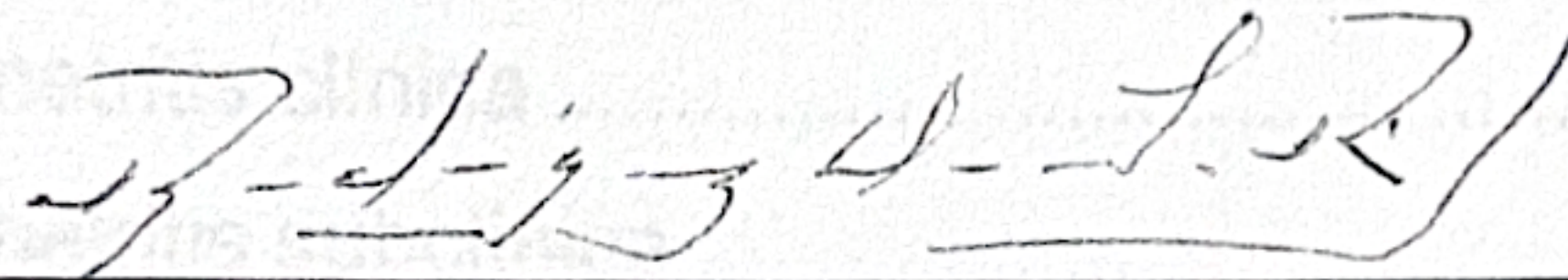
MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

DIRECTOR:



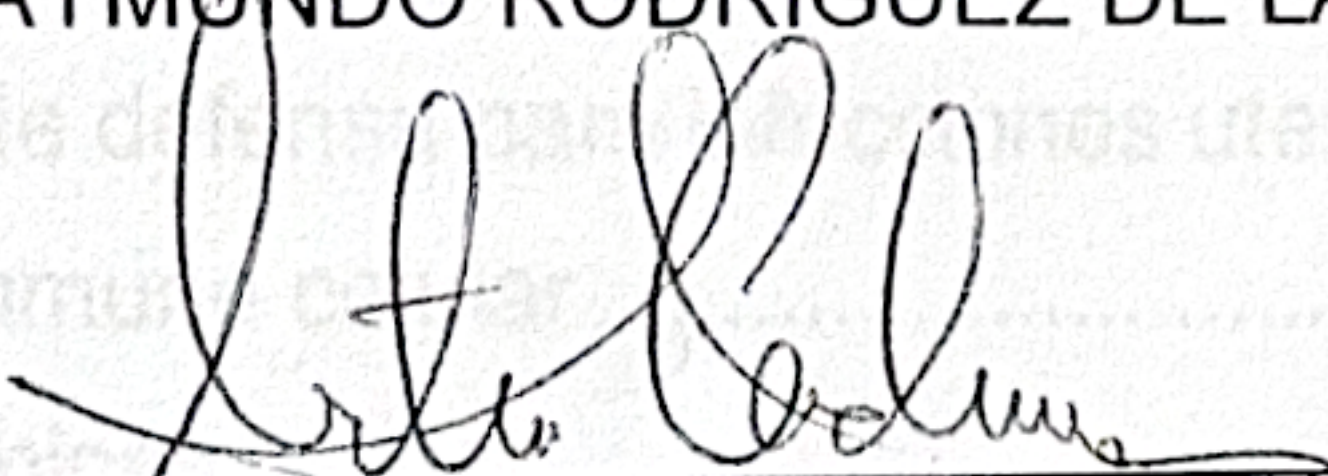
Ph.D. RAYMUNDO RANGEL SANTOS

ASESOR:



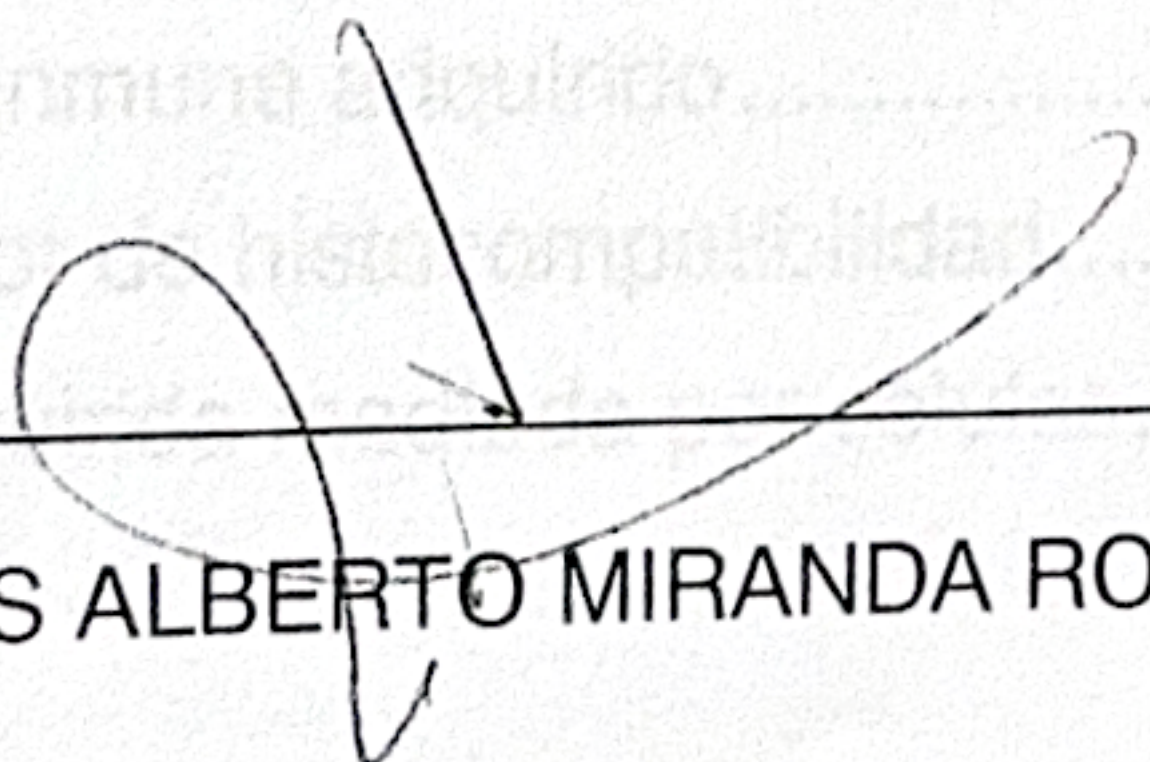
Ph.D. RAYMUNDO RODRÍGUEZ DE LARA

ASESOR:



Dr. JOSÉ ARTEMIO CADENA MENESES

ASESOR:



Dr. LUIS ALBERTO MIRANDA ROMERO

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
DEDICATORIAS	viii
AGRADECIMIENTOS	ix
DATOS BIOGRÁFICOS	x
1 INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2 REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Infecciones uterinas	3
2.2 Producción de leche y endometritis	3
2.3 Tipos de infecciones uterinas	4
2.3.1 Piometra	4
2.3.2 Metritis	4
2.3.3 Endometritis clínica	5
2.3.4 Endometritis subclínica	5
2.4 Patogénesis de infecciones uterinas	6
2.5 Mecanismos de defensa para infecciones uterinas	8
2.5.1 Sistema inmune celular	8
Barreras anatómicas	8
Sistema inmune innato de tipo celular	9
2.5.2 Sistema inmune adquirido	10
Complejo mayor de histocompatibilidad	10
Inmunidad adquirida mediada por células	10

2.5.3	Citocinas	11
	TNF	11
	IL1	12
	IL6	12
	Leucotrieno B4	12
	Anticuerpos	12
	Sistema del complemento	13
2.6	Influencia hormonal en la inflamación y mecanismos de protección ...	13
2.7	Efecto hormonal en el sistema inmune	14
2.8	Actividad ovárica y endometritis	15
2.9	Métodos de diagnóstico de endometritis.....	16
2.9.1	Palpación rectal.....	16
2.9.2	Vaginoscopía	17
2.9.3	Citología endometrial	18
2.9.4	Ultrasonografía.....	20
2.10	Tratamientos para infecciones uterinas.....	21
2.10.1	Terapias hormonales	22
	Prostaglandina F _{2α}	22
	GnRH	24
	Estrógenos	24
2.11	Flunixin	24
2.12	Terapias con antibióticos.....	26
	Oxitetraciclina.....	26
2.13	Mecanismos de endometritis y reproducción.....	29
2.14	Literatura citada.....	31
3	COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE VACAS HOLSTEIN CON ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA TRATADAS CON OXITETRACICLINA MÁS FLUNIXIN	36
3.1	RESUMEN.....	36
3.2	ABSTRACT	37
3.3	INTRODUCCIÓN	38
3.4	MATERIALES Y MÉTODOS.....	40

3.4.1	Animales	40
3.4.2	Revisión de animales	40
3.4.3	Asignación de tratamientos y evaluaciones posteriores.....	40
3.4.4	Análisis de datos	41
3.5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
3.5.1	Resolución de la endometritis	42
3.5.2	Comportamiento reproductivo de vacas con endometritis subclínica	43
3.5.3	Comportamiento reproductivo de vacas con o sin endometritis y con o sin tratamiento	51
3.5.4	Comportamiento reproductivo de vacas con y sin endometritis subclínica.....	52
3.6	CONCLUSIONES	54
3.7	LITERATURA CITADA	54

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de bacterias por su capacidad patogénica en el útero de vacas lecheras.....	8
Cuadro 2. Incidencia de endometritis diagnosticada por vaginoscopía, tomando como criterio la descarga de pus, publicada en diferentes fuentes.....	18
Cuadro 3. Criterios de diagnóstico de endometritis por citología endometrial. .	20
Cuadro 4. Criterios de diagnóstico de endometritis por ultrasonografía.	21
Cuadro 5. Efecto de oxitetraciclina (Ox) en comparación con un grupo testigo (T) en resolución de endometritis y el comportamiento reproductivo ^z de vacas lecheras reportado en diferentes fuentes.....	28
Cuadro 6. Efecto ^z de oxitetraciclina u oxitetraciclina más flunixin meglumine (FM) en la curación de endometritis subclínica de vacas Holstein entre 30 y 44 días posparto.	43
Cuadro 7. Efecto ^z de la aplicación de oxitetraciclina (TO), oxitetraciclina más flunixin meglumine (TOF) o sin tratamiento (TS) en el comportamiento reproductivo de vacas Holstein con endometritis subclínica.....	44
Cuadro 8. Medias ^z y probabilidades de la incidencia de cuerpo lúteo (CL) y de cuerpo lúteo más folículo (CLFOL), número de parto (NP) y producción de leche (PL) como covariables en el porcentaje de preñez total de vacas Holstein con endometritis subclínica tratadas con oxitetraciclina (TO), oxitetraciclina más flunixin (TOF) y sin tratar (TS) entre 30 y 44 días posparto.	48
Cuadro 9. Preñez ^z total de vacas Holstein con o sin endometritis subclínica, y con o sin tratamiento.....	51
Cuadro 10. Comportamiento reproductivo ^z de vacas Holstein con (TS) y sin (LS) endometritis subclínica.	53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principales mecanismos de endometritis en la reproducción de vacas lecheras. Adaptado de Sheldon <i>et al.</i> (2009).....	30
Figura 2. Número de servicio y tasa de preñez en vacas Holstein con endometritis subclínica tratadas con oxitetraciclina (TO), oxitetraciclina más flunixin (TOF) y grupo control (TS) ($p<0.05$).	47
Figura 3. Efecto de número de parto en el porcentaje de preñez de vacas Holstein con endometritis subclínica ($p<0.05$).	49
Figura 4. Efecto de la producción de leche en el porcentaje de preñez de vacas Holstein con endometritis subclínica ($p=0.07$).	49
Figura 5. Efecto de la actividad ovárica en el porcentaje de preñez de vacas Holstein con endometritis subclínica ($p<0.05$). CL: cuerpo lúteo, NCL: sin CL, CLFOL: con CL y folículo, NCLFOL: sin CLFOL.....	50

DEDICATORIAS

Este trabajo está dedicado a todas aquellas personas que han sido parte de mi vida, que me han aconsejado, que han ayudado cuando lo necesitaba, con los que he compartido alegrías y tristeza, logros y fracasos, ideas, metas...

A mis padres: Rafael Hernández Hernández y Teresa Carvajal Hernández.

A mi hermana y su familia: María Elena Hernández Carbajal.

A mis hermanos y su madre: Misael, Ismael, Luis Enrique, Rafael y Reinalda.

A mis amigos Hugo Ramírez Ramírez, Luis Eduardo Calderón Amador y María Guadalupe Domínguez Ordoñez.

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco:

A la Universidad Autónoma Chapingo por otorgarme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado y los servicios que en ella se me facilitaron.

Al Posgrado en Producción Animal por haberme seleccionado para pertenecer a su grupo de estudiantes y formarme con todos sus recursos como Maestro en Ciencias.

Al Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico necesario para realizar mis estudios.

Al rancho Cantarranas por haber apoyado a la realización del experimento facilitando los animales y ayudando con sus recursos humanos en las actividades realizadas.

A Laboratorios Sanfer por apoyar aportando los productos de sus marcas necesarios para el experimento y sugerir ideas para mejorar el presente estudio.

Al Ph.D. Raymundo Rangel Santos por haberme dado la oportunidad de pertenecer a su grupo de estudiantes de maestría, por tus enseñanzas en el salón, a lo largo del experimento de tesis y consejos de vida.

Al Ph.D. Raymundo Rodríguez de Lara, Dr. José Artemio Cadena Meneses y Dr. Luis Alberto Miranda Romero por las observaciones e ideas para el documento de tesis, además por sus aportaciones para el incremento de mis conocimientos en las área que imparten.

DATOS BIOGRÁFICOS



Datos personales

Nombre: José Manuel Hernández Hernández

Fecha de nacimiento: 2 de diciembre de 1983

Lugar de nacimiento: Carrizal 5 de Febrero, Minatitlán, Veracruz

CURP: HEHM831202HVZRRN04

Profesión: Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia

Cédula profesional: 5549516

Desarrollo académico

Bachillerato: Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo

Licenciatura: Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia, Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo

Maestría: Maestro en Ciencias en Innovación Ganadera, Posgrado en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo

1 INTRODUCCIÓN GENERAL

Los indicadores reproductivos de vacas lecheras son bajos. Morales *et al.* (2000) reportaron 34% de gestación al primer servicio en vacas Holstein. Una de las causas de este bajo porcentaje es la endometritis. Al respecto, LeBlanc *et al.* (2002a) encontraron +5 días al primer servicio, -8.1% de gestación al 1er servicio, +28 días abiertos y +0.2 servicios por concepción en vacas con endometritis, en comparación con vacas sanas. La endometritis se caracteriza por infección, inflamación uterina e impactos negativos en fertilidad (Sheldon *et al.*, 2004). Las bacterias como *Arcanobacterium pyogenes* provoca lesiones de la superficie del epitelio, congestión vascular y presencia de células inflamatorias (Bondurant, 1999); estas últimas atacan por igual a bacterias, semen y embrión. Debido a la infección e inflamación, las vacas presentan crecimiento más lento del folículo dominante, menor concentración de estradiol y progesterona en plasma, y menor probabilidad de ovulación (Sheldon *et al.*, 2009), lo cual reduce la fertilidad. La infección puede ser controlada de manera espontánea, pero persiste la inflamación y el daño en el endometrio, lo cual puede dar lugar a endometritis subclínica (Kasimanickam *et al.*, 2004; Sheldon *et al.*, 2009) con impactos negativos en fertilidad.

La palpación rectal es el método de diagnóstico de endometritis más utilizado, sin embargo, es subjetivo y existen fallas en la evaluación (Azawi, 2008). Se han generado métodos de diagnóstico más confiables como la ultrasonografía y citología endometrial (Kasimanickam *et al.*, 2004; Barlund *et al.*, 2008). El diagnóstico del problema se podría apoyar identificando las bacterias involucradas en la infección (Konigsson *et al.*, 2001; Koblichke *et al.*, 2008).

El diagnóstico y tratamiento de la endometritis es clave para generar buenas respuestas en los programas de reproducción de los hatos lecheros. Los tratamientos incluyen antibióticos, hormonas y antisépticos. Los hormonales y antibióticos han mostrado efectividad en el tratamiento de la endometritis (Sheldon, 2009), sin embargo, no se ha investigado el efecto combinado con desinflamatorios. Estos últimos podrían mejorar la resolución de la endometritis subclínica y el comportamiento reproductivo de vacas lecheras. Sin embargo, sólo hay información del tratamiento combinado para metritis aguda (Drillich *et al.*, 2001) y en transferencia de embriones de equinos (Koblischke *et al.*, 2008), siendo la endometritis subclínica un gran problema debido a sus impactos en reproducción y a su alta incidencia. Por ejemplo, la incidencia de endometritis subclínica varía de 37 a 74% (Gilbert *et al.*, 2005; Sheldon *et al.*, 2009), y LeBlanc *et al.* (2002a) encontraron que la preñez total fue 10% inferior ($p<0.01$) y el número de servicios por concepción tendió a ser más alto (2.35 y 2.15; $p=0.06$) en animales con infecciones uterinas en comparación con los sanos.

En el Capítulo 2 se realizó una revisión de los antecedentes de definición, métodos de diagnóstico, patología, mecanismos de defensa, tratamientos e impactos en reproducción de la endometritis en vacas lecheras. Mientras que en el Capítulo 3 se presenta un artículo donde se evalúa la aplicación de oxitetraciclina más flunixin en la resolución de endometritis subclínica y el comportamiento reproductivo de vacas Holstein con endometritis subclínica.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Infecciones uterinas

El lumen del útero preparto está estéril, si sucede alguna contaminación bacteriana, ocurre reabsorción o aborto del producto. Después del parto la placenta es expulsada durante las primeras horas, y en la primera semana ocurren contracciones frecuentes del útero para expulsar los restos de membranas fetales y fluidos. De la segunda a la cuarta semana posparto, todo el tejido dañado por el parto debería estar recuperado y entonces reiniciar el crecimiento del primer folículo dominante, la ovulación y la formación de un cuerpo lúteo. A las seis semanas posparto el útero debe ser capaz de soportar una nueva gestación. Sin embargo, la metritis y endometritis clínica o subclínica son obstáculos para ello (Sheldon *et al.*, 2009). Las infecciones del útero también a los ovarios, hipotálamo y pituitaria ocasionando baja fertilidad e infertilidad (Sheldon *et al.*, 2004).

Los riesgos para el establecimiento de una infección uterina son el útero dañado por abortos, partos gemelares o retención de placenta, condiciones metabólicas inadecuadas (fiebre de leche, cetosis o desplazamiento de abomaso) y los desbalances entre la patogenicidad y la inmunidad debido al tipo de bacteria, niveles de progesterona (P_4) y estradiol (E_2), formación de un cuerpo lúteo (CL) e higiene ambiental (Sheldon *et al.*, 2004).

2.2 Producción de leche y endometritis

La producción de leche afecta negativamente el comportamiento reproductivo reduciendo la actividad ovárica debido a las altas demandas nutricionales (Nebel y McGilliard, 1993). Según estos autores, la selección para producción de leche ha incrementado las concentraciones plasmáticas de somatotropina y prolactina, los cuales son estimulantes de la lactancia, y disminuyen la insulina, hormona antagonista de la lactación, pero que favorece la actividad ovárica.

Esos cambios hormonales promueven la producción de leche, pero son detrimentales para el comportamiento reproductivo. La magnitud del balance energético negativo determina su impacto en la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y sus efectos en la secreción de gonadotropinas. Por ello, el manejo nutricional para reducir los impactos del balance energético negativo es clave. Entonces, la producción de leche (PL) por sí sola no es la responsable de influir positiva o negativamente en la actividad ovárica posparto, sino el balance energético (Wonchee *et al.*, 2002).

2.3 Tipos de infecciones uterinas

2.3.1 Piometra

La piometra se desarrolla típicamente después de la formación del CL activo durante el periodo posparto. Aparentemente las bacterias contaminan el útero durante o después del parto, particularmente cuando hay distocia o retención de placenta, la cual es removida manualmente (Lewis, 2003). Según este autor, en vacas que desarrollan infecciones uterinas, las bacterias proliferan debido a la supresión del sistema inmune por la progesterona del CL, persistiendo hasta la luteólisis. Esta última ayuda a romper el bloqueo al sistema inmune, con lo cual se favorece la resolución de la infección (Lewis, 2003).

2.3.2 Metritis

El útero está formado de tres capas funcionales que son la serosa, la cual es la capa más externa; el miometrio, que es un músculo localizado en la parte media, y el endometrio, la capa más interna compuesta de células epiteliales, vasos sanguíneos y nervios (Campling, 2008). La metritis es una inflamación de todos estos tejidos y se caracteriza por signos clínicos como fiebre, depresión, descargas fétidas y deshidratación (BonDurant, 1999; Frazer, 2005). El proceso degenerativo y de infiltración de células inmunológicas causa daño excesivo del epitelio luminal y glandular, y puede extenderse a toda la pared del útero (Foldi *et al.*, 2006). La incidencia de este tipo de infección, según Drillich *et al.* (2001),

fue de 18.5% hasta más de 40% (Sheldon *et al.*, 2004). El tratamiento debe implementarse si se pueden detectar al menos dos signos clínicos de la infección, como temperatura alta, y descargas purulentas o inapetencia, para alcanzar mayor confiabilidad en el diagnóstico (LeBlanc, 2008).

2.3.3 Endometritis clínica

La endometritis clínica fue definida por Sheldon *et al.* (2006) como la detección de descargas purulentas o moco purulentas en vagina 21 ó 26 d posparto, respectivamente. Se caracteriza por cambios degenerativos de la superficie del epitelio, congestión vascular con edema, y migración de neutrófilos y otras células inflamatorias al endometrio y cavidad uterina (Foldi *et al.*, 2006). La endometritis aguda causa fibrosis, leucocitosis, así como reducción y atrofia de las glándulas endometriales (Sheldon *et al.*, 2004). La incidencia de endometritis en vacas lecheras es de aproximadamente 10 a 20% (Sheldon *et al.*, 2009).

2.3.4 Endometritis subclínica

La endometritis subclínica se caracteriza por la inflamación de la pared del útero, con ausencia de los signos clínicos de endometritis clínica y reducción del comportamiento reproductivo (Sheldon *et al.*, 2009), además, no hay o existe mínima acumulación de exudado en el útero, pero sin descargas acompañadas de patógenos (Foldi *et al.*, 2006). La incidencia depende del criterio de definición y varía de 37 a 74% (Sheldon *et al.*, 2009). La definición actual de endometritis subclínica es cuando se detectan >18% ó >10% de neutrófilos entre 20 y 33 ó 34 y 47 d posparto, respectivamente, medidos con cepillo citológico, o la presencia de líquido en útero detectado con ultrasonografía en estos mismos intervalos de tiempo (Kasimanickam *et al.*, 2004).

Hill y Gilbert (2008) evaluaron el efecto de los componentes líquidos (sin células inmunológicas o endometriales) del útero con endometritis subclínica en la

calidad de embriones *in vitro*, y concluyeron que los embriones cultivados con este medio redujeron ($p<0.001$) las células trofotodermas (53 vs. 73) y el número total de células del embrión (83.1 vs. 99.8). Lo anterior puede significar que los productos de la inflamación afectan principalmente a las células trofotodermas, las cuales protegen a las células de la masa celular interna del daño por componentes como las citocinas, por lo cual se afectaría la sobrevivencia del embrión en un útero con endometritis subclínica.

2.4 Patogénesis de infecciones uterinas

El útero de alrededor del 90% de las vacas, en las primeras dos semanas posparto generalmente está contaminado por bacterias, pero no siempre se desarrolla una infección, ya que para ello debe haber adherencia a la mucosa, colonización del epitelio, y la liberación y producción de toxinas por las bacterias; también depende del balance entre la respuesta inmune del animal, presencia de sustratos tales como un útero sensibilizado, y la especie y número de bacterias (Williams *et al.*, 2005; Azawi, 2008; Sheldon *et al.*, 2009). Los autores mencionan que el balance puede inclinarse hacia la infección por factores de riesgo como la retención de placenta, distocia, partos gemelares y abortos. También afecta el estado hormonal, por ejemplo, la progesterona suprime el sistema inmunológico del útero y favorecer la infección (Sheldon *et al.*, 2004).

Las bacterias más asociadas con infecciones uterinas son *Escherichia coli*, *Arcanobacterium pyogenes* (en 41.3% de los casos, Petit *et al.*, 2009), *Prevotella spp.*, *Fusobacterium necrophorum* y *Fusobacterium nucleatum*. Se han encontrado bacterias patógenas en el 64% de los casos de infecciones uterinas, 44% potencialmente patógenas y 53% de bacterias oportunistas (Williams *et al.*, 2005). En la parte anterior del cérvix, se ha detectado 17.2% de bacterias patógenas gram positivas y 11.5% de gram negativas, incluyendo 8.8% con *E. coli*, mientras que 4.6% fueron bacterias no patógenas, y en vagina el 68.1% de la flora fue habitante normal de la mucosa debido a que no variaron

para vacas gestantes o vacías (Petit *et al.*, 2009). *Fusobacterium necrophorum* produce leucotoxinas, mientras que *Prevotella melaninogenica* produce una sustancia inhibitoria de la fagocitosis, *A. pyogenes* un factor de crecimiento para *F. necrophorum* y *E. coli* produce la endotoxina lipopolisacárido (LPS) (Sheldon *et al.*, 2009) causante de perturbación del crecimiento folicular, ovulación, y secreción de LH y estradiol (Miller *et al.*, 2007). Además, *A. pyogenes* expresa varios genes, como el PLO, que es una porolisina (citocina dependiente de colesterol) que es atraída hacia los dominios de las membranas celulares ricas en colesterol, en donde forman poros que causan la muerte a la célula debido a desequilibrio osmótico, lo que afecta la salud del endometrio e impacta negativamente en la fertilidad (Sheldon *et al.*, 2009). Sin embargo, la toxina filtrada de esta bacteria no causa disturbios en el endometrio o en la actividad ovárica de animales sanos (Miller *et al.*, 2007), pero cuando se aplica la bacteria viva en el útero, induce la producción de PGF_{2α} y la subsecuente luteólisis temprana que antecede a la ovulación; lo que parece confirmar que no afecta la ovulación (Kaneko y Kawakami, 2008). *A. pyogenes* se asoció con la expulsión de fluidos purulentos y mocopurulentos vía vaginal y olor fétido (Williams *et al.*, 2005). El Cuadro 1 muestra una clasificación de bacterias con relación a sus efectos patogénicos en hembras bovinas lecheras.

La mayoría de las vacas eliminan la contaminación bacteriana del útero en las primeras cinco semanas después del parto y sólo en el 10 a 17% de las vacas, la infección persiste acompañada de inflamación que podría ocasionar efectos adversos para la sobrevivencia embrionaria (Sheldon *et al.*, 2006). La concentración de bacterias en el exudado con algunas manchas de pus es similar a aquella en que es claro y podría ser indicador de la cura de la infección (Sheldon *et al.*, 2004). Algunos casos no se pueden detectar por métodos de diagnóstico convencionales y causan también impactos negativos en reproducción; clasificados como endometritis subclínica.

Cuadro 1. Clasificación de bacterias por su capacidad patogénica en el útero de vacas lecheras.

Patógenas	Potencialmente patógenas	Oportunistas
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Clostridium perfringes</i>
<i>Prevotella melaninogenicus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Micrococcus spp.</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Mannheimia haemolytica</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Fusobacterium necroforum</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	

Clasificación de Williams *et al.* (2005).

2.5 Mecanismos de defensa para infecciones uterinas

El útero cuenta con diferentes mecanismos de defensa para evitar y combatir la invasión y daño por algún agente extraño, como son las barreras físicas y fisiológicas, el sistema inmune innato y la formación de moléculas de memoria llamadas anticuerpos. En los siguientes subcapítulos se mencionan algunas características de cada una.

2.5.1 Sistema inmune celular

El sistema inmune innato es el principal responsable de combatir las infecciones uterinas a través de defensas anatómicas y fisiológicas, fagocíticas e inflamatorias (Bondurant, 1999).

Barreras anatómicas

Las barreras anatómicas son el límite entre el ambiente contaminado y el útero, que es relativamente estéril, e incluyen la vulva y el cérvix. El cérvix está compuesto por anillos de colágeno que reducen el paso al útero a cualquier agente extraño, además, produce moco que se torna gelatinoso en la fase lútea y ayuda a expulsar y evitar la entrada de estos agentes (Bondurant, 1999). Así

mismo, los músculos longitudinales y circulares del útero permiten la propulsión de distintos materiales, incluyendo microorganismos.

Sistema inmune innato de tipo celular

Si las barreras físicas han sido superadas, la siguiente línea de defensa es el sistema inmune innato de tipo celular, que incluye neutrófilos, eosinófilos, basófilos y macrófagos. Estos tipos celulares caracterizan la respuesta rápida del útero a una infección.

La presencia de bacterias es detectada por células inmunológicas y del endometrio, las cuales presentan receptores *toll-like* (TLRs) para el reconocimiento de ligandos bacterianos como péptidoglucano y lipopolisacárido (LPS) (Bondurant, 1999). Después del reconocimiento de los patógenos, las células del endometrio sintetizan citocinas (IL) inflamatorias como el factor de necrosis tumoral (TNF α), la IL1, 6, 8 y 12, las cuales ayudan a la activación de células inmunológicas y estimulan la secreción hepática de proteínas de fase aguda, además de funcionar como moléculas quimiotácticas de células inmunológicas (Herath *et al.*, 2006). Estas moléculas atraen al primer tipo celular del sistema inmune que son los neutrófilos (Tizard, 2002). Una vez que los neutrófilos llegan al área dañada se inicia la fagocitosis, la cual incluye adherencia a la bacteria, ingestión y digestión (Bondurant, 1999). La actividad fagocítica de los neutrófilos es estimulada por el sistema del complemento y anticuerpos, los cuales neutralizan la carga eléctrica de la bacteria que repele al neutrófilo y evita la adherencia (Tizard, 2002). Los neutrófilos destruyen a las bacterias agregando al fagosoma (vacuola que contiene a la bacteria) diferentes enzimas, como lisosimas, proteasas y mieloperoxidasas, también destruye bacterias produciendo radicales libres. La funcionalidad de los neutrófilos es afectada negativamente por productos de *E. coli* y *A. pyogenes*, cuando se encuentran juntas, sin embargo, los productos de esta última bacteria estimulan la fagocitosis (Zerbe *et al.*, 2001).

El segundo tipo celular que llega al área dañada es el macrófago (Bondurant, 1999). A diferencia de los neutrófilos, este tipo celular puede mantener su capacidad fagocítica debido a que tiene la capacidad de recargar sus necesidades de nutrientes; además, producen citocinas, ayudan a la reparación de los tejidos y procesan antígenos en preparación para la respuesta inmune adquirida (Tizard, 2002). Aparentemente la fagocitosis es similar a como la realizan los neutrófilos.

2.5.2 Sistema inmune adquirido

La tercera línea de defensa del animal es el sistema inmune adquirido que involucra a anticuerpos, linfocitos y complejo mayor de histocompatibilidad y sistema del complemento. Este sistema mantiene memoria de microorganismos invasores anteriores, lo cual ayuda a una respuesta más rápida en caso de una reinvasión.

Complejo mayor de histocompatibilidad

Durante una reacción inmunitaria adquirida, partes de los organismos invasores son procesadas y presentadas en sus membranas a los linfocitos (Bondurant, 1999). Este es requisito para la activación del sistema inmune adquirido. Para la presentación del antígeno es necesaria la unión a una molécula presentadora llamada molécula de histocompatibilidad (Tizard, 2002). Las moléculas presentadoras son glucoproteínas receptoras especializadas codificadas por genes que se localizan en un complejo génico llamado complejo mayor de histocompatibilidad (MHC).

Inmunidad adquirida mediada por células

La respuesta inmunológica mediada por células incluye a los linfocitos que son específicamente linfocitos T, B y células NK (asesinas naturales). Los linfocitos T de ayuda (Th) reciben la señal del antígeno presentado por macrófagos, células dendríticas o linfocitos B unida al MHC, para iniciar la respuesta

inmunológica por parte de los linfocitos T citotóxicos (Tizard, 2002), además estimulan la secreción de citocinas y la proliferación de linfocitos (Bondurant, 1999). Los linfocitos B son los encargados de producir anticuerpos específicos como respuesta a la unión de antígenos y la activación por parte de los linfocitos Th, además, son procesadores de antígenos (Tizard, 2002). Los linfocitos B se pueden transformar en células plasmáticas, responsables de la síntesis de anticuerpos, y en células de memoria.

Los antígenos bacterianos procesados y presentados en la superficie de macrófagos, solos o con el complejo mayor de histocompatibilidad II (MHC II) estimulan a los linfocitos Th para secretar citocinas (IL2), las cuales pueden después estimular la proliferación de linfocitos B y producir anticuerpos específicos (Bondurant, 1999). Además, las citocinas sintetizadas por linfocitos Th induce la proliferación de linfocitos T y B en los nódulos linfáticos locales y regionales; estos linfocitos pueden migrar después al área dañada como respuesta inmunológica mediada por células y anticuerpos.

2.5.3 Citocinas

Las citocinas son moléculas sintetizadas por células inmunológicas y de los tejidos que tienen diversas funciones. Las citocinas más importantes son la IL1, 6, 12 y el factor de necrosis tumoral (TNF) (Bondurant, 1999). Las citocinas son potentes estimuladoras de proteínas de fase aguda, como la glicoproteína ácida α 1, la cual reduce el apetito y sequestran minerales, para reducir el desarrollo de microorganismos.

TNF

El TNF existe en la forma α y β , el primero activa macrófagos y puede inducir la apoptosis, mientras que el segundo también induce apoptosis y activa neutrófilos, macrófagos y linfocitos B (Tizard, 2002). Kim *et al.* (2005) encontraron que el nivel de TNF α aumentó de manera lineal ($p=0.002$) desde la primera a la cuarta semana posparto en vacas sanas, mientras que en las

vacas enfermas no hubo cambio ($p=0.06$), y el nivel de TNF fue mayor ($p<0.01$) en animales enfermos en la tercera y cuarta semana. Esto podría indicar un problema infeccioso, y que las vacas sanas disminuyeron las concentraciones de TNF α porque limpiaron el útero alrededor de tres semanas posparto.

IL1

Durante el parto hay incremento de IL1, resultando en el tráfico de leucocitos al lumen del útero por incremento de la vasodilatación (Bondurant, 1999). Esta citocina incrementa el calcio en sangre, promoviendo la contracción uterina y la evacuación de desechos del útero, además, estimula la síntesis de prostaglandinas ($F_{2\alpha}$ y E_2) para promover la contracción y evacuación.

IL6

La IL6 es proinflamatoria y se produce en la etapa tardía de la inflamación, activa a los neutrófilos maduros y promueve la maduración y diferenciación de monocitos a macrófagos, y la diferenciación de células asesinas naturales (NK). También actúa como factor de crecimiento e induce la expresión de receptores en células endometriales con lo cual se incrementa la sensibilidad a oxitocina. Altas concentraciones de IL6 se asocian con endometritis (Bondurant, 1999).

Leucotrieno B4

El leucotrieno B4 parece ser un potente quimiotáctico que induce la llegada de neutrófilos al lumen uterino (Tizard, 2002). La aplicación única de una solución de 30 nmol/L de leucotrieno B4 incrementó la concentración de leucocitos en útero 5 a 10 veces (Dhaliwal *et al.*, 2001).

Anticuerpos

Los anticuerpos o inmunoglobulinas (IgA, IgE, IgG) son glucoproteínas producidas por los linfocitos B que tienen la función de unirse a agentes extraños como bacterias y provocar su destrucción con la ayuda del sistema del

complemento y células fagocíticas (Tizard, 2002). Con excepción de las IgE, todas las inmunoglobulinas han sido encontradas en las secreciones del útero (Bondurant, 1999). La IgA puede bloquear la adhesión de patógenos a las mucosas, mientras que la IgG puede marcar a los microorganismos para su destrucción y activar el complemento.

Sistema del complemento

Los anticuerpos marcan a los microorganismos para su destrucción y el sistema del complemento une diferentes proteínas (C3a, C5a) al agente extraño para ser destruido por células del sistema innato (Tizard, 2002). Las moléculas del sistema del complemento son sintetizadas en su mayoría por el hígado y los macrófagos, y se necesita de la unión antígeno anticuerpo para su activación.

2.6 Influencia hormonal en la inflamación y mecanismos de protección

Las citocinas proinflamatorias estimulan la síntesis de proteínas de fase aguda que delimitan el tejido dañado y promueven su reparación, como la glicoproteína ácida $\alpha 1$ (Williams *et al.*, 2005). La barrera fagocítica más importante es la infiltración de neutrófilos de la circulación, los cuales destruyen a las bacterias invasoras y producen pus cuando mueren (Sheldon *et al.*, 2004). La fagocitosis y muerte bacteriana por parte de los neutrófilos incluye quimiotaxis (movimiento de los neutrófilos hacia las bacterias invasoras bajo la dirección de diferentes sustancias tales como productos bacterianos), opsonización, adherencia, ingestión y digestión (Azawi, 2008). Los neutrófilos, a través de las citocinas y quimiocinas (producidas por linfocitos), dirigen la respuesta inflamatoria, sin embargo, en la mayoría de los animales su función es reducida días antes y después del parto, y es más marcada en animales con balance energético negativo (Hammon *et al.*, 2006; Sheldon *et al.*, 2009). Al respecto, Kim *et al.* (2005) determinaron que los niveles de neutrófilos, leucocitos, linfocitos y monocitos en sangre fueron superiores, una semana antes del parto, al parto, y a las semanas 1, 2, 3 y 4 posparto, en vacas que

desarrollaron endometritis comparado con las vacas sanas ($p<0.05$). Sin embargo, la capacidad fagocítica de los leucocitos fue uniformemente inferior en los animales con endometritis comparativamente con vacas sanas ($p<0.01$).

El incremento en las concentraciones plasmáticas de ácidos grasos no esterificados, cuerpos cetónicos y β OH-butirato, además de la deficiencia de vitamina A, E y selenio reducen la migración, fagocitosis y eliminación de patógenos por los neutrófilos y otros leucocitos, incrementando la susceptibilidad del hospedero a los patógenos (Foldi *et al.*, 2006). Lo cual fue confirmado por Hammon *et al.* (2006), quienes tomando muestras de sangre una semana antes del parto, en la del parto, de la 1-4 y a la octava semana posparto para hacer pruebas de actividad de mieloperoxidasa (actúa catalizando $\text{Cl}^- + \text{H}_2\text{O}_2 \rightleftharpoons \text{HOCL} + \text{H}_2\text{O}$ para producir agentes antimicrobianos de los neutrófilos) en neutrófilos, concluyeron que las vacas con elevadas concentraciones de ácidos grasos no esterificados (NEFA) antes del parto y bajo consumo (semana -2 a -1) tuvieron menor ($p<0.02$) actividad de mieloperoxidasa comparadas con las vacas normales, lo cual se asoció con mayor incidencia de endometritis subclínica y metritis (Hammon *et al.*, 2006), debido probablemente a una reducción de la actividad fagocitaria de los neutrófilos. Por ello, uno de los principios de la prevención de infecciones uterinas es optimizar el sistema inmune, principalmente a través de la alimentación alrededor del parto (LeBlanc, 2008).

2.7 Efecto hormonal en el sistema inmune

La progesterona, estradiol y prostaglandinas juegan un papel importante en la inmunidad uterina. La P_4 actúa en la diferenciación de las glándulas endometriales, inhibición de la secreción de moco cervical y prevención de las contracciones uterinas, lo que convierte al útero normalmente resistente a infecciones en un órgano sensible a éstas (Azawi, 2008). En contraste, el E_2 incrementa el moco cervical que funciona como una barrera física y de dilución de toxinas, además, aumenta las células inmunes circulantes y la irrigación

sanguínea al útero, lo que conlleva al incremento de la infiltración de células inmunes y fagocitosis bacteriana en este órgano. Sin embargo, no es claro si el incremento de E_2 favorece el sistema inmune, o la reducción de P_4 rompe el bloqueo sobre el sistema inmune, pero se sabe que actúan a favor del animal debido a que el E_2 se incrementa favoreciendo el sistema inmune en momentos potenciales de entrada de microorganismos, y la P_4 lo suprime cuando el riesgo es menor, para que el útero pueda mantener una posible gestación (Azawi, 2008). Además, la $PGF_{2\alpha}$ mejora la habilidad de los neutrófilos para ingerir bacterias y estimula la producción de citocinas proinflamatorias, las cuales favorecen la fagocitosis y la función de linfocitos.

2.8 Actividad ovárica y endometritis

En vacas posparto a medida que la concentración de E_2 decrece, hay incremento continuo de la hormona folículo estimulante (FHS) y el surgimiento de una onda de crecimiento folicular de la cual emerge un folículo dominante entre 10 y 14 d después del parto. El destino de ese folículo dominante depende de la frecuencia de pulsos de LH (Herath *et al.*, 2006). En animales normales, dicha frecuencia se incrementa en respuesta al estradiol secretado por el crecimiento del folículo dominante culminando en el pico preovulatorio de LH, y la subsecuente ovulación y formación de un CL. Durante los siguientes ciclos ováricos hay dos o tres ondas foliculares, la selección de un folículo dominante y la ovulación. La luteólisis es iniciada por la oxitocina sintetizada en el CL. La oxitocina induce la formación de receptores en el endometrio uterino para estimular la síntesis de prostaglandina $F_{2\alpha}$, la cual pasa al ovario. Estos ciclos son regulares hasta la preñez del animal, aunque, las infecciones uterinas los afectan (Herath *et al.*, 2006).

El anestro y la longitud de la fase luteal parecen estar relacionadas con infecciones uterinas. El útero infectado tiende a mantener un CL conservando a las vacas en estado progestacional, lo que inhibe la ovulación y favorece el desarrollo de infecciones (Wonchee *et al.*, 2002). Las bacterias estimulan la

secreción de prostaglandinas $\text{PGF}_{2\alpha}$ y PGE_2 , y probablemente el efecto en la vida útil del cuerpo lúteo depende de la prostaglandina que predomine, por ejemplo, si domina la PGE_2 , habrá poca $\text{PGF}_{2\alpha}$ y el animal tendrá una fase lútea larga (Sheldon *et al.*, 2009). La aplicación de P_4 que se asemejaría a la fase luteal, reduce la circulación de $\text{PGF}_{2\alpha}$, eleva las concentraciones de PGE_2 y la sensibilidad a bacterias patógenas (Foldi *et al.*, 2006). Sheldon *et al.* (2009) mencionan que las vacas con una infección del tracto reproductivo tienen crecimiento más lento del folículo dominante, y menor concentración de E_2 y P_4 en el plasma y menor probabilidad de ovulación. La toxina llamada lipopolisacárido, proveniente de la *E. Coli* es una de las causales de la reducción de la esteroidogénesis ya que afecta el funcionamiento de la pituitaria y el hipotálamo. Sin embargo, la infección bacteriana no afecta la emergencia de folículos y la secreción de FSH (Sheldon *et al.*, 2002). En un estudio realizado por LeBlanc *et al.* (2002b) concluyeron que cuando los animales desarrollaron cuerpo lúteo y folículos con tamaños para ovular, hay un incremento en la probabilidad de preñez en animales con endometritis. La actividad ovárica es superior en animales sanos ($p < 0.001$). Similarmente, Senosy *et al.* (2009) mostraron que los animales con evidencias de inflamación uterina reinician su actividad ovárica más tarde.

2.9 Métodos de diagnóstico de endometritis

Los métodos de diagnóstico más confiables de endometritis son la biopsia o los estudios bacteriológicos; sin embargo, son tardados y no permiten tomar decisiones al momento (Williams *et al.*, 2005). Existen métodos más prácticos, como la palpación rectal, la vaginoscopía, citología y ultrasonografía, pero su precisión es variable.

2.9.1 Palpación rectal

La palpación rectal como método de diagnóstico de una patología uterina es subjetiva y predispone al técnico a un sesgo (Frazer, 2005), identifica sólo el

22% de casos de endometritis comparando con aislamiento bacteriológico, y a pesar de ello, es el método de diagnóstico más utilizado (LeBlanc, 2008). Sin embargo, no es posible detectar casos de endometritis subclínica a través de este método (Kasimanickam *et al.*, 2004).

Varios trabajos se han realizado utilizando este método, por ejemplo, LeBlanc *et al.* (2002a) determinaron que el diámetro cervical >7.5 cm se asocia con reducción en la tasa de preñez. Los autores reportaron 4.9% de endometritis con este parámetro, mientras que utilizando como criterio el largo del cérvix y la detección de pus por masaje vaginal y cervical, la incidencia fue de 1.7%. La precisión del diagnóstico de endometritis por simple observación del moco vaginal es cuestionable (Wonchee *et al.*, 2002).

2.9.2 Vaginoscopía

La vaginoscopía es una técnica rápida y simple para el diagnóstico de la endometritis, que se basa en la presencia de exudado cervical. LeBlanc *et al.* (2002a) categorizaron el moco detectado con el vaginoscopio y concluyeron que aquel con consistencia mocopurulenta se asoció con reducción en 20% de la probabilidad de preñez después de los 27 d posparto, mientras que el que tuvo sólo puntos de pus no causó ($p=0.26$) reducción de ésta; hallazgos que caracterizan la endometritis clínica. Sin embargo, se tiende a subestimar esta patología (Barlund *et al.*, 2008). Al respecto, Kasimanickam *et al.* (2004) mencionan que la detección de descargas uterinas con vaginoscopio podría estar influida por la severidad de la infección, contracciones uterinas, conformación perianal y ejercicio; por ejemplo, el incremento de la producción de moco cervical y las contracciones uterinas durante el estro podrían incrementar la probabilidad de detectar descargas vaginales; lo contrario podría ocurrir en diestro. Los autores sólo diagnosticaron 9% de los animales con endometritis fueron diagnosticados comparado con la citología endometrial y ultrasonografía. A pesar de estos puntos en contra, la detección de endometritis por vaginoscopía es más precisa que la palpación rectal (Barlund *et al.*, 2008).

El Cuadro 2 presenta la incidencia de endometritis publicada aplicados por diferentes autores y diagnosticada por vaginoscopía considerando la descarga de pus como criterio.

Cuadro 2. Incidencia de endometritis diagnosticada por vaginoscopía, tomando como criterio la descarga de pus, publicada en diferentes fuentes.

Fuente	DEL ^z , d	Endometritis, %
LeBlanc <i>et al.</i> (2002)	20-33	7.4
Kasimanickam <i>et al.</i> (2004)	20-33	9.1
Barlund <i>et al.</i> (2008)	28-41	10.4

^zDEL: días en leche

2.9.3 Citología endometrial

La biopsia endometrial es la técnica de diagnóstico más exacta para detectar inflamación uterina, ya que con ésta se puede diagnosticar correctamente alrededor del 84% de los animales con endometritis, además tiene una sensibilidad del 92% y especificidad del 77% (Bonnett *et al.*, 1993), pero se argumenta que es costosa para su uso en ganado y puede afectar negativamente la fertilidad (Barlund *et al.*, 2008). Por ello se han desarrollado otros métodos de diagnóstico como la citología endometrial y el lavado uterino que son menos invasivos para evaluar la inflamación.

La acumulación de líquidos en el útero está acompañada en la mayoría de los casos de neutrófilos, y la determinación de la proporción de éstos ha sido aceptada como criterio de diagnóstico de endometritis (Barlund *et al.*, 2008). Se ha demostrado que hay un incremento de hasta 90% de neutrófilos en úteros con inflamación clínica o subclínica (Kasimanickam *et al.*, 2004). Existen dos enfoques para medir la proporción de neutrófilos; el primero es contabilizando todos los tipos de células en la muestra tomada, excepto eritrocitos, y se expresa el porcentaje de neutrófilos en relación al total de células nucleadas, y

la otra forma es expresar los neutrófilos como porcentaje de células epiteliales; sin embargo, no está claro cuál es el mejor criterio (Barlund *et al.*, 2008).

Kasimanickam *et al.* (2004), usando la citología endometrial con cepillo citológico definieron endometritis subclínica al encontrar >18% de neutrófilos en muestras colectadas 20 a 33 d posparto, o >10% de neutrófilos entre 34 y 47 d. La sensibilidad y especificidad del estudio fue de 0.36 y 0.94, e implica que la tasa de preñez como referencia de definición de endometritis es poco precisa, ya que influyen en ella otros factores diferentes a las infecciones uterinas, sin embargo, la especificidad es alta e indica que los animales positivos se diagnosticaron correctamente. En otro estudio similar se definió endometritis subclínica con >8% de neutrófilos, pero a diferencia de otros autores, no se aplicaron tratamientos a los animales y argumentan que pudo haber sido la explicación a las diferencias entre las distintas proporciones que definieron la infección (Barlund *et al.*, 2008). Hasta ahora no se ha determinado una proporción estándar de neutrófilos que defina a la endometritis subclínica (Sheldon *et al.*, 2009).

La incidencia de endometritis en diferentes hatos fue de 0 a 23.5% (Barlund *et al.*, 2008) usando cepillo citológico, mientras Gilbert *et al.* (2005) reportaron que con lavado uterino, la incidencia en cinco hatos varió de 37 a 74%. Kasimanickam *et al.* (2005a) compararon los dos métodos y concluyeron que el muestreo con cepillo citológico fue superior en todas las mediciones, indicando que es más legible y repetible ($r=0.85$) que el lavado para obtener muestras citológicas. Esto se debió a que con el lavado se tienen intentos fallidos en la recolección de líquidos, es más tardado y probablemente más irritante (se encontraron mayores cantidades de glóbulos blancos). La obtención de una muestra citológica con cepillo podría causar algún grado de inflamación uterina, a pesar de ello, Kaufmann *et al.* (2008) mencionan que no hay efectos ($p>0.05$) negativos en preñez al primer servicio de vacas lecheras cuando se utiliza el cepillo citológico para diagnóstico comparando con animales no diagnosticados

(43.3 vs. 41.7%). En el Cuadro 3 se muestran distintos criterios y métodos de diagnóstico de endometritis por citología endometrial.

Cuadro 3. Criterios de diagnóstico de endometritis por citología endometrial.

Método	DEL ^z , d	Neutrófilos, %	Endometritis, %	Fuente
Cepillo	34-47	>10.0	34.0	Kasimanickam <i>et al.</i> (2004)
	20-33	>18.0	35.0	Kasimanickam <i>et al.</i> (2004)
	28-41	>8.0	11.8	Barlund <i>et al.</i> (2008)
	PIA	>15.0	13.4	Kaufmann <i>et al.</i> (2008)
	40-60	>5.0	53.0	Gilbert <i>et al.</i> (2005a)
Lavado	28-41	>8.0	15.8	Barlund <i>et al.</i> (2008)
	24-57	>5.5	34.0	Santos <i>et al.</i> (2008)

^zDEL: Días en leche, PIA: 4 h posinseminación

La citología endometrial es una técnica validada para diagnosticar endometritis subclínica en vacas lecheras que se correlaciona con reducción en el comportamiento reproductivo (Gilbert *et al.*, 2005; Kasimanickam *et al.*, 2005; Barlund *et al.*, 2008), pero en vacas para carne dicha correlación no se da, por ello no es una herramienta de diagnóstico válida en animales para ese propósito y significa también que la endometritis subclínica no es de importancia en el comportamiento reproductivo de vacas para carne (Santos *et al.*, 2008).

2.9.4 Ultrasonografía

La acumulación de fluidos intrauterinos se ha asociado con crecimiento bacteriano (Barlund *et al.*, 2008). El uso de ultrasonografía para diagnosticar endometritis subclínica ha consistido en usar imágenes ecogénicas de fluidos presentes en el lumen del útero después de 21 d posparto (Sheldon *et al.*, 2009) y tiene la ventaja sobre los otros métodos de obtenerse un diagnóstico inmediato (Barlund *et al.*, 2008). Sin embargo, los últimos autores mencionan

que cuando se utiliza como método único de diagnóstico no es suficientemente específico para identificar la infección. El Cuadro 4 presenta dos criterios de diagnóstico de endometritis subclínica por ultrasonografía.

Cuadro 4. Criterios de diagnóstico de endometritis por ultrasonografía.

Método ^z	DEL ^y , d	Nivel, mm	Endometritis, %	Fuente
FEU	28-41	>1	24	Barlund <i>et al.</i> (2008)
	28-41	>3	10	Barlund <i>et al.</i> (2008)
	20-33	-	48	Kasimanickam <i>et al.</i> (2004)
	34-47	-	26	Kasimanickam <i>et al.</i> (2004)
DENDO	28-41	>7	25	Barlund <i>et al.</i> (2008)
	28-41	>8	10	Barlund <i>et al.</i> (2008)

^yDEL: Días en leche, ^zMétodo FEU: Fluidos en útero y DENDO: diámetro de endometrio

2.10 Tratamientos para infecciones uterinas

Los tratamientos más comunes para endometritis han sido la administración de antibióticos y la inducción del estro. Las limitaciones del uso de antibióticos se deben a restricciones gubernamentales, por ello, la sincronización del celo con prostaglandinas ha sido más utilizada.

La efectividad de cura de los tratamientos para endometritis varía de 40 a 72% comparado con 33% de cura espontánea; es posible que un porcentaje de animales curados de endometritis clínica pudieran tener endometritis subclínica (Sheldon *et al.*, 2009). Sin embargo, Wonchee *et al.* (2002) publicaron que no hubo diferencias entre vacas no tratadas, con y sin infección uterina, en

variables reproductivas. Los resultados fueron afectados por el método de diagnóstico que fue palpación rectal.

2.10.1 Terapias hormonales

Prostaglandina $F_{2\alpha}$

La $PGF_{2\alpha}$ influye en la quimotaxis y habilidad de los neutrófilos para ingerir bacterias, y la producción de citocinas proinflamatorias que promueven la fagocitosis (Lewis, 2003). Esta hormona se produce naturalmente en la pared uterina, proviene del metabolismo del ácido araquidónico y se metaboliza rápidamente en los pulmones. La respuesta del miometrio a las prostaglandinas ($PGF_{2\alpha}$ o PGE_2) depende de los receptores que se encuentren en las distintas regiones y su activación puede inducir contracción o relajación. La concentración de receptores para $PGF_{2\alpha}$ en el miometrio de ratas es alta en la gestación avanzada, pero se reduce considerablemente después del parto (Frazer, 2005). En vacas ciclando la $PGF_{2\alpha}$ causa luteólisis y como resultado la disminución de la concentración de P_4 y el estro, acompañado de contracciones uterinas que podrían ser causadas en parte por la $PGF_{2\alpha}$ y sus receptores en el miometrio (LeBlanc, 2008).

La administración de $PGF_{2\alpha}$ es el tratamiento a elegir para tratar la endometritis cuando está presente un CL (Sheldon *et al.*, 2004). Sheldon y Noakes (1998) determinaron que los animales tratados con $PGF_{2\alpha}$ (cloprostenol) y teniendo un CL activo (>7 ng de P_4 /mL en leche), el 80% de los animales se curaron de endometritis comparado con aquellos sin CL activo que resolvieron sólo el 58% de los casos ($p<0.05$). Sin embargo, LeBlanc *et al.* (2002b) reportaron que no hubo diferencias ($p>0.9$) en la resolución de endometritis clínica aplicando $PGF_{2\alpha}$ o sin tratamientos teniendo 77% de curaciones, pero coinciden con Sheldon y Noakes (1998) en que hay efectos positivos de la presencia del CL en animales con endometritis, ya que en dicho estudio los animales sin CL tuvieron 30% de reducción en la tasa de preñez ($p<0.05$).

Los efectos de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ sobre la curación de infecciones uterinas no están completamente explicados, por ejemplo, existe duda si la $\text{PGF}_{2\alpha}$ es efectiva porque estimula al sistema inmune o porque rompe la supresión del sistema inmune debida a la P_4 secretada por un CL activo (Lewis 2003). El autor planteó una serie de experimentos para explicar dicha interrogante. En el estudio se utilizaron cerdas en fase luteal (antes del día 12 después del celo) a las cuales se les aplicó *A. pyogenes* y *E. coli* para inducir la infección (día 7), posteriormente en el día 9 se aplicó o no una dosis de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Se evaluó el efecto en la curación de la infección y la actividad inmune. En todos los casos con infusión bacteriana hubo desarrollo de infección, lo contrario ocurrió en cerdas no estimuladas, y en ningún caso ocurrió regresión del CL. En conclusión, la aplicación de $\text{PGF}_{2\alpha}$ mejoró la proliferación de linfocitos en cerdas estimuladas con bacterias bajo la influencia de P_4 del CL, además, influyó en la resolución de la infección bacteriana. Los resultados se repitieron en ovejas, por lo cual Lewis (2003) concluyó que la aplicación exógena de $\text{PGF}_{2\alpha}$ puede favorecer la función inmune y bloquear o reducir los efectos de supresión de la P_4 sobre el sistema inmune, aún bajo concentraciones luteal.

La aplicación de $\text{PGF}_{2\alpha}$ en vacas con endometritis clínica generó efectos positivos en el comportamiento reproductivo. Kasimanickam *et al.* (2005b) aplicaron $\text{PGF}_{2\alpha}$ a vacas con endometritis subclínica y reportaron que se incrementó ($p<0.05$) la tasa de preñez de vacas en 70% y los días abiertos se redujeron en 78 d ($p=0.06$) en comparación con las vacas testigo no tratadas; mientras que en vacas sanas no hubo efecto de ningún tratamiento ($p>0.01$). Cuando los autores tomaron en cuenta si el animal tuvo endometritis subclínica o no, el tratamiento con $\text{PGF}_{2\alpha}$ incrementó ($p<0.01$) la tasa de preñez en 63% y la tasa de preñez al primer servicio en 64% ($p<0.05$) en comparación con el control. Los efectos de la prostaglandina fueron similares a los obtenidos utilizando cefapirin ($p>0.05$).

GnRH

La aplicación de GnRH a los 16 d posparto en vacas con endometritis diagnosticada por palpación rectal causó mayores servicios por concepción en comparación con vacas no tratadas (2.3 vs. 3.8), lo que pudo deberse a la posible ovulación y formación de un CL, induciendo una fase progestacional que favorece el establecimiento de una infección (Wonchee *et al.*, 2002). Sin embargo, cuando se combina la aplicación de GnRH con una dosis de PGF_{2α}, mejora el porcentaje de curaciones (96 vs. 82; $p<0.05$) y la preñez al primer servicio (51.7 vs. 36.4; $p<0.05$) en comparación con el control (Janowski *et al.*, 2001). La aplicación secuencial de GnRH y PGF_{2α} en vacas con endometritis puerperal afectó positivamente la función ovárica e involución uterina, resultando en mejoramiento del comportamiento reproductivo.

Estrógenos

El estradiol en dosis de 5 a 10 mg/animal para el tratamiento de endometritis es igual de efectivo que el uso de PGF_{2α} y superior a la cura espontánea, pero tiene el inconveniente de incrementar los días abiertos en comparación con las prostaglandinas y antibióticos (Sheldon *et al.*, 2004).

2.11 Flunixin

El flunixin (FM) es una droga antiinflamatoria no esteroidal que actúa inhibiendo la ciclooxigenasa, la cual interviene en la síntesis de prostaglandinas provenientes del ácido araquidónico (Konigsson *et al.*, 2003). Las concentraciones de PGM, metabolito de las prostaglandinas declinaron 15 minutos después de la aplicación de FM, independientemente de la vía de aplicación (oral, intravenosa o intramuscular); y se mantuvieron bajas por poco tiempo (10 h) cuando se aplicó FM alrededor del parto y por más tiempo (22 h) cuando las concentraciones de PGM fueron bajas en el puerperio. La aplicación intravenosa de FM genera concentraciones plasmáticas altas rápidamente y disminuyen hasta concentraciones no detectables 12 h después de la

aplicación; mientras que la vía intramuscular tiene una biodisponibilidad de 76% (Anderson *et al.*, 1990).

En vacas con endometritis aguda puerperal, la aplicación de 2.2 mg/kg de FM más 1 mg/kg de ceftiofur no mejoró la curación y comportamiento reproductivo en comparación con el ceftiofur (Drillich *et al.*, 2007). Los resultados son similares a los reportados por Königsson *et al.* (2001) quienes aplicaron flunixin más oxitetraciclina en vacas con retención de placenta y los publicados por Odensvik y Fredriksson (1993), quienes realizaron aplicaciones múltiples de FM para mejorar la involución uterina.

La aplicación de FM para mejorar el comportamiento reproductivo ha generado resultados variables, por ejemplo, la aplicación intravenosa de flunixin en yeguas con inflamación inducida por los espermatozoides no mejoró la tasa de preñez en comparación con el testigo (50 vs. 63%; $p>0.05$) (Risco *et al.*, 2009). Adicionalmente, Koblichke *et al.* (2008) aplicaron FM por 6 d, empezando un día antes de la transferencia y hasta el día cuatro después, para comprobar la hipótesis de que la manipulación del cérvix induce endometritis subclínica y muerte embrionaria temprana, y que el FM la reduce y mejora la sobrevivencia embrionaria. Los autores concluyeron que el tratamiento de yeguas receptoras con FM tuvo efectos positivos en la sobrevivencia embrionaria. En bovinos, Merrill *et al.* (2007) evaluaron el efecto de FM (1.1 mg/kg), 14 d pos IA, en la tasa de preñez de vacas de carne transportadas o no de un rancho a otro y encontraron que las vacas que recibieron FM tuvieron mayor ($p<0.05$) tasa de preñez que las no tratadas (71 vs. 61%), independientemente de si fueron transportadas o no. Sin embargo, en vacas y vaquillas, la aplicación de FM 13 d después de la IA, no mejoró el establecimiento de la gestación, y en algunos casos la redujo (FM, 66%, y control, 72%; $p<0.05$) (Geary *et al.*, 2010). Los trabajos se basan en el hecho de que el FM bloquea la síntesis temprana de $\text{PGF}_{2\alpha}$, lo que ayuda al reconocimiento de la preñez. Cuando se utilizan antiinflamatorios de larga vida media, como el Meloxicam, se han obtenido

resultados desfavorables en el porcentaje de preñez de vaquillas. Erdem y Guzeloglu (2009) aplicaron dicho desinflamatorio 15 d después de la inseminación y se preñaron el 37 y 52% de los animales con y sin tratamiento ($p < 0.01$).

2.12 Terapias con antibióticos

Los antibióticos como terapia de endometritis son variados, por ejemplo, el uso de oxitetraciclina, penicilina y ceftiofur. Las vías de aplicación más comunes son la local y parenteral. Según Azawi (2008), los antibióticos aplicados para corregir infecciones uterinas deberían cumplir con tres criterios: 1) tener actividad en el ambiente del útero bajo condiciones anaeróbicas y con desechos orgánicos, siendo las sulfamidas un ejemplo de antibiótico no funcional; 2) el antibiótico debe estar en suficiente concentración en el sitio de infección, lo cual depende de sus propiedades y de la sustancia usada como vehículo, además debe tener buena penetración en el endometrio; y 3) la acción del antibiótico no deberá inhibir los mecanismos de defensas del animal y tampoco inducir irritación del endometrio, ya que para la resolución del problema se requiere de la participación activa del sistema inmunológico. Algunos investigadores mencionan que la irritación causada por los antibióticos es un problema importante a considerar (Shams-Esfandabadi *et al.*, 2004).

Oxitetraciclina

La oxitetraciclina es un antibiótico bacteriostático de amplio espectro, que penetra a la célula bacteriana y ejerce su acción por inhibición de la síntesis proteínica, impidiendo la relación codón-anticodón bajo la dirección del ARN mensajero (Connamacher y Mandel, 1965). La aplicación de oxitetraciclina por vía uterina produce concentraciones terapéuticas en el endometrio de vacas sanas o enfermas y, debido a que la absorción es baja, la acción se limita al lumen y endometrio; además, dicho antibiótico es activo en condiciones anaeróbicas y se inactiva parcialmente por el material purulento, por lo cual es

la terapia intrauterina más utilizada (Azawi, 2008). La aplicación intrauterina de oxitetraciclina resulta en altas concentraciones 72 h después del tratamiento, y es mayor en vacas con endometritis; mientras que la inyección intramuscular del antibiótico genera una concentración 100% más alta 24 h pos aplicación en el tracto reproductor que en la circulación periférica (Masera *et al.*, 1980).

Gani *et al.* (2008) concluyeron que *Staphylococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *E. coli*, y *Pseudomonas spp.*, fueron altamente sensibles a oxitetraciclina comparativamente otros antibióticos como la penicilina. Brooks (2000) trató vacas lecheras con oxitetraciclina (1500 mg vía intrauterina) para endometritis y el 63% de los animales lograron resolver la infección. Resultados similares reportaron Sheldon y Noakes (1998), quienes utilizaron el mismo criterio de diagnóstico de endometritis y dosis de antibiótico, logrando un 73% de casos de resolución de la infección, sin embargo, fueron los tratamientos más costosos en comparación con el uso de PGF_{2α}.

Para los técnicos y empresarios lecheros importa cuál es el impacto de los antibióticos en la curación del animal, pero aún más, el comportamiento reproductivo del animal, ya que de este depende en parte la producción lechera. Shams-Esfandabadi *et al.* (2004) aplicaron vía intrauterina 1 g de oxitetraciclina en 30 mL de suero salino o 5 millones de UI de penicilina G en 50 mL de suero salino, 24 h pos IA en la tasa de preñez al primer servicio de vacas con endometritis; definida por LeBlanc *et al.* (2002b). Los autores reportaron 49.2 y 47.7% de preñez al primer servicio, respectivamente, y 48.3% en el caso de animales testigo, mientras que en vacas sanas fue de 55% ($p>0.05$); concluyendo que los tratamientos intrauterinos con oxitetraciclina o penicilina posinseminación no mejoraron la tasa de preñez al primer servicio. Resultados similares encontraron Sheldon y Noakes (1998), quienes tampoco reportaron efectos positivos en el comportamiento reproductivo utilizando oxitetraciclina, prostaglandinas o estradiol, sin embargo, no incluyeron animales enfermos no tratados. En otro experimento, Thurmond *et al.* (1993) aplicaron penicilina G y

oxitetraciclina, y no encontraron diferencias en la resolución de la infección en comparación con el grupo testigo (87 y 77% para penicilina G y control, $p=0.35$; y 74 y 62% para oxitetraciclina y control, respectivamente, $p=0.17$). El Cuadro 5 muestra datos de algunos estudios con oxitetraciclina en la curación y comportamiento reproductivo de vacas con infecciones uterinas.

Cuadro 5. Efecto de oxitetraciclina (Ox) en comparación con un grupo testigo (T) en resolución de endometritis y el comportamiento reproductivo^z de vacas lecheras reportado en diferentes fuentes.

Fuente	Curación, %		PPS, %		DA, d	
	Ox	T	Ox	T	Ox	T
Brooks, (2000)	63	43 ^z	-	-	-	-
Shams-Esfandabadi <i>et al.</i> (2004)	-	-	49.2	48.3	70	93
Sheldon y Noakes, (1998)	73	67 ^y	48.7	52.5 ^y	103.7	104.6 ^y

^zPPS: preñez al primer servicio y DA: días abiertos, x500 µg de PGF_{2α}, ^ypolicresuleno

Existe cierto grado de resistencia de las principales bacterias a oxitetraciclina. Malinowski *et al.* (2010) realizaron un estudio para determinar la susceptibilidad *in vitro* de *Arcanobacterium pyogenes* y *Escherichia coli* a distintos antibióticos, entre ellos a oxitetraciclina. Los resultados mostraron que *Arcanobacterium pyogenes* fue resistente a oxitetraciclina en 63.7% de los casos, 13.3% medianamente resistente y sólo 23% de susceptibilidad. Mientras que *Escherichia coli* lo fue en 31, 29.9 y 39.1%, resistente, medianamente resistente y susceptible a oxitetraciclina, respectivamente. Los resultados indican que hay grados importantes de resistencia a oxitetraciclina, ya que antibióticos como ceftiofur son efectivos en más del 80% de los casos (Malinowski *et al.*, 2010). Otro estudio para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) de distintos antibióticos, como la oxitetraciclina, en *E. coli*, *A. pyogenes*, *F. necrophorum* y *Prevotella melaninogenicus* indicó que oxitetraciclina tuvo el MIC más alto ($p<0.01$), 16.9 ± 10 µg/mL, en comparación con otros como

ceftiofur que tuvo $<1 \mu\text{g/mL}$ (Sheldon *et al.*, 2004). Los resultados de este estudio sugieren que se requieren mayores concentraciones de oxitetraciclina para controlar una infección ocasionada por las bacterias antes mencionadas en comparación con el uso de otros antibióticos como el ceftiofur.

2.13 Mecanismos de endometritis y reproducción

Las relaciones entre reproducción y endometritis en vacas lecheras se representan en la Figura 1. (A) Las infecciones uterinas ocasionadas por *E. coli* y *A. pyogenes* causan daño al tejido endometrial. El sistema inmune innato es alertado por receptores TLRs detectando ADN, lípidos bacterianos y lipopolisacáridos de *E. coli*, los cuales se unen a anticuerpos (LBP). Las células endometriales secretan citocinas, quimiocinas y péptidos antimicrobianos (AMPs), como el sistema del complemento. El daño endometrial y la inflamación reducen la posibilidad de preñez. (B) Las citocinas y quimiocinas dirigen la respuesta inmune. Las quimiocinas atraen a los neutrófilos (PMNs) y macrófagos (Ms) para eliminar a la bacteria. Sin embargo, la función de los neutrófilos es perturbada en vacas altas productoras, particularmente las que se encuentran en balance energético negativo. La permanencia de neutrófilos en el endometrio, en ausencia de bacterias es la característica principal de endometritis subclínica. (C) Las concentraciones de FSH no son afectadas por enfermedades uterinas. Sin embargo, la síntesis de GnRH y LH pueden ser suprimidas por LPS, reduciendo la capacidad de ovular del folículo dominante. (D) Las vacas con endometritis tienen crecimiento más lento de folículos dominantes y menor concentración periférica de estradiol en plasma, y hace menos probable la ovulación. En animales con endometritis, el líquido folicular contiene LPS, el cual reduce la secreción de estradiol de las células de granulosa por la reducción de la expresión de la aromatasa. (E) Si la vaca con endometritis ovula, forma un cuerpo lúteo, pero la concentración periférica de P_4 en plasma es más baja que en animales sanos y la fase lútea normalmente se

extiende. La luteólisis probablemente se afecta debido a que las bacterias inducen el cambio de producción de prostaglandinas $F_{2\alpha}$ y E_2 .

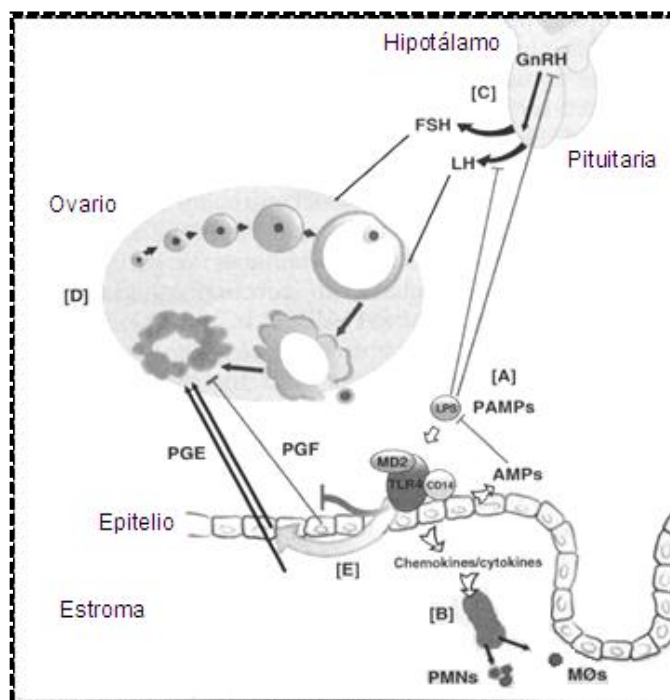


Figura 1. Principales mecanismos de endometritis en la reproducción de vacas lecheras. Adaptado de Sheldon *et al.* (2009).

2.14 Literatura citada

- Anderson, K. L., C. A. Neff-Davis, L. E. Davis, and V. D. Bass. 1990. Pharmacokinetics of flunixin meglumine in lactating cattle after single and multiple intramuscular and intravenous administrations. *American Journal of Veterinary Research* 51: 1464-1467.
- Azawi, O. I. 2008. Postpartum uterine infection in cattle. *Animal Reproduction Science* 105: 187-208.
- Barlund, C. S., T. D. Carruthers, C. L. Waldner, and C. W. Palmer. 2008. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology* 69: 714-723.
- Bondurant, R. H. 1999. Inflammation in the bovine female reproductive tract. *Journal of Dairy Science* 82: 101-110.
- Bonnett, B. N., S. W. Martin, and A. H. Meek. 1993. Associations of clinical findings, bacteriological and histological results of endometrial biopsy with reproductive performance of postpartum dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine* 15: 205-220.
- Campling, G. 2008. Uterine physiology. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine* 9: 122-123.
- Connamacher, R. H., and H. G. Mandel. 1965. Binding of tetracycline to the 30s ribosomes and to polyuridylic acid. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 20: 98-103.
- Dhaliwal, G. S., R. D. Murray, and Z. Woldehiwet. 2001. Some aspects of immunology of bovine uterus related to treatments for endometritis. *Animal Reproduction Science* 67: 135-152.
- Drillich, M., D. Voigt, D. Forderung, and W. Heuwieser. 2007. Treatment of acute puerperal metritis with flunixin meglumine in addition to antibiotic treatment. *Journal of Dairy Science* 90: 3758-3763.
- Drillich, M., O. Beetz, A. Pfutzner, M. Sabin, H. J. Sabin, P. Kutzer, H. Nattermann, and W. Heuwieser. 2001. Evaluation of systemic antibiotic treatment of toxic puerperal metritis in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 84: 2010-2017.
- Erdem, H., and A. Guzeloglu. 2009. Effect of Meloxicam during early pregnancy in Holstein heifers. *Reproduction in Domestic Animals* In: www.ncbi.nlm.nih.gov/pudmed/19144041. Consultado el 2/05/2010.
- Ferreira, R., J. F. Coelho de Oliveira, A. Quites A., C. Alves P., J. C. Ferrugem M., L. Ernani H., V. Bordignon, and P. B. Dias G. 2008. Relationship between clinical and *postmortem* evaluation in repeat breeder beef cows. *Ciencia Rural* 38(4): 1056-1060.

- Foldi, J., M. Kulcsár, A. Pécsi, B. Huyghe, C. de Sa, J. A. C. M. Lohuis, P. Cox, and G. Huszenicza. 2006. Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Animal Reproduction Science* 96: 265-281.
- Frazer, G. S. 2005. A rational basis for therapy in the sick postpartum cow. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 21: 523-568.
- Gani, M. O., M. M. Amin, M. G. S. Alam, M. E. H. Kayesh, M. R. Karim, M. A. Samad, and M. R. Islam. 2008. Bacterial flora associated with repeat breeding and uterine infection in dairy cows. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine* 6(1): 79-86.
- Geary, T. W., R. P. Ansotegui, M. D. MacNeil, A. J. Roberts, and R. C. Waterman. 2010. Effects of flunixin meglumine on pregnancy establishment in beef cattle. *Journal of Animal Science* 88: 943-949.
- Gilbert, R. O., S. T. Shin, C. L. Guard, H. N. Erb, and M. Frajblat. 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 64: 1879-1888.
- Goodman, A., J. Hardman, L. Limbird, P. Molinoff, y R. Ruddon. 1996. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. McGraw-Hill Interamericana. México. pp: 661-666.
- Hammon, D. S., I. M. Evjen, T. R. Dhiman, J. P. Goff, and J. L. Walters. 2006. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 113: 21-29.
- Herath, S., H. Dobson, C. E. Bryant, and I. M. Sheldon. 2006. Use the cow as a large animal model of uterine infection and immunity. *Journal of Reproductive Immunology* 69: 13-22.
- Herath, S., S. T. Lilly, N. R. Santos, R. O. Gilbert, L. Goetze, C. E. Bryant, J. O. White, J. Cronin, and I. M. Sheldon. 2009. Expression of genes associated with the immunity in the endometrium of cattle with disparate postpartum uterine disease and fertility. *Reproductive Biology and Endocrinology* 7:55. In: <http://www.rbej.com/content/7/1/55>. Consultado el 30/05/2010.
- Hill, J., and R. Gilbert. 2008. Reduced quality of bovine embryos cultured in media conditioned by exposure to an inflamed endometrium. *Australian Veterinary Journal* 86(8): 312-316.
- Janowski, T., S. Zdunczyk, and E. S. Mwaanga. 2000. Combined GnRH and PGF_{2α} application in cows with endometritis puerperalis treated with antibiotics. *Reproduction in Domestic Animals* 36: 244-246.
- Kaneko, K., and S. Kawakami. 2008. Influence of experimental intrauterine infusion of *Arcanobacterium pyogenes* solution on ovarian activity in cycling cows. *Journal of Veterinary Medical Science* 70(1): 77-83.

- Kasimanickam, R., T. F. Duffield, R. A. Foster, C. J. Gartley, K. E. Leslie, J. S. Walton, and W. H. Johnson. 2004. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 62: 9-23.
- Kasimanickam, R., T. F. Duffield, R. A. Foster, C. J. Gartley, K. E. Leslie, J. S. Walton and W. H. Johnson. 2005a. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *The Canadian Veterinary Journal* 46: 255–259.
- Kasimanickam, R., T. F. Duffield, R. A. Foster, C. J. Gartley, K. E. Leslie, J. S. Walton and W. H. Johnson. 2005b. The effect of a single administration of cephapirin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. *Theriogenology* 63: 818-830.
- Kaufmann, T. B., M. Drillich, B. A. Tenhagen, D. Forderung, and W. Heuwieser. 2008. Prevalence of bovine subclinical endometritis 4 h after insemination and its effects on first service conception rate. *Theriogenology* 71: 385-391.
- Kim, III-H., Ki-jeong NA, and Mhan-Pyo Yang. 2005. Immune responses during the peripartum period in dairy cows with postpartum endometritis. *Journal of Reproduction and Development* 51(6):757-764.
- Koblischke, P., H. Kindahl, S. Budik, J. Aurich, F. Palm, I. Walter, J. Kolodziejek, N. Nowotny, H.-O. Hoppen, and C. Aurich. 2008. Embryo transfer induces a subclinical endometritis in recipient mares which can be prevented by treatment with non-steroid anti-inflammatory drugs. *Theriogenology* 70: 1147-1158.
- Konigsson, K., H. Gustafsson, A. Gunnarsson, and H. Kindahl. 2001. Clinical and bacteriological aspects on the use of oxytetracycline and flunixin in primiparous cows with induced retained placenta and post-partial endometritis. *Reproduction in Domestic Animals* 36: 247-256.
- Konigsson, K., K. Torneke, I. V. Engeland, K. Odensvik, and H. Kindahl. 2003. Pharmacokinetics and pharmacodynamic effects of flunixin after intravenous, intramuscular and oral administration to dairy goats. *Acta Veterinaria Scandinavica* 44: 153-159.
- LeBlanc, S. J. 2008. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: a review. *The Veterinary Journal* 176: 102-114.
- LeBlanc, S. J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, K. G. Bateman, G. P. Keefe, J. S. Walton, and W. H. Johnson. 2002a. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 85: 2223–2236.
- LeBlanc, S. J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, K. G. Bateman, G. P. Keefe, J. S. Walton, and W. H. Johnson. 2002b. The effect of treatment of clinical

- endometritis on reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 85: 2237-2249.
- Lewis, G. S. 2003. Steroidal regulation of uterine resistance to bacterial infection in livestock. *Reproductive Biology and Endocrinology* 1:117. *In*: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC305333>. Consultado el 31/05/2010.
- Malinowski, E., H. Lassa, H. Markiewicz, M. Kaptur, M. Nadolny, W. Niewitecki, and J. Zietara. 2010. Sensitivity to antibiotics of *Arcanobacterium pyogenes* and *Escherichia coli* from the uteri of cows with metritis/endometritis. *The Veterinary Journal* *In*: <http://www.sciencedirect.com/science>. Consultado el 31/05/2010.
- Masera, J., Gustafsson B. K., M. M. Afiefy, C. M. Stowe, and G. P. Bergt. 1980. Disposition of oxytetracycline in the bovine genital tract: systemic vs intrauterine administration. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 176: 1099-1102.
- Merrill, M. L., R. P. Ansotegui, P. D. Burns, M. D. MacNeil, and T. W. Geary. 2007. Effects of flunixin meglumine and transportation on establishment of pregnancy in beef cows. *Journal of Animal Science* 85: 1547-1554.
- Miller, A. N. A., E. J. Williams, K. Sibley, S. Herath, E. A. Lane, J. Fishwick, D. M. Nash, A. N. Rycroft, H. Dobson, C. E. Bryant, and I. M. Sheldon. 2007. The effects of *A. pyogenes* on endometrial function *in vitro*, and on uterine and ovarian function *in vivo*. *Theriogenology* 68: 972-980.
- Morales R., S., J. Hernández C., G. Rodríguez T., y R. Peña F. 2000. Comparación del porcentaje de concepción y la función lútea en vacas de primer servicio, vacas repetidoras y vaquillas Holstein. *Veterinaria México* 31: 179-184.
- Nebel, R. L., and M. L. McGilliard. 1993. Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 76: 3257-3268.
- Odensvik, K., and G. Fredriksson. 1993. The effect of intensive flunixin treatment during the postpartum period in the bovine. *Journal of Veterinary Medicine* 40: 561-568.
- Petit, T., J. Spergser, R. Rosengarten, and J. Aurich. 2009. Prevalence of potentially pathogenic bacteria as genital pathogens in dairy cattle. *Reproduction Domestic Animals* 44: 88-91.
- Risco, A. M., T. Reilas, L. Muilu, M. Kareakoski, and T. Katila. 2009. Effect of oxytocin and flunixin meglumine on uterine response to insemination in mares. *Theriogenology* 72: 1195-1201.
- Santos, N. R., G. C. Lamb, D. R. Brown, and R. O. Gilbert. 2008. Postpartum endometrial cytology in beef cows. *Theriogenology* 71: 739-745.

- Senosy, W. S., M. Uchiza, N. Tameoka, Y. Izaike, and T. Osawa. 2009. Association between evaluation of the reproductive tract by various diagnostic test and restoration of ovarian cyclicity in high-producing dairy cows. *Theriogenology* 72: 1153-1162.
- Shams-Esfandabadi, N., A. Shirazi, and H. Ghasemzadeh-Nava. 2004. Pregnancy rate following post-insemination intrauterine treatment of endometritis in dairy cattle. *Journal of Veterinary Medicine* 51: 155-156.
- Sheldon, I. M., and D. E. Noakes. 1998. Comparison of three treatments for bovine endometritis. *Veterinary Record* 142: 575-579.
- Sheldon, I. M., D. E. Noakes, A. N. Rycroft, D. U. Pfeiffer, and H. Dobson. 2002. Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction* 123: 837-845.
- Sheldon, I. M., G. S. Lewis, S. LeBlanc, and R. O. Gilbert. 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65: 1516-1530.
- Sheldon, I. M., M. Bushnell, J. Montgomery, and A. N. Rycroft. 2004. Minimum inhibitory concentrations of some antimicrobial drugs against bacteria causing uterine infection in cattle. *Veterinary Record* 155: 383-387.
- Sheldon, I. M., S. B. Price, J. Cronin, R. O. Gilbert, and J. E. Gadsby. 2009. Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle. *Reproduction in Domestic Animals* 44: 1-9.
- Thurmond, M. C., C. M. Jameson, and J. P. Picanso. 1993. Effect of antimicrobial treatment in reducing calving-to-conception interval in cows with endometritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 203: 1576-1578.
- Tizard, I. R. 2002. *Inmunología Veterinaria*. Palacios M., R. 6a ed. McGraw-Hill Interamericana. México. 517 p.
- Williams, E. J., D. P. Fischer, D. U. Pfeiffer, G. C. W. England, D. E. Noakes, H. Dobson, and I. M. Sheldon. 2005. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology* 63: 102-117.
- Wonchee S., Z., R. R. Lozano D., y E. González P. 2002. Evaluación de diferentes tratamientos en el posparto temprano en vacas lecheras con infecciones uterinas. *Técnica Pecuaria en México* 40(1): 105-117.
- Zerbe, H., C. Obadnik, W. Leibold, and H. J. Schuberth. 2001. Influence of *E. coli* and *Arcanobacterium pyogenes* isolated from bovine puerperal uteri on phenotypic and functional properties of neutrophils. *Veterinary Microbiology* 79: 351-365.

3 COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE VACAS HOLSTEIN CON ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA TRATADAS CON OXITETRACICLINA MÁS FLUNIXIN

3.1 RESUMEN

La endometritis subclínica afecta negativamente el comportamiento reproductivo de vacas lecheras, pero la aplicación de oxitetraciclina y flunixin meglumine (FM) podrían potenciar la resolución de la infección y mejorar el comportamiento reproductivo; sin embargo, la respuesta depende del diagnóstico de la infección. El objetivo de este estudio fue evaluar el uso de oxitetraciclina sola o con FM, en la resolución de endometritis subclínica y el comportamiento reproductivo de vacas Holstein posparto. Se utilizaron 162 vacas entre 30 y 44 días posparto con endometritis subclínica diagnosticada por ultrasonografía. Los tratamientos fueron: 2.5 g de clorhidrato de oxitetraciclina en 500 mL de solución salina vía intrauterina (TO; n=60), TO más 750 mg de FM vía intramuscular (TOF; n=56) o control (TS; n=49). La respuesta a los tratamientos fue la resolución de la endometritis (sólo en TO y TOF) y el comportamiento reproductivo. Además, se dio seguimiento al comportamiento reproductivo de un grupo de vacas sin endometritis subclínica no tratadas (LS; n=43). Alrededor de 90% de los animales resolvieron la endometritis subclínica, aunque no hubo diferencias entre tratamientos ($p>0.05$). La preñez al primer servicio y total fue más alta en vacas tratadas con TO o TOF en comparación con TS ($p<0.05$). El número de servicios por concepción fue menor en vacas tratadas con TO o TOF que con TS ($p<0.05$). Sin embargo, los días abiertos fueron similares entre tratamientos ($p>0.05$). El comportamiento reproductivo entre vacas tratadas para endometritis subclínica y LS fue similar ($p>0.05$), pero el porcentaje de preñez al primer servicio y total fue superior en LS en comparación con TS ($p<0.05$). Las covariables número de parto (NP), incidencia de cuerpo lúteo (CL) y la incidencia de cuerpo lúteo más folículo (CLFOL) fueron significativas ($p<0.05$). La oxitetraciclina mejora el comportamiento reproductivo de vacas Holstein con endometritis subclínica.

Palabras clave: ultrasonografía, endometritis, antibiótico, CL, desinflamatorio.

Tesis de Maestría en Ciencias en Innovación Ganadera, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: José Manuel Hernández Hernández

Director de Tesis: Ph.D. Raymundo Rangel Santos

REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF HOLSTEIN COWS WITH SUBCLINICAL ENDOMETRITIS TREATED WITH OXYTETRACYCLINE PLUS FLUNIXIN

3.2 ABSTRACT

Subclinical endometritis adversely affects the reproductive performance of dairy cows, but the application of oxytetracycline and flunixin meglumine (FM) could improve the resolution of infection and improve the reproductive performance; however, the response is affected by the infection diagnosis. The aim of this study was to evaluate the use of oxytetracycline alone or with flunixin meglumine FM, on the resolution of subclinical endometritis and reproductive performance of postpartum Holstein cows. In total 162 cows between 30 and 44 days postpartum with subclinical endometritis diagnosed by ultrasonography were used. The treatments were: 2.5 g of oxytetracycline hydrochloride in 500 mL of saline solution were intrauterine infused (TO, $n = 60$), TO plus 750 mg of FM given intramuscularly (TOF, $n = 56$) or control (TS, $n = 49$). The response to the treatments was endometritis resolution (only for TO and TOF) and reproductive performance. Moreover, the reproductive performance of a group of cows without subclinical endometritis and untreated was followed (LS, $n = 43$). About 90% of the animals resolved the subclinical endometritis; however, there were no differences between treatments ($p > 0.05$). Pregnancy rate to first service and total was higher in cows treated with TO or TS compared with TOF ($p < 0.05$). The number of services per conception was lower in cows treated with TO or TOF compared with TS ($p < 0.05$). However, days open were similar between treatments ($p > 0.05$). The reproductive performance of cows treated for subclinical endometritis and LS was similar ($p > 0.05$), but the pregnancy rate to first service and total was higher in LS than TS ($p < 0.05$). The covariates number of calving (NP), incidence of corpus luteum (CL) and the incidence of follicle and corpus luteum (CLFOL) were significant ($p < 0.05$). Oxytetracycline improved reproductive performance of Holstein cows with subclinical endometritis.

Key words: ultrasonography, endometritis, antibiotic, CL, anti-inflammatory.

Master of Science Thesis, Universidad Autónoma Chapingo

Author: José Manuel Hernández Hernández

Advisor: Ph.D. Raymundo Rangel Santos

3.3 INTRODUCCIÓN

La eficiencia reproductiva del ganado lechero tiene efectos significativos en la producción y rentabilidad de los hatos. Sin embargo, los indicadores de ésta son bajos; por ejemplo, Morales *et al.* (2000) reportaron 34% de gestación al primer servicio en vacas Holstein. La salud uterina, además de otros factores, impacta en el comportamiento reproductivo. Después del parto, el útero de aproximadamente 90% de las vacas está contaminado por bacterias que pueden ocasionar infección (Williams *et al.*, 2005). Las bacterias que más se relacionan con infecciones uterinas son *Escherichia coli*, *Arcanobacterium pyogenes* (en 41.3% de los casos), *Prevotella spp.*, *Fusobacterium necrophorum* y *Fusobacterium nucleatum* (Petit *et al.*, 2009). La mayoría de las vacas eliminan la contaminación bacteriana del útero en las primeras cinco semanas después del parto, y en sólo 10 a 17% de éstas la infección persiste acompañada de inflamación que podría ocasionar efectos adversos para la sobrevivencia embrionaria (Sheldon *et al.*, 2006). En casos de baja severidad, la infección no se manifiesta con signos clínicos pero reduce la fertilidad (Kasimanickam *et al.*, 2004).

Kasimanickam *et al.* (2004) relacionaron la presencia de fluidos intrauterinos diagnosticados por ultrasonografía 34 a 47 d posparto, con reducción en 43 y 42% de preñez al primer servicio y total, y 62 días más del intervalo parto a concepción, y lo definieron como endometritis subclínica.

Los estudios en la aplicación de antibióticos u hormonas y sus efectos en el comportamiento reproductivo son numerosos; sin embargo, las conclusiones son afectadas por el uso de métodos de diagnóstico poco confiables (Wonchee *et al.*, 2002; Sheldon *et al.*, 2009). Kasimanickam *et al.* (2004) fueron de los primeros en evaluar el efecto de tratamientos para endometritis basados en diagnósticos validados. La oxitetraciclina vía intrauterina es uno de los antibióticos más usados para el tratamiento de la endometritis debido a su baja absorción por la pared uterina, alta biodisponibilidad, baja inactivación por

materia orgánica (Azawi, 2008), y facilidad de manejo, a pesar de los reportes de incremento de resistencia bacteriana a este fármaco (Sheldon *et al.*, 2004; Malinowski *et al.*, 2010). De acuerdo con distintos autores, la aplicación de oxitetraciclina en vacas lecheras con infecciones uterinas no soluciona las infecciones uterinas ni el bajo comportamiento reproductivo (Sheldon y Noakes, 1998; Brooks, 2000; Shams-Esfandabadi *et al.*, 2004). Esto podría deberse en parte a fallas en el método de diagnóstico y a la falta de un grupo testigo sin tratar. El FM es una droga desinflamatoria no esteroideal que inhibe a la ciclooxigenasa, enzima responsable de la síntesis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Konigsson *et al.*, 2003), por lo que el FM podría ejercer efectos positivos en la resolución de la endometritis subclínica, donde predomina la inflamación, y mejora el comportamiento reproductivo de vacas lecheras debido a que la reducción de la inflamación mejoraría la funcionalidad uterina, recobrando la actividad secretora y reduciendo la producción de sustancias inflamatorias que afectan la sobrevivencia y desarrollo embrionario (Hill y Gilbert, 2008). Aunque FM no mostró efectos positivos en vacas con metritis puerperal (Odensvik y Fredriksson, 1993; Konigsson *et al.*, 2001; Drillich *et al.*, 2007), en yeguas, se incrementa la calidad embrionaria aplicando FM después de la transferencia de embriones (Koblischke *et al.*, 2008). En vacas productoras de carne que recibieron FM después de ser sometidas a estrés por transporte, los resultados del comportamiento reproductivo son contradictorios (Merrill *et al.*, 2007; Geary *et al.*, 2010). Hasta ahora no se ha encontrado información publicada de la aplicación de FM en vacas lecheras con endometritis subclínica ni la mezcla de FM y oxitetraciclina.

El objetivo de este experimento fue evaluar el uso de oxitetraciclina sola o con FM, en la resolución de endometritis subclínica y el comportamiento reproductivo de vacas Holstein con endometritis subclínica posparto.

3.4 MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1 Animales

El experimento se realizó en una granja de vacas Holstein ubicada en Guanajuato, México, de abril a octubre del 2009. Los animales fueron revisados antes de formar parte del experimento para detectar descargas purulentas, mocopurulentas o cérvix >7.5 cm de diámetro, lo cual pudiera ser diagnóstico de endometritis clínica (LeBlanc *et al.*, 2002a); los animales positivos fueron excluidos. En total se utilizaron 206 vacas Holstein sin endometritis clínica.

3.4.2 Revisión de animales

Los animales seleccionados fueron sometidos a revisión del tracto reproductivo con un ultrasonido (Sonovet 600, Medison, USA) equipado con un transductor rectal de 7.5 MHz. En esta revisión primero se escaneó el cérvix y el útero, en donde la presencia de fluidos fue el criterio de diagnóstico de endometritis subclínica (Kasimanickam *et al.*, 2004). Después se revisaron los ovarios para determinar su actividad, clasificándola en dominancia de cuerpo lúteo (CL), de folículo (FOL), ambos (CLFOL) o ninguna de las tres (NCLFOL), para posteriormente relacionarla con el comportamiento reproductivo. También se calculó la condición corporal (CC; en escala de 1 a 5) de cada animal por un solo evaluador usando la escala propuesta por Wildman *et al.* (1981); además, se obtuvieron los datos de fecha de parto, número de parto, días posparto y producción de leche (PL). Al final de esta evaluación se seleccionaron 162 vacas con endometritis subclínica y un grupo de 43 vacas sin endometritis (LS).

3.4.3 Asignación de tratamientos y evaluaciones posteriores

Las vacas con endometritis subclínica recibieron 24 h después del diagnóstico, uno de tres tratamientos asignados completamente al azar: 2.5 g de clorhidrato de oxitetraciclina (Oxitetraciclina Sanfer; Sanfer, México) diluidos en 500 mL de solución salina vía intrauterina (TO; n=60), TO más 750 mg de flunixin

meglumine vía intramuscular en una sola aplicación (Flunixin; Sanfer, México) (TOF; n=56) o testigo (sin tratamiento) (TS; n=50).

Los animales tratados con fármacos (TO y TOF) fueron reevaluados para determinar la respuesta a los tratamientos dos semanas después. Si en la hembra no se detectaron fluidos intrauterinos por ultrasonografía, se diagnosticaba sin endometritis. Las vacas con diagnóstico positivo en la segunda revisión recibieron una segunda aplicación del mismo tratamiento inicial, y de reincidir, una tercera y última aplicación. Después de los tratamientos y revisiones, todos los grupos de tratamiento (TO, TOF, TS y LS (n=43)) fueron sometidos al manejo reproductivo del rancho que incluyó terapias hormonales e inseminación artificial con semen congelado proveniente de toros con fertilidad conocida. Cada dos semanas se recabaron datos de incidencia de celos, servicios, y diagnósticos de gestación. Los diagnósticos de gestación fueron realizados con ultrasonido (Sonovet 600, Medison, USA) equipado con un transductor rectal de 7.5 MHz entre 30 y 44 días posservicio.

Las variables para evaluar el comportamiento reproductivo fueron número de servicios por concepción, días abiertos, intervalo parto primer servicio, porcentaje de gestación al primer servicio y gestación total. También se analizó la actividad ovárica, PL, CC y número de parto en la resolución y en el comportamiento reproductivo de vacas con endometritis subclínica. Asimismo, se evaluó el efecto de los tratamientos en el porcentaje de resolución de endometritis subclínica.

3.4.4 Análisis de datos

Las variables binomiales curación de endometritis, preñez al primer servicio y preñez total se analizaron mediante Chi-cuadrada, mientras que el número de servicios por concepción se analizó considerándola como una variable con distribución de Poisson; todas a través del procedimiento GENMOD. Los días abiertos se compararon con análisis de varianza aplicando el procedimiento

GLM. El procedimiento GENMOD y GLM forman parte del paquete computacional SAS (2004).

3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.5.1 Resolución de la endometritis

En total se trataron 162 vacas Holstein con endometritis subclínica entre 30 y 44 días posparto, además, se le dio seguimiento al comportamiento reproductivo de 43 vacas sanas. Los animales en el experimento fueron en promedio de 2.2 partos, 33.3 L de PL y 2.4 de CC.

El Cuadro 6 muestra los resultados de la eficiencia de los tratamientos en la resolución de la endometritis subclínica de vacas Holstein. La proporción de animales curados con TO y TOF fue similar ($p>0.05$) y alta para ambos tratamientos, ya que sólo 10 y 7.2% de los animales no resolvieron la infección después de tres aplicaciones. En promedio 57, 77 y 90% de los animales resolvieron la infección en la primera, segunda y tercera aplicación, respectivamente. Aunque se esperaba efecto del FM en una mayor recuperación de la infección e inflamación de la endometritis subclínica debido a que es de baja severidad comparada con la endometritis clínica y metritis puerperal, los datos demuestran que no hubo efecto. No se encontró información publicada donde se compare el uso de oxitetraciclina y FM en la resolución de endometritis subclínica. Sin embargo, los resultados de trabajos donde se aplicaron estos tratamientos en infecciones uterinas clínicas coinciden con los del presente estudio. Por ejemplo, después de aplicar el FM en vacas con endometritis puerperal acompañado con ceftiofur (Drillich *et al.*, 2007) o en vacas con retención de placenta tratadas con FM más oxitetraciclina (Konigsson *et al.*, 2001), donde el porcentaje de animales curados con y sin FM ha sido similar. Podría argumentarse que la ausencia de efecto se debió a que el FM tiene una vida media corta (alrededor de 12 h) (Anderson *et al.*, 1990). Sin

embargo, la aplicación de dosis múltiples no ha mejorado la involución uterina (Odensvik y Fredriksson, 1993).

Cuadro 6. Efecto² de oxitetraciclina u oxitetraciclina más flunixin meglumine (FM) en la curación de endometritis subclínica de vacas Holstein entre 30 y 44 días posparto.

Tratamiento	Vacas, n _o	Curación, %	Chi-cuadrada	p
Oxitetraciclina	60	90.0 ^a	0.30	0.58
Oxitetraciclina más FM	56	92.8 ^a		

²Medias sin una letra en común, dentro de columnas, son diferentes ($p \leq 0.05$).

3.5.2 Comportamiento reproductivo de vacas con endometritis subclínica

Los resultados de la aplicación de oxitetraciclina u oxitetraciclina más flunixin en el comportamiento reproductivo de vacas lecheras con endometritis subclínica se presentan en el Cuadro 7. La preñez al primer servicio fue 20.8% mayor ($p < 0.05$) en el grupo de vacas que recibieron tratamiento en comparación con el control, pero entre los grupos de animales tratados no hubo diferencias ($p > 0.05$). La preñez total fue superior ($p < 0.01$) en animales tratados para endometritis subclínica en comparación con aquellos que no recibieron tratamiento (35 y 28.2% mayor en TO y TOF), sin embargo TO y TOF fueron similares ($p = 0.36$). El número de servicios por concepción fue similar entre los tres grupos de vacas con endometritis subclínica ($p > 0.05$). Los días abiertos fueron similares entre todos los tratamientos ($p > 0.05$).

La oxitetraciclina es un antibiótico bacteriostático de amplio espectro que actúa inhibiendo la síntesis proteínica (Connamacher y Mandel, 1965), su absorción es baja y su acción se limita al lumen y endometrio uterinos; asimismo, la oxitetraciclina es activa bajo condiciones anaeróbicas. No obstante, es parcialmente inactivada por material purulento (Azawi, 2008), lo que la hace una de las mejores alternativas para controlar la endometritis subclínica. En este trabajo, la aplicación de oxitetraciclina ayudó a resolver el 90% de los casos de

endometritis subclínica, y mejoró el comportamiento reproductivo, contrario a lo reportado por otros autores. Por ejemplo, Shams-Esfandabadi *et al.* (2004) aplicaron 1 g de oxitetraciclina más 30 mL de suero salino, o 5 millones de penicilina G más 50 mL de suero salino 24 h pos IA, en la tasa de preñez al primer servicio de vacas con endometritis clínica, reportando 49.2 y 47.7% de preñez al primer servicio, respectivamente, y 48.3% en animales testigo ($p>0.05$). En otro experimento, Thurmond *et al.* (1993) aplicaron penicilina G y oxitetraciclina después del diagnóstico de la endometritis clínica y tampoco encontraron efectos positivos en el porcentaje de preñez total ($p>0.05$).

Cuadro 7. Efecto^z de la aplicación de oxitetraciclina (TO), oxitetraciclina más flunixin meglumine (TOF) o sin tratamiento (TS) en el comportamiento reproductivo de vacas Holstein con endometritis subclínica.

Indicadores	TO	TOF	TS
Vacas, n _o	56	57	49
Preñez al primer servicio, %	25.0 ^a	28.8 ^a	6.1 ^b
Preñez total, %	83.9 ^a	77.1 ^a	48.9 ^b
Servicios por concepción, n _o	2.9±0.3 ^b	3.1±0.3 ^b	4.0±0.4 ^a
Días abiertos, d	146.2±10.7 ^a	154.7±9.9 ^a	164.9±13.6 ^a

^zMedias sin una letra en común, dentro de filas, son diferentes ($p\leq 0.05$).

En el presente trabajo no se realizaron estudios de sensibilidad bacteriana a la oxitetraciclina, pero hay reportes que indican resistencia de las bacterias más relacionadas con la endometritis, lo cual podría ser una de las explicaciones a la baja respuesta obtenida por algunos investigadores. Al respecto, Malinowski *et al.* (2010) estudiaron la susceptibilidad *in vitro* de *A. pyogenes* y *E. coli* a oxitetraciclina y concluyeron que *A. pyogenes* fue resistente a oxitetraciclina en 63.7% de los casos, mientras que *E. coli* lo fue en 31%; otros antibióticos como ceftiofur son efectivos en más del 80% de los casos. Otro estudio para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) de *E. coli*, *A. pyogenes*, *F.*

necrophorum y *Prevotella melaninogenicus* a distintos antibióticos mostró que oxitetraciclina tuvo la MIC más alta ($p<0.01$), 16.9 ± 10 µg/mL, en comparación a ceftiofur con <1 µg/mL (Sheldon *et al.*, 2004).

A pesar de que los grupos de animales que recibieron el TO y TOF tuvieron mejor tasa de preñez, cuando se compararon entre ellos no fueron diferentes estadísticamente ($p>0.05$). Esto podría indicar que la adición de FM no fue importante, y el resultado diferente en comparación con el testigo se debió al efecto de la oxitetraciclina, lo cual es congruente con los resultados obtenidos después de su aplicación en la curación de la endometritis (Cuadro 6), en donde tampoco hubo efecto significativo con la adición extra de FM y se esperaría que no los hubiese en el comportamiento reproductivo. No se encontraron trabajos donde se haya aplicado FM más oxitetraciclina en vacas lecheras con endometritis subclínica. Sin embargo, en estudios donde se ha usado FM para mejorar el comportamiento reproductivo se han obtenido resultados contrastantes. Por ejemplo, en vacas lecheras con endometritis aguda puerperal, la aplicación de 2.2 mg/kg de FM más 1 mg/kg de ceftiofur no mejoró ($p>0.05$) el comportamiento reproductivo en comparación con el antibiótico sólo (Konigsson *et al.*, 2001; Drillich *et al.*, 2007). A pesar de la vida media corta del FM (12 h; Anderson *et al.*, 1990), no es argumento válido por el cual no ha funcionado para mejorar el comportamiento reproductivo de vacas con endometritis, ya que, Odensvik y Fredriksson (1993), realizaron aplicaciones múltiples de FM para mejorar la involución uterina y no observaron resultados benéficos; y cuando se han utilizado antiinflamatorios de larga vida media, como el Meloxicam, se han obtenido resultados negativos en la tasa de preñez (37 vs. 52%, entre tratadas y grupo testigo; $p<0.05$) de vaquillas (Erdem y Guzeloglu, 2009).

La aplicación de FM impide la regresión temprana del CL ocasionada por estrés o inflamación asociada con la transferencia de embriones. En yeguas, Koblishke *et al.* (2008) aplicaron FM por 6 d, empezando un día antes de la

transferencia de embriones y hasta el día cuatro después, para reducir los efectos de la inflamación ocasionados por la manipulación, con lo cual mejoraron la sobrevivencia embrionaria ($p<0.05$). En vacas productoras de carne, Merrill *et al.* (2007) evaluaron el efecto de FM (1.1 mg/kg) 14 d pos IA, en la tasa de preñez de vacas transportadas o no de un rancho a otro y encontraron que las vacas que recibieron FM tuvieron mayor ($p<0.05$) tasa de preñez que las no tratadas (71 vs. 61%), independientemente de si fueron transportadas o no. Sin embargo, en vacas y vaquillas la aplicación de FM 13 d después de la IA no mejoró el porcentaje de preñez, y en algunos casos lo redujo (FM 66% y control 72%; $p<0.05$) (Geary *et al.*, 2010). En este experimento, los autores no encontraron una explicación lógica a las diferencias en resultados del uso de FM entre su trabajo y el publicado por Merrill *et al.* (2007).

La Figura 2 muestra los resultados de la tasa de preñez a diferentes servicios de vacas Holstein con endometritis subclínica incluidas en los tratamientos. En el primero y segundo servicio hay mayor porcentaje de preñez en las vacas tratadas comparativamente con el grupo control ($p<0.05$). En estos dos primeros servicios se preñó 44, 37 y 10% de los animales del grupo TO, TOF y TS, respectivamente. Sin embargo, a partir del tercer servicio hasta el séptimo, no hubo diferencias en el porcentaje de gestación ($p>0.05$). Estos resultados podrían deberse a la ocurrencia de otros eventos ajenos a los tratamientos como la recuperación de la condición corporal, el reequilibrio inmunológico, la recuperación espontánea de endometritis, mastitis y reinfecciones uterinas (LeBlanc *et al.*, 2002a).

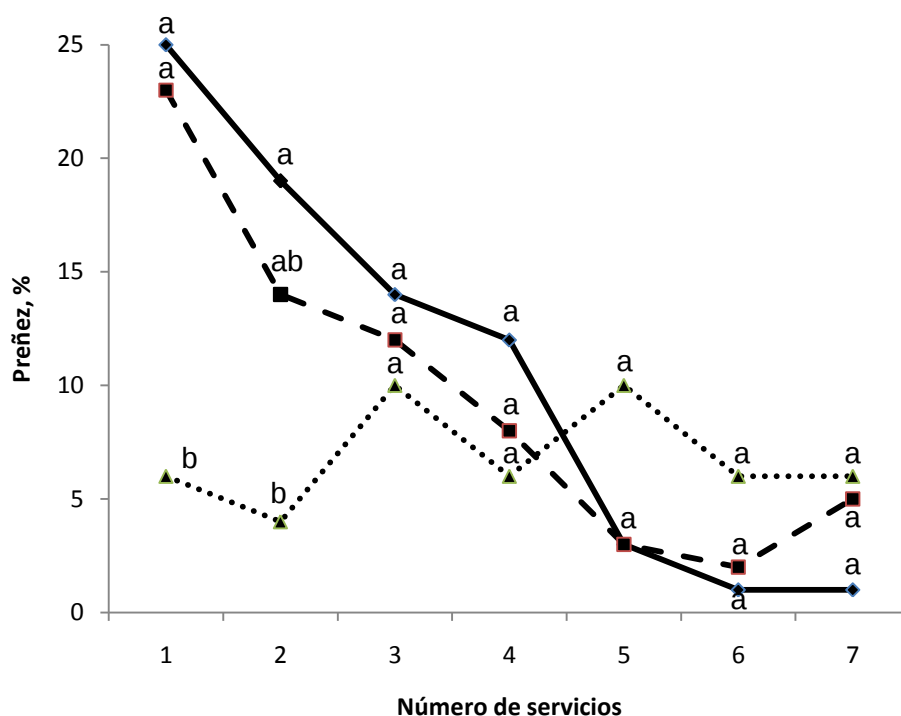


Figura 2. Número de servicio y tasa de preñez en vacas Holstein con endometritis subclínica tratadas con oxitetraciclina (TO —◆—), oxitetraciclina más flunixin (TOF —■—) y grupo control (TS ...▲...) ($p < 0.05$).

Existen varias razones por las que las vacas no se preñaron, las cuales pueden actuar solas o en combinación con la endometritis; por ello, en métodos de evaluación precisos que utilizan como criterio de diagnóstico la tasa de preñez, una gran cantidad de animales libres de endometritis subclínica no quedan gestantes (Barlund *et al.*, 2008). EL Cuadro 8 contiene las distintas covariables que afectaron significativamente el porcentaje de preñez de vacas con endometritis subclínica que recibieron TO, TOF o TS. Las covariables significativas fueron la producción de leche, el número de parto y la incidencia de cuerpo lúteo solo o en combinación con un folículo dominante ($p < 0.05$). Además de las covariables incluidas en el Cuadro 8, se analizaron la CC ($p = 0.43$), DIM ($p = 0.16$), FOL ($p = 0.74$) y sin CL o FOL ($p = 0.45$) y debido a que no fueron significativas se removieron del modelo. La preñez total fue diferente

entre TO y TS ($p<0.05$); sin embargo, entre TOF y TS no lo fue ($p>0.05$), contrastando con los datos sin ajustar por covariables (Cuadro 7).

Cuadro 8. Medias^z y probabilidades de la incidencia de cuerpo lúteo (CL) y de cuerpo lúteo más folículo (CLFOL), número de parto (NP) y producción de leche (PL) como covariables en el porcentaje de preñez total de vacas Holstein con endometritis subclínica tratadas con oxitetraciclina (TO), oxitetraciclina más flunixin (TOF) y sin tratar (TS) entre 30 y 44 días posparto.

Covariables	TO	TOF	TS	p
Vacas, n_0	56	57	43	-
CL, %	18.1	21.4	37.5	0.04
NP, n_0	2.1	2.1	1.9	0.07
PL, L	32.6	32.7	32.4	0.02
CLFOL, %	16.3	21.4	27.0	0.01
Preñez total, %	77.5 ^a	68.4 ^{ab}	53.2 ^b	0.03

^zMedias sin una letra en común, dentro de filas, son diferentes ($p\leq 0.05$).

El número de parto afectó ($p<0.05$) el porcentaje de preñez (Figura 3), ya que a medida que éste incrementa, el porcentaje de preñez disminuye. Por cada incremento en un parto hubo una reducción del 7.7% de gestación total ($R^2=0.72$). Resultado similar reportaron LeBlanc *et al.* (2002a) quienes publicaron que por cada incremento en un parto, los animales tratados tuvieron 15% menos preñez ($p=0.02$).

La PL afectó el porcentaje de preñez (Figura 4) observándose que a medida que incrementa la PL el porcentaje de preñez disminuye ($p=0.07$). Por cada 10 L de incremento ($R^2=0.65$) en producción promedio de leche hubo 7.9% de reducción en la preñez total. Esto se debe a las altas demandas nutricionales de la producción de leche, las cuales normalmente no son cubiertas y causan

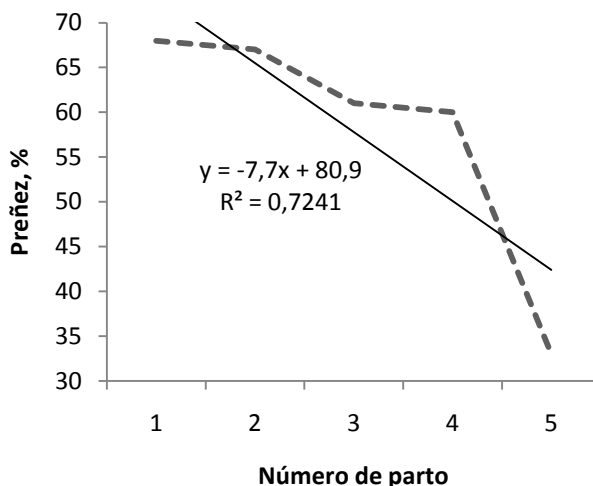


Figura 3. Efecto de número de parto en el porcentaje de preñez de vacas Holstein con endometritis subclínica ($p < 0.05$).

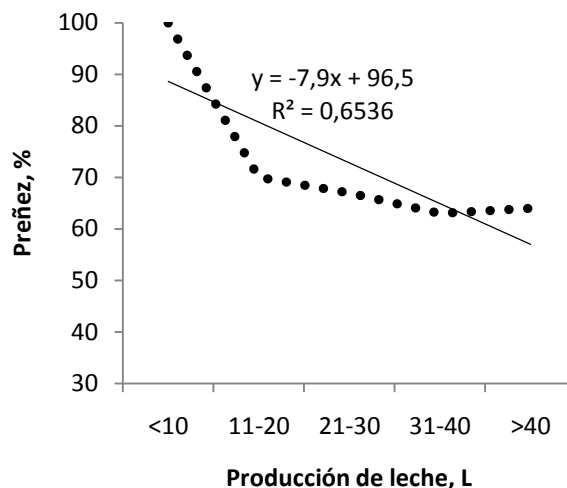


Figura 4. Efecto de la producción de leche en el porcentaje de preñez de vacas Holstein con endometritis subclínica ($p = 0.07$).

un balance energético negativo, el cual provoca una reducción en la secreción de GnRH y gonadotropinas (Nebel y McGilliard, 1993). Debido a ello el manejo nutricional es clave, ya que además de reducir las deficiencias de nutrientes, se evitaría que el incremento de las concentraciones plasmáticas de ácidos grasos no esterificados, cuerpos cetónicos y β OH-butirato reduzcan la migración, fagocitosis y eliminación de los patógenos por los neutrófilos y otros leucocitos, finalmente incrementando la susceptibilidad del animal a los patógenos (Foldi *et al.*, 2006). Además, la selección para producción de leche ha inducido un incremento de las concentraciones plasmáticas de somatotropina y prolactina, las cuales estimulan la lactancia, y disminuyen la insulina, hormona antagonista de la lactación y estimulante de la actividad ovárica; lo que también ha reducido el comportamiento reproductivo (Nebel y McGilliard, 1993). En consideración a lo anterior, la PL por sí sola no es la responsable de influenciar negativamente la actividad ovárica posparto, y como consecuencia la fertilidad, sino el balance energético negativo (Wonchee *et al.*, 2002). Lo cual sugiere que el efecto de la producción de leche podría reducirse con una alimentación acorde a las necesidades del animal. A pesar de esto, Wonchee *et al.* (2002) no encontraron

efecto de esta covariable en el porcentaje de preñez de vacas con endometritis tratadas con diferentes antibióticos.

La incidencia de un CL o la de un CL más un FOL afectó el porcentaje de preñez de vacas Holstein con endometritis subclínica (Figura 5). La incidencia de un CL afectó negativamente ($p<0.05$) el porcentaje de preñez, al igual que la combinación con un FOL ($p<0.05$) en 6 y 19% comparativamente con vacas sin CL o NCLFOL. Esto podría deberse a que la presencia de un CL funcional en vacas lecheras con endometritis produce progesterona (P4), la cual inhibe la actividad inmunológica a nivel uterino (Sheldon *et al.*, 2002) y en consecuencia afecta la resolución de la infección. Sin embargo, de acuerdo con LeBlanc *et al.* (2002b) animales con un folículo dominante tratados con cefapirin o $\text{PGF}_{2\alpha}$ incrementaron ($p<0.01$) el porcentaje de preñez, mientras que

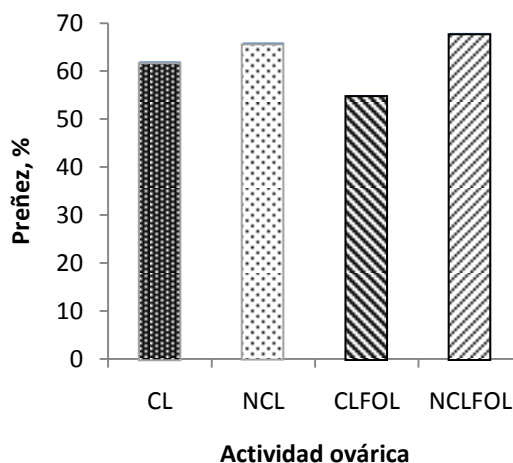


Figura 5. Efecto de la actividad ovárica en el porcentaje de preñez de vacas Holstein con endometritis subclínica ($p<0.05$). CL: cuerpo lúteo, NCL: sin CL, CLFOL: con CL y folículo, NCLFOL: sin CLFOL.

aquellos con CL también tendieron a incrementarlo ($p=0.11$) en vacas con endometritis. Las diferencias entre el presente trabajo y el de LeBlanc *et al.* (2002b) podrían deberse a que la $\text{PGF}_{2\alpha}$ actúa rompiendo el bloqueo progestacional, lo cual favorece la resolución de la infección, y en el caso del

antibiótico ceftiofur se ha reportado que las bacterias que más impactan en la endometritis son más sensibles ($p<0.01$) al ceftiofur que a oxitetraciclina (MIC 16.9 ± 10 vs. <1 $\mu\text{g/mL}$) (Sheldon *et al.*, 2004).

3.5.3 Comportamiento reproductivo de vacas con o sin endometritis y con o sin tratamiento

El Cuadro 9 muestra los resultados del efecto de la aplicación de TO o TOF en vacas Holstein con endometritis subclínica en la preñez total en comparación con vacas sin endometritis subclínica y no tratadas (LS). De acuerdo con lo esperado, la preñez total fue similar (80.5%) entre los animales tratados con endometritis subclínica y los sanos sin tratar ($p>0.05$), lo cual podría implicar que la utilización de un método de diagnóstico confiable y el tratamiento con TO o TOF podrían ser efectivos para controlar los efectos adversos de la endometritis subclínica en el porcentaje de preñez total.

Cuadro 9. Preñez^z total de vacas Holstein con o sin endometritis subclínica, y con o sin tratamiento.

Tratamientos ^y	Vacas, no	Preñez total, %	Chi-cuadrada	<i>p</i>
Endometritis subclínica				
TO	56	83.9 ^a	1.34	0.24
TOF	57	77.1 ^a	0.10	0.74
Sin endometritis subclínica				
LS	43	74.4 ^a	-	-

^zMedias sin una letra en común, dentro de columnas, son diferentes ($p\leq 0.05$).

^yTO=Oxitetraciclina, TOF=oxitetraciclina más flunixin, LS=sin tratamiento.

Algunos autores reportan que a pesar de un tratamiento exitoso, los animales con endometritis subclínica son menos fértiles que sus contemporáneos sanos (LeBlanc *et al.*, 2002b). Este problema genera pérdidas económicas derivadas

del costo de los tratamientos, la reducción de la producción de leche y la infertilidad (Sheldon y Dobson, 2004). Sin embargo, en la presente investigación el porcentaje de preñez total fue similar ($p>0.05$) entre vacas tratadas con endometritis y vacas no tratadas sanas. Los resultados coinciden con los encontrados por Wonchee *et al.* (2002), quienes no encontraron diferencias entre grupos de vacas con endometritis tratadas y no tratadas con oxitetraciclina ($p>0.05$).

3.5.4 Comportamiento reproductivo de vacas con y sin endometritis subclínica

El Cuadro 10 indica los resultados del efecto de la endometritis subclínica en el comportamiento reproductivo de vacas Holstein. La preñez al primer servicio fue 14.8% superior ($p<0.05$) en animales sanos, mientras que la gestación total fue 25.5% superior ($p<0.01$). A pesar de ello, los servicios por concepción ($p>0.05$) y días abiertos ($p>0.05$) fueron similares entre ambos grupos. Estos resultados concuerdan con los reportados por Barlund *et al.* (2008), quienes publicaron que el porcentaje de preñez al primer servicio fue 18% superior ($p<0.05$) en vacas sanas en comparación con aquellas con endometritis, además, tuvieron menos días abiertos (25 d) ($p<0.05$). Mientras LeBlanc *et al.* (2002a) encontraron que la preñez total fue 10% superior ($p<0.01$) y el número de servicios por concepción fue más bajo (2.15 y 2.35; $p=0.06$) en animales sanos que en aquellos con infecciones uterinas.

Los mecanismos que explican las diferencias en comportamiento reproductivo entre vacas sanas y con endometritis subclínica se basan en los procesos de inflamación y alteración de la actividad ovárica. La endometritis involucra daños al endometrio (Sheldon *et al.*, 2004) que causan inflamación, la cual incrementa la producción de prostaglandina $F2\alpha$, que puede inducir la luteólisis prematura (Koblischke *et al.*, 2008). Los componentes del útero inflamado provocan reducción ($p<0.001$) de las células trofoectodermas del embrión, las cuales protegen a las células de la masa celular interna del embrión del daño por

componentes como las citocinas, afectando su sobrevivencia (Hill y Gilbert, 2008).

Cuadro 10. Comportamiento reproductivo^z de vacas Holstein con (TS) y sin (LS) endometritis subclínica.

Indicadores	LS	TS	<i>p</i>
Vacas, n ₀	43	49	-
Preñez al primer servicio, %	20.9 ^a	6.1 ^b	0.04
Preñez total, %	74.4 ^a	48.9 ^b	0.01
Servicios por concepción, n ₀	3.1±0.4 ^a	4.0±0.4 ^a	0.16
Días abiertos, d	157.1±8.3 ^a	164.9±8.8 ^a	0.52

^zMedias sin una letra en común, dentro de filas, son diferentes ($p \leq 0.05$).

Las concentraciones de hormona folículo estimulante (FSH) no son afectadas por enfermedades uterinas, sin embargo, la síntesis de GnRH y hormona luteinizante (LH) pueden ser suprimidas por la toxina lipolisacárido, reduciéndose la capacidad de ovulación del folículo dominante (Sheldon *et al.*, 2009). Además, las vacas con endometritis presentan un crecimiento más lento de folículos dominantes y menor concentración periférica de estradiol en plasma, afectando también la capacidad de ovulación.

La ausencia de diferencias entre tratamientos para endometritis está afectada por el método de diagnóstico de la infección (Wonchee *et al.*, 2002; Kasimanickam *et al.*, 2005). Los resultados de este estudio indican que el diagnóstico de la infección por medio de ultrasonido fue efectivo, sugiriendo que en trabajos posteriores, donde se intente evaluar tratamientos de infecciones uterinas, sería de gran utilidad realizar el diagnóstico de la infección uterina con un método validado como la ultrasonografía o la citología endometrial.

3.6 CONCLUSIONES

La aplicación intramuscular de flunixin más oxitetraciclina no mejora la resolución de la endometritis subclínica, ni el comportamiento reproductivo en comparación con la aplicación de la oxitetraciclina sola. Sin embargo, la oxitetraciclina mejora el comportamiento reproductivo de vacas Holstein con endometritis subclínica en comparación con las vacas no tratadas.

3.7 LITERATURA CITADA

- Anderson, K. L., C. A. Neff-Davis, L. E. Davis, and V. D. Bass. 1990. Pharmacokinetics of flunixin meglumine in lactating cattle after single and multiple intramuscular and intravenous administrations. *American Journal of Veterinary Research* 51(9): 1464-1467.
- Azawi, O. I. 2008. Postpartum uterine infection in cattle. *Animal Reproduction Science* 105: 187-208.
- Barlund, C. S., T. D. Carruthers, C. L. Waldner, and C. W. Palmer. 2008. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology* 69: 714-723.
- Brooks, G. 2000. Comparison of two intrauterine treatments for bovine endometritis. *The Veterinary Record* 146: 25.
- Connamacher, R. H., and H. G. Mandel. 1965. Binding of tetracycline to the 30s ribosomes and to polyuridylic acid. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 20: 98-103.
- Drillich, M., D. Voigt, D. Forderung, and W. Heuwieser. 2007. Treatment of acute puerperal metritis with flunixin meglumine in addition to antibiotic treatment. *Journal of Dairy Science* 90: 3758-3763.
- Erdem H., A. Guzeloglu. 2009. Effect of meloxicam treatment during early pregnancy in holstein heifers. *Reproduction in Domestic Animals* *In*: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19144041. Consultado el 31/05/2010.
- Foldi, J., M. Kulcsár, A. Pécsi, B. Huyghe, C. de Sa, J. A. C. M. Lohuis, P. Cox, and G. Huszenicza. 2006. Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Animal Reproduction Science* 96: 265-281.
- Geary, T. W., R. P. Ansotegui, M. D. MacNeil, A. J. Roberts, and R. C. Waterman. 2010. Effects of flunixin meglumine on pregnancy establishment in beef cattle. *Journal of Animal Science* 88: 943-949.

- Hill, J., and R Gilbert. 2008. Reduced quality of bovine embryos cultured in media conditioned by exposure to an inflamed endometrium. *Australian Veterinary Journal* 86: 312-316.
- Janowski, T., S. Zdunczyk, and E. S. Mwaanga. 2000. Combined GnRH and PGF_{2α} application in cows with endometritis puerperalis treated with antibiotics. *Reproduction in Domestic Animals* 36: 244-246.
- Kasimanickam, R., T. F. Duffield, R. A. Foster, C. J. Gartley, K. E. Leslie, J. S. Walton, and W. H. Johnson. 2004. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 62: 9-23.
- Kasimanickam, R., T. F. Duffield, R. A. Foster, C. J. Gartley, K. E. Leslie, J. S. Walton and W. H. Johnson. 2005. The effect of a single administration of cephalixin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. *Theriogenology* 63: 818-830.
- Koblischke, P., H. Kindahl, S. Budik, J. Aurich, F. Palm, I. Walter, J. Kolodziejek, N. Nowotny, H. O. Hoppen, and C. Aurich. 2008. Embryo transfer induces a subclinical endometritis in recipient mares which can be prevented by treatment with non-steroid anti-inflammatory drugs. *Theriogenology* 70: 1147-1158.
- Konigsson, K., H. Gustafsson, A. Gunnarsson, and H. Kindahl. 2001. Clinical and bacteriological aspects on the use of oxytetracycline and flunixin in primiparous cows with induced retained placenta and post-partal endometritis. *Reproduction in Domestic Animals* 36: 247-256.
- Konigsson, K., K. Torneke, I. V. Engeland, K. Odensvik, and H. Kindahl. 2003. Pharmacokinetic and pharmacodynamic effects of flunixin after intravenous, intramuscular and oral administration to dairy goats. *Acta Veterinaria Scandinavica* 44: 153-159.
- LeBlanc, S. J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, K. G. Bateman, G. P. Keefe, J. S. Walton, and W. H. Johnson. 2002a. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 85: 2223-2236.
- LeBlanc, S. J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, K. G. Bateman, G. P. Keefe, J. S. Walton, and W. H. Johnson. 2002b. The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 85: 2237-2249.
- Malinowski, E., H. Lassa, H. Markiewicz, M. Kaptur, M. Nadolny, W. Niewitecki, and J. Zietara. 2010. Sensitivity to antibiotics of *Arcanobacterium pyogenes* and *Escherichia coli* from the uteri of cows with metritis/endometritis. *The Veterinary Journal In Press*: <http://www.sciencedirect.com/science>. Consultado el 31/05/2010.

- Merrill, M. L., R. P. Ansotegui, P. D. Burns, M. D. MacNeil, and T. W. Geary. 2007. Effects of flunixin meglumine and transportation on establishment of pregnancy in beef cows. *Journal of Animal Science* 85: 1547-1554.
- Morales R., S., J. Hernández C., G. Rodríguez T., y R. Peña F. 2000. Comparación del porcentaje de concepción y la función lútea en vacas de primer servicio, vacas repetidoras y vaquillas Holstein. *Veterinaria México* 31: 179-184.
- Nebel, R. L., and M. L. McGilliard. 1993. Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 76: 3257-3268.
- Odensvik, K., and G. Fredriksson. 1993. The effect of intensive flunixin treatment during the postpartum period in the bovine. *Journal of Veterinary Medicine* 40: 561-568.
- Petit, T., J. Spergser, R. Rosengarten, and J. Aurich. 2009. Prevalence of potentially pathogenic bacteria as genital pathogens in dairy cattle. *Reproduction in Domestic Animals* 44: 88-91.
- SAS Institute Inc. 2004. SAS OnlineDoc® 9.1.3. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Shams-Esfandabadi, N., A. Shirazi, and H. Ghasemzadeh-Nava. 2004. Pregnancy rate following post-insemination intrauterine treatment of endometritis in dairy cattle. *Journal of Veterinary Medicine* 51: 155-156.
- Sheldon, I. M., and D. E. Noakes. 1998. Comparison of three treatments for bovine endometritis. *Veterinary Record* 142: 575-579.
- Sheldon, I. M., and H. Dobson. 2004. Postpartum uterine health in cattle. *Animal Reproduction Science* 82-83: 295-306.
- Sheldon, I. M., D. E. Noakes, A. N. Rycroft, D. U. Pfeiffer, and H. Dobson. 2002. Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction* 123: 837-845.
- Sheldon, I. M., G. S. Lewis, S. LeBlanc, and R. O. Gilbert. 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65: 1516-1530.
- Sheldon, I. M., M. Bushnell, J. Montgomery, and A. N. Rycroft. 2004. Minimum inhibitory concentrations of some antimicrobial drugs against bacteria causing uterine infection in cattle. *Veterinary Record* 155: 383-387.
- Sheldon, I. M., S. B. Price, J. Cronin, R. O. Gilbert, and J. E. Gadsby. 2009. Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle. *Reproduction in Domestic Animals* 44: 1-9.
- Thurmond, M. C., C. M. Jameson, and J. P. Picanso. 1993. Effect of antimicrobial treatment in reducing calving-to-conception interval in cows

with endometritis. Journal of the American Veterinary Medical Association 203: 1576-1578.

- Wildman, E. E., G. M. Jones, P. E. Wagner, R. L. Boman, H. F. Troutt, and T. N. Lesch. 1981. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. Journal of Dairy Science 65: 495-501.
- Williams, E. J., D. P. Fischer, D. U. Pfeiffer, G. C. W. England, D. E. Noakes, H. Dobson, and I. M. Sheldon. 2005. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. Theriogenology 63: 102-117.
- Wonchee S., Z., R. R. Lozano D., y E. González P. 2002. Evaluación de diferentes tratamientos en el posparto temprano en vacas lecheras con infecciones uterinas. Técnica Pecuaria en México 40: 105-117.