



Complicaciones bacterianas de la involución uterina en vacas de tambo

Huszenicza, Gy.^{1*}, Földi, J.^{1,2}, Pécsi, A.^{1,3}, Domokos, M.¹, Szabó, J.⁴, Kulcsár, M.¹, Gálfi, P.¹

¹Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Szent István, H-1400 Budapest, P.O.Box 2, Hungría;

²Intervet Hungaria Kft, Boráros ter 7. Budapest, H-1095 Hungría;

³Universidad de Debrecen, Facultad de Ciencias de la Agricultura, H-4032 Debrecen, Böszörményi str.138, Hungría;

⁴ Universidad de Debrecen, Facultad de Ciencias Médicas, 4012 Debrecen, Nagyerdei krt. 98, Hungría

*Corresponding author. Tel.: +36-1-478-4202; fax: +36-1-478-4230.

E-mail address: huszenicza.gyula@aotk.szie.hu.hu

Resumen

La contaminación bacteriana del útero al postparto es un hallazgo frecuente, el cual por sí mismo no distorsiona la restauración anatómica e histológica del tracto genital tubular. Sin embargo, el balance inapropiado entre la infección uterina y los mecanismos uterinos de auto-defensa antimicrobianos, tiene como resultado complicaciones tales como metritis puerperal, endometritis clínica, piómetra y endometritis subclínica. Este trabajo, luego de revisar la bacteriología de la involución uterina y los factores predisponentes para sus complicaciones bacterianas, define las diferentes formas clínicas y resume su patología, y además los recientes progresos en consideraciones diagnósticas y principios de los tratamientos actuales para estas enfermedades de los genitales bovinos.

Introducción

Los resultados de la infección bacteriana del útero al postparto (pp) son metritis puerperal, endometritis clínica, piómetra y endometritis subclínica (Sheldon y col., 2006). Estas son las formas más comunes de enfermedades genitales en vacas de tambo que pueden demorar la completa regeneración del endometrio e interrumpir la reanudación de la función cíclica ovárica, dando como resultado la postergación de la primera inseminación (IA), incrementando el número de IA-s por concepción, y por lo tanto, prolongando el intervalo interparto y disminuyendo la tasa de partos (revisado por Hussain y Daniel, 1991a). Por lo tanto, este deterioro uterino tiene efectos perjudiciales sobre la performance reproductiva. Este trabajo, luego de revisar la bacteriología de la involución uterina y los factores predisponentes para sus complicaciones bacterianas, define las diferentes formas clínicas y resume su patología, y además, los recientes progresos en consideraciones diagnósticas y principios de los tratamientos actuales para estas enfermedades de los genitales bovinos.

Bacteriología de la involución uterina. Curso de la contaminación, infección y enfermedad

Antes del parto, el lumen uterino es estéril. Al

postparto las bacterias pueden invadir el canal del parto y la cavidad uterina, ascendiendo tanto desde el ambiente como desde la piel y heces de los animales. En vacas pp existen dos tipos diferentes de técnicas de muestreo utilizadas para el aislamiento de las bacterias del útero: hisopos endometriales y biopsias endometriales. Una comparación de su sensibilidad relativa llevada a cabo por Messier y col. (1984) mostró que se obtuvo un 33% más de aislamientos utilizando biopsias que utilizando un hisopo. Sin embargo, Noakes y col. (1991) registraron que los hisopos y las biopsias brindaban resultados similares tanto para animales clínicamente sanos como para vacas enfermas. Ya que es más sencillo, barato y seguro para el animal, el método actualmente aceptado a nivel general es el uso de un hisopo descartable estéril y con doble envoltura. Los requerimientos clave para la recolección de muestras son el evitar la contaminación del hisopo en el cérvix y la vagina, y el uso de un método de transporte adecuado que asegure la supervivencia bacteriana incluyendo los susceptibles anaerobios Gram negativos (GN). Las muestras deben transportarse al laboratorio lo más rápido posible luego de su recolección y deben ser procesados dentro de las 24 horas.

Se puede aislar una gran variedad de bacterias de casi todas las vacas durante los primeros 10-14 días postparto. Más allá de los signos clínicos, la presencia bacteriana en el útero es usual en este momento y puede ser detectada en más del 90% de las vacas (Sheldon y Dobson 2004). En los primeros 10 días luego del parto se aislaron principalmente *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. y *Bacillus* spp. a partir del útero de vacas con signos clínicos visibles de metritis puerperal, mientras que de animales clínicamente enfermos los predominantes fueron *Arcanobacterium pyogenes* (*A. pyogenes*), *Escherichia coli* (*E. coli*) y diferentes bacterias anaerobias obligadas GN como *Fusobacterium necrophorum* (*F. necrophorum*), *Prevotella* spp. y *Bacteroides* spp. (Huszenicza y col. 1999). Una sucesión de estudios confirmaron que la mayoría de las consecuencias clínicas y reproductivas se atribuyen a la presencia de ciertos patógenos no específicos: principalmente a *A. pyogenes*, ya sea solo o en combinación con otras bacterias como *E. coli* y anaerobios obligados GN. *A. pyogenes* actúa sinérgicamente con *F. necrophorum*, *Bacteroides* spp. y *Prevotella* spp. para acrecentar la severidad de la enfermedad uterina (Fredriksson y col. 1985; Olson y col. 1984; Paisley y col., 1986; Hussain, 1989; Hussain y Daniel, 1991a; Lewis 1997; Sheldon y Dobson, 2004;

Sheldon y col., 2004b; Williams y col., 2005). La incidencia y las especies de bacterias disminuyen gradualmente junto con los días pp. Por eso la presencia de bacterias es esporádica en los días 28-35 después del parto, y por lo tanto la cavidad uterina debería estar estéril (Paisley y col., 1986; Hussain, 1989; Hussain y Daniel, 1991a y 1991b). El aislamiento de *A. pyogenes* en el período de involución tardío (28-35 días después del parto) se encuentra asociado con una tasa de concepción dramáticamente disminuida (Huszenicza y col. 1999).

La presencia de bacterias en el útero de vacas pp (contaminación bacteriana) no siempre resulta en enfermedades inflamatorias uterinas. Pese a esto, la infección bacteriana intrauterina (i.u.), que sigue a ciertos casos de contaminación, implica la adherencia de organismos patógenos a la mucosa, colonización o penetración del epitelio y/o liberación de productos bacterianos (toxinas, enzimas, etc.) que pueden conducir al establecimiento de enfermedades uterinas (Sheldon y col. 2006). Sin embargo, la infección bacteriana i.u. en sí misma, no significa necesariamente una manifestación clínica de la enfermedad; esto es dependiente del estatus inmune del huésped. El curso de la involución uterina puede ser considerado como un balance "sube y baja": en una situación fisiológica los mecanismos de autodefensa del útero son capaces de contrarrestar la infección bacteriana.

La inoculación experimental intrauterina con *A. pyogenes* y *E. coli* convoca una **respuesta de anticuerpos** que puede ayudar al útero a reducir la severidad de infecciones subsecuentes (Radcliffe y col., 2005), mostrando el involucramiento de factores humorales en la autodefensa antimicrobiana de los genitales tubulares, y sugiriendo que las consecuencias de las infecciones uterinas pueden ser más severas en animales jóvenes que en animales de mayor edad. Sin embargo, se mantiene pobremente definido el rol de la respuesta inmune humoral del huésped a la enfermedad.

La fagocitosis de bacterias no opsonizadas por anticuerpos por parte de los polimorfonucleares (PMN), neutrófilos y otros leucocitos parece ser la defensa inicial contra los patógenos invasores (Hussain 1989; Cai y col., 1994; Lewis, 1997; Bon Durant, 1999; Kimura y col.; 2002; Mateus y col. 2002; Lewis 2004; Sheldon y Dobson, 2004). Cualquier deterioro de este mecanismo puede conducir a la enfermedad. Se supone que los cambios endócrinos del periparto interfieren con la inmunidad innata de la madre (Vangroenweghe y col., 2005). La producción del factor de crecimiento tipo insulínico 1 hepatocelular (IGF-1) inducido por la somatotrofina, y por tanto los niveles plasmáticos de IGF-1, son bastante bajos durante la lactación temprana (Gong, 2002; Diskin y col., 2003; Vangroenweghe y col., 2005), especialmente en vacas de tambo hipercetonémicas (Huszenicza y col., 2006). El IGF-1 y sus proteínas de unión regulatorias están asociadas con la supervivencia celular, modulación de la apoptosis y funcionalidad de los leucocitos PMN. Durante la lactación temprana la biodisponibilidad de la IGF-1 decrece, redu-

ciendo sus efectos estimulantes sobre los neutrófilos PMN (Vangroenweghe y col., 2005). Los niveles plasmáticos incrementados de ácidos grasos no esterificados (AGNE) y bOH-butirato (BHB) perjudican la actividad migratoria, fagocítica y destructiva y/o la explosión oxidativa de los PMN y otros leucocitos, acrecentando la susceptibilidad del huésped a patógenos invasores (Sartorelli y col., 1999 y 2000; Suriyasathaporn y col., 1999 y 2000; Zerbe y col., 2000). En los días 1-3 después del parto los niveles elevados (>1.00 mmol/l) de BHB predisponen a las vacas a mastitis causada por patógenos ambientales, y esta forma de mastitis coincide frecuentemente con metritis puerperal (Jánosi y col., 2003). Los desórdenes metabólicos como la hipercetonemia (Reist y col. 2003), y condiciones deficitarias (como deficiencia de selenio, vitamina E y Vitamina A/ β -caroteno; Lewis, 1997; Sheldon y Dobson, 2004) pueden alterar la competencia de los mecanismos de autodefensa celulares, y por tanto pueden incrementar el riesgo de desarrollo de metritis.

En un estudio reciente (observación no publicada de los autores) vacas sanas ($n=10$) y sus contrapartes afectadas por metritis ($n=14$) fueron muestreadas mediante biopsia endometrial durante el puerperio temprano (día 4 a 14) para determinar el índice de apoptosis. Se tomaron muestras de sangre simultáneamente para análisis de BHB. Se colorearon por inmunofluorescencia muestras de tejido embebidas en parafina para detección de apoptosis (fragmentación nuclear), por el método TUNEL (terminal deoxynucleotidyl-transferase mediated dUTP nick-end labelling). Los núcleos fueron contrateñidos con 4,6-diamino-2-fenilindol (DAPI) fluorescente. En las secciones fotografiadas se determinó el número total de células mediante células teñidas con DAPI por campo. Las células TUNEL positivas con coloreado DAPI concurrente mostraron el número de células apoptóticas. El índice apoptótico fue calculado dividiendo el número total de células endometriales apoptóticas por el número total de células y multiplicando por 100. Antes del inmunocoloreado, una sección de cada muestra de biopsia fue teñida con hematoxilina y eosina para una evaluación histológica. Tomando en cuenta el estatus uterino y el contenido de BHB en plasma, se clasificó a las vacas en (i) controles sanos ($n=10$), (ii) métricas-normocetonémicas ($n=9$), además (iii) individuos hipercetonémicos ((BHB: >1.00 mmol/l) con o sin metritis puerperal ($n=5$). El índice de apoptosis de controles sanos (BHB: 0.45 ± 0.12 mmol/l), vacas métricas normocetonémicas (BHB: 0.45 ± 0.12 mmol/l) y animales hipercetonémicos (BHB: 1.47 ± 0.32 mmol/l) fue de $50 \pm 6\%$, $52 \pm 1\%$ y $24 \pm 6\%$, respectivamente, con una correlación lineal cercana ($R^2=0.78$) entre el índice de apoptosis y el contenido de BHB. Se concluyó que durante las primeras semanas de lactación la hipercetonemia disminuye la ocurrencia de apoptosis en el endometrio, incrementando el riesgo de degeneración necrótica de las células epiteliales y las consecuentes complicaciones inflamatorias en vacas de tambo. Por lo tanto parece ser una ruta alternativa el cómo la hipercetonemia, relacionada con el balance energético negativo postparto, puede



interferir con la involución uterina postparto.

La contractibilidad miometrial es el tercer componente de los mecanismos de autodefensa, ya que las contracciones uterinas remueven el contenido uterino (loquios o exudados) (Paisley y col., 1986). Las vacas al postparto temprano muestran una alta variabilidad en cuanto a las características de contractibilidad uterina, y las contracciones miometriales disminuyen significativamente con el tiempo (Bajcsy y col., 2006). La falta de ejercicio, la falta de mamada regular y la hipocalcemia (paresia puerperal) son las causas más frecuentes de disminución de la contractibilidad del miometrio, dando como resultado un estancamiento y acumulación de loquios, y por lo tanto incrementando el riesgo de complicaciones bacterianas (Kamgarpour y col., 1999; Lewis, 1997; Sheldon y Dobson, 2004). Sin embargo, en estudio reciente de Bajcsy y col. (2005) no se encontró correlación entre las concentraciones calcio ionizado en sangre (Ca^{2+}) y alguno de los parámetros de contractibilidad.

La retención de membranas fetales (RMF), los nacidos muertos, los mellizos y las dificultades durante el parto que requieren asistencia manual dentro del canal del parto (distocia) pueden **incrementar la presión de infección** y, por tanto, la probabilidad de incidencia de la enfermedad, incluso si los mecanismos de defensa uterinos se encuentran intactos (Paisley y col., 1986; Hussain 1989; Hussain y Daniel 1991a; Lewis, 1997; Sheldon 2004; Sheldon y Dobson 2004). Además, un ambiente estabulado no higiénico empeora la situación. Las condiciones higiénicas al parto generalmente son mejores en pequeños tambos familiares que en rodeos a gran escala, en los cuales las vacas son mantenidas encerradas todo el año y paren en establos de maternidad de uso continuo. La incidencia clínica de complicaciones bacterianas es mucho mayor en vacas de tambos en comparación con vacas de carne en lactación, y muestra una gran variación entre tambos (Paisley y col., 1986; Hussain y Daniel, 1991b). A nivel del rodeo, los factores de riesgo más importantes asociados con la incidencia de metritis son el tamaño del rodeo (mayor incidencia en rodeos grandes), estación del año (mayor incidencia en vacas que paren entre Noviembre y Abril), número de partos (mayor incidencia en vacas de 1ª y >3ª parición), falta de pastoreo, distocia y RMF (Brunn y col., 2002; Sheldon y Dobson, 2004).

Formas clínicas de complicaciones bacterianas

Debido a que existe una diferencia sustancial en la terminología de las enfermedades uterinas causadas por complicaciones de involución, que a veces puede conducir a confusiones, Sheldon y col. (2006) propusieron recientemente los siguientes términos para un uso uniforme: (i) metritis puerperal, (ii) endometritis clínica, (iii) piómetra y (iv) endometritis subclínica. Estas enfermedades son las complicaciones uterinas del puerperio temprano (metritis puerperal), del estadio de involución intermedio a tardío (endometritis clínica, piómetra) y del período de servicio (las mismas que para el estadio de involución intermedio a tardío, además de endometritis subclínica), y forman una

cadena de eventos patológicos que se suceden uno al otro en el orden arriba mencionado (Paisley y col., 1986; Kennedy y Miller, 1993; Lewis, 1997; BonDurant, 1999; LeBlanc y col., 2002a; Kasimanickam y col., 2004; Gilbert y col., 2005).

Metritis puerperal

Definición

La metritis puerperal es la complicación bacteriana del puerperio temprano, la cual ocurre durante las primeras dos semanas después del parto (generalmente en los 4-10 días pp), y se caracteriza (i) por una gran cantidad de un exudado maloliente, marrón-rojizo, acuoso (e.g. pútrido) con algunos detritos necróticos en el útero y una pared uterina delgada en la primera mitad de este período, o (ii) por una cantidad limitada de exudado uterino maloliente y purulento, y una pared uterina engrosada (edematosa) algunos días más tarde. Pueden o no presentarse signos sistémicos de enfermedad (depresión, postración), incluyendo pirexia (= 39.5 °C) (Sheldon y Dobson, 2004; Sheldon y col., 2006). La incidencia de metritis puerperal varía de 2,2 a 37,3 % (Kelton y col., 1998).

Patología clínica de metritis puerperal

Desde un punto de vista patológico la metritis puerperal es una enfermedad inflamatoria pútrida aguda debida a la infección bacteriana masiva del útero. Los procesos degenerativos e infiltrativos conducen a un daño excesivo del epitelio luminal y glandular (a pesar de que actualmente no existen datos publicados que muestren la tasa de células endometriales necróticas a apoptóticas), y se pueden extender a todo el espesor de la pared uterina, algunas veces también a la serosa (perimetritis) y ligamentos suspensorios (parametritis) (Paisley y col., 1986; Kennedy y Miller, 1993; BonDurant, 1999; Sheldon 2004; Sheldon y Dobson, 2004).

A pesar de que en los primeros 10 a 14 días postparto pueden existir una gran cantidad de otras bacterias en el útero, el *A. pyogenes* y *E. coli* en combinación con ciertas bacterias anaeróbicas GN (*F. necrophorum*, *Bacteroides* spp. y *Prevotella* spp.) son considerados como los principales patógenos responsables en esta complicación (Sheldon y Dobson, 2004). Esta conclusión fue obtenida a partir de muchos estudios diferentes: a partir de vacas con metritis puerperal se aisló *A. pyogenes*, bacterias anaeróbicas GN y coliformes en 33-83%, 49-67% y 67-85% respectivamente (Huszenicza y col., 1999; Dohmen y col., 2000; Mateus y col., 2002; Sheldon y col., 2004b). Se asoció las densidades de crecimiento bacteriano de *A. pyogenes*, *E. coli*, *Streptococcus* no hemolíticos y *Mannheimia haemolytica* con un mucus de olor fétido (Williams y col., 2005). Puede ocurrir una intensa invasión por patógenos si la capacidad migratoria y funcional (fagocítica, destructora de células, explosión oxidativa) de los neutrófilos se ve reducida (Paisley y col., 1986; Cai y col., 1994; Mateus y col., 2002; Sheldon, 2004). El *A. pyogenes* y los anaerobios GN invaden no solo el

endometrio sino que generalmente también invaden la submucosa, y ocasionalmente las capas profundas de la pared uterina (Paisley y col., 1986; BonDurant, 1999).

El estancamiento de los loquios en la cavidad uterina provee un excelente medio de cultivo para la multiplicación de *E. coli* y/o otros coliformes, dando como resultado una liberación extensiva de un componente de la pared celular de estos microbios tipo lipopolisacárido (endotoxina) (Peter y col., 1987 y 1990; Dohmen y col., 2000; Mateus y col., 2003). La enorme cantidad de endotoxinas en los loquios de las vacas con distocia y/o RMF poco después de la parición, aumenta el desarrollo de infección uterina por *A. pyogenes* y anaerobios GN en el período pp tardío (Dohmen y col., 2000). Sin embargo, a pesar de este alto nivel local, las endotoxinas se mantienen indetectables en la sangre periférica de la mayoría de las vacas (Dohmen y col., 2000), o pueden ser detectadas solo en los casos más severos (Mateus y col., 2003). Las endotoxinas en los loquios proveen una señal quimiotáctica positiva para los leucocitos, la cual los activa, y aumenta su migración desde la sangre hacia el útero.

Además, en las células inmunes estimuladas (principalmente en macrófagos) las endotoxinas inducen la liberación de histamina y citoquinas pro-inflamatorias, como el factor de necrosis tumoral α (TNF α) e interleuquinas (IL1 e IL6), y activa los sistemas enzimáticos fosfolipasa A2, ciclooxigenasa-2 y 5-lipooxigenasa, produciendo varios eicosanoides (PGF2a, PGE2 y también prostacilinas y tromboxanos) (Madej y col., 1984; Peter y col., 1987; Kindahl y col., 1992 y 1996; BonDurant, 1999; Mateus y col., 2003; Sheldon, 2004; Sheldon y col., 2004b). Uno de estos eicosanoides es la PGF2a, que tiene conocidas propiedades luteolíticas e inmuoestimuladoras, lo cual también incrementa la contractibilidad endometrial en la vaca (Hirsbrunner y col., 2003; Lewis, 2004). En las primeras 2 a 3 semanas se encontró niveles aumentados de PGF2a y su metabolito estable (13,14-dihidro-15-ketoprostaglandina F2a, PGFM). Estas altas concentraciones de PGFM coincidieron con la fase de regresión rápida de la involución uterina. Se reportó la ocurrencia de valores significativamente altos en vacas afectadas en comparación con la metritis puerperal (Madej y col., 1984; Del Vecchio y col., 1992 y 1994). La amplitud y duración de la liberación endometrial de PGF2a se correlaciona de forma lineal con el tiempo para la involución uterina completa en vacas con metritis puerperal (Kindahl y col., 1992 y 1996; Del Vecchio y col., 1994). El grado de metritis influencia el patrón de liberación de PGF2a y sus niveles plasmáticos, pero no el contenido de PGFM en el fluido uterino (Mateus y col., 2003). Se pueden utilizar las concentraciones plasmáticas de PGFM como un indicador para el seguimiento del curso de la metritis (Del Vecchio y col., 1992 y 1994; Nakao y col., 1997; Seals y col., 2002; Mateus y col., 2003). La PGE2 es también un importante mediador inflamatorio uterino. Debido a sus acciones inmunosupresoras y luteotróficas, el nivel elevado de PGE2 en el contenido uterino puede aumentar el grado de infección bacteriana (Slama y col., 1991 y 1994), a pesar de

que sola o en combinación con la PGF2a puede incrementar la contractibilidad miometrial (Hirsbrunner y col., 2003). Mateus y col. (2003) encontraron niveles más altos de PGE2 en el fluido uterino de vacas con metritis severa que en aquellas que mostraron sólo signos leves de esta enfermedad. Más recientemente Herath y col. (2006) reportaron que la PGE2 es producida por células del estroma endometrial como una respuesta a las endotoxinas, lo que puede ser la explicación para los elevados niveles de PGE2 en metritis severas. Cuando las citoquinas pro-inflamatorias (TNF α , IL-1) y otros productos de macrófagos activados alcanzan el sistema nervioso central, estos mediadores inician marcados cambios en el patrón secretorio y/o en el nivel sérico de numerosos neurotransmisores y hormonas, como cortisol y catecolaminas, prolactina, hormona de crecimiento, IGF-1, hormonas pancreáticas glucoregulatorias (insulina, glucagón), leptina, productos tiroideos y gonadotrofinas (LH) (revisado por Huszenicza y col., 2004; Kulcsár et y col., 2005a). Simultáneamente, se encuentra elevada la producción de proteínas de fase aguda, como glicoproteína ácida α 1 (α 1-AG) y haptoglobina (HP) (Hirvonen y col., 1999; Sheldon y col., 2004b; Williams y col., 2005). Las citoquinas y/o los cambios neurales y endócrinos mediados por citoquinas juegan un papel clave en la inducción de síntomas sistémicos, p. ej. fiebre, letargia, pérdida de apetito (anorexia) y muchos cambios catabólicos en energía (lípidos y carbohidratos), proteína y metabolismo mineral, dando como resultado una rápida e intensa pérdida de peso y condición corporal. En casos más severos también se pueden observar alteraciones simultáneas en las funciones cardiovascular, pulmonar y gastrointestinal (hipotensión, taquicardia, ocasionando finalmente una disminución del gasto cardíaco, distres respiratorio, diarrea), así como en los conteos de células sanguíneas y del sistema de coagulación (Cullor, 1992; BonDurant, 1999; Huszenicza y col., 2004; Sheldon 2004; Sheldon y col., 2004b; Kulcsár y col., 2005a). Sin embargo, nuestro conocimiento en relación a ello es todavía limitado. En uno de nuestros experimentos recientes (Kulcsár y col., 2005b) se estudió el desarrollo de metritis puerperal, y los cambios relacionados en metabolitos plasmáticos, hormonas metabólicas y ciertas citoquinas y proteínas de fase aguda en vacas de 3^a 2^a parición con predisposición a esta enfermedad (RMF: n=10; distocia: n=31). Se realizó vaginoscopia y palpación rectal a intervalos de 2-3 días, comenzando en el día 3 postparto. Simultáneamente se recolectaron muestras de sangre una vez al día hasta el día 15, y luego 3 veces por semana hasta el día 45 para análisis de niveles de NEFA, BHB, IGF-1, insulina, leptina y FNTa y algunas proteínas de fase aguda (HP, α 1-AG). También se tomaron hisopados uterinos para bacteriología. En 7 vacas se observó una forma severa de metritis puerperal (MPS) con fiebre (temperatura rectal > 40,5°C) y disminución de la ingesta de alimento y producción de leche; una forma leve (MPL) con una descarga pútrida sólo se desarrolló en 15 animales, mientras que 19 vacas se mantuvieron saludables. Al principio, no difirieron entre sí los parámetros de vacas con MPS, MPL



y sanas. Por lo tanto, en vacas afectadas por metritis, disminuyeron BHB, IGF-1, insulina y leptina, mientras que NEFA y α 1-AG aumentaron, y se mantuvieron alterados por algunas semanas. Se detectaron elevaciones fluctuantes de FNTa y HP plasmáticos solamente en vacas con MPS, y además la pérdida de condición corporal fue más severa. Estas tendencias estuvieron relacionadas con las complicaciones uterinas, pero no se vieron alteradas por el cultivo uterino. Las mismas alteraciones fueron registradas en los niveles en plasma de estas hormonas, metabolitos relacionados con la energía y también en vacas lactantes tratadas con endotoxinas o FNTa- (Elsasser y col., 1995 y 1996, Kushibiki y col., 2000; Soliman y col., 2002; Waldron y col., 2003), y en los casos experimentales y naturales de mastitis por HN en el período postparto temprano (Nikolic y col., 2003; Huszenicza y col., 2004; Kulcsár y col., 2005a): las concentraciones de insulina y glucosa tendieron a incrementarse inicialmente y subsecuentemente declinaron, existió una tendencia para el incremento de los niveles de NEFA, mientras que los niveles plasmáticos de BHB, IGF-1 y leptina disminuyeron.

El desarrollo de metritis puerperal coincide con el reclutamiento de los folículos de la primera onda, seguido por la emergencia y selección del primer folículo dominante (FD). El FD de la primera onda produce 17β -estradiol (E2) y puede ovular en vacas de tambo sanas que no están en lactación, principalmente en aquellas que han estado por sobre el nadir del balance energético negativo durante poco tiempo después del parto. Se sabe que una apropiada pulsatilidad basal de LH, así como niveles superiores a un cierto umbral de insulina e IGF-1 plasmáticos son pre-requisitos endócrinos de este rápido reanudamiento de la ciclicidad (revisto por Buttler, 2003; Diskin y col., 2003). Sheldon y col., (2000) observaron una frecuencia significativamente alta de folículos >8 mm en el ovario contralateral del cuerno uterino previamente grávido entre los días 14 y 28 postparto, si se lo comparaba con el ovario ipsilateral. Esta diferencia disminuyó con el incremento del intervalo interparto. La selección del primer o segundo FD-s en el ovario ipsilateral mostró una correlación inversa con la densidad del crecimiento bacteriano uterino (Sheldon, 2002). Por lo tanto se planteó la hipótesis que los mecanismos inmunes del útero en la metritis/infección uterina puerperal tienen un efecto negativo directo sobre la función ovárica (ipsilateral).

Se reportó que en ratas las endotoxinas perjudicaban la liberación adenohipofisaria de LH (Rettori y col., 1994). En vaquillonas cíclicas que recibieron un desafío experimental 42 horas después de la luteólisis inducida por PGF_{2a} (Suzuki y col., 2001), las endotoxinas redujeron la frecuencia pulsátil de LH por 6 horas, e incrementaron la concentración promedio y la amplitud pulsátil de LH. Los niveles plasmáticos de E2 disminuyeron, y el pico preovulatorio de LH fue postpuesto, o bloqueado completamente. Luego del desafío experimental con endotoxinas, se demostró también en ovejas una disrupción similar en el alza preovulatoria de E2 y en el patrón secretorio de LH (Battaglia y col., 2000; Daniel y

col., 2000). Las endotoxinas absorbidas desde la cavidad uterina suprimieron el pico preovulatorio de LH, y/o indujeron una degeneración quística de los FD-s en vacas al postparto (Peter y col., 1989; López-Díaz y Bosu, 1992). En la metritis puerperal la liberación de citoquinas y las endotoxinas intrauterinas puede ser excesiva, y disminuir también los niveles plasmáticos de insulina e IGF-1 (Kulcsár y col., 2005b). A pesar de que aún no se han podido delinear todos los detalles de la regulación neuroendócrina en la metritis puerperal, las endotoxinas y/o citoquinas de origen uterino pueden disrumpir la progresión peri-ovulatoria del FD de la primera onda, dando como resultado la atresia o degeneración quística con una subsecuente posposición del reanudamiento de la ciclicidad ovárica (Peter, 2004; Sheldon, 2004). Estas consecuencias ováricas de la metritis puerperal (las cuales pueden ser obvias especialmente en casos severos; Kulcsár y col., 2005b) están bien documentadas por muchos estudios clínicos utilizando perfiles de progesterona para monitorizar la función ovárica postparto (Huszenicza y col., 1987; Peter y col., 1987; Gilbert y col., 1990; Huszenicza y col., 1999). Durante las primeras semanas de lactación, también se reportaron alteraciones ováricas similares en mastitis, con liberación intensa de citoquinas y endotoxinas (Huszenicza y col., 2004 y 2005).

Signos clínicos. Diagnóstico

En la metritis puerperal la consistencia viscosa de los loquios normales cambia a un exudado maloliente, acuso y marrón-rojizo, su cantidad puede incrementar mucho acompañando a una pared uterina delgada, ya que el útero atónico no es capaz de eliminar su contenido. Sin embargo, en algunos casos, la pared uterina puede ser un poco gruesa por edema, debido a un proceso inflamatorio, con un poco menos de cantidad de contenido pútrido anormal. Casi todas las capas de la pared uterina muestran signos inflamatorios agudos asociados con degeneración del tejido endometrial y miometrial. Sin embargo, el signo más importante, más allá de la cantidad de descarga, es el olor pestilente del contenido uterino acumulado. En casos más severos, los síntomas locales están acompañados de signos generales, como fiebre ($>39,5^{\circ}\text{C}$), pérdida de apetito, depresión, reducción en la producción de leche o diarrea con deshidratación como consecuencia (Paisley y col., 1986; Hussain, 1989; Hussain y Daniel, 1991; Lewis y col., 1997; Dohmen y col., 2000; Sheldon y Dobson, 2004; Sheldon y col., 2006). En la minoría de las vacas con metritis puerperal se presentan signos generales, y estos síntomas están asociados con la liberación excesiva de mediadores inflamatorios, así como (endo)toxinas y otros productos bacterianos. Por lo tanto se considera la metritis puerperal tóxica como un sinónimo de la forma más severa (Drillich y col., 2001; Sheldon y Dobson, 2004; Sheldon y col., 2006). El diagnóstico de metritis puerperal es bastante directo y se obtiene en base a los signos clínicos. El tiempo pasado desde el parto, y una descarga uterina maloliente, acuosa, marrón-rojiza, con o sin signos sistémicos, es suficiente para el diagnósti-

co (Sheldon y Dobson, 2004; Sheldon y col., 2006). El carácter y el olor del mucus vaginal refleja el número de bacterias en el útero (Williams y col., 2005). A pesar de que la pirexia está estadísticamente correlacionada con la presencia de patógenos uterinos y que los animales febriles tienen una concentración plasmática de proteínas de fase aguda significativamente alta, la fiebre es un indicador de metritis puerperal, pero son necesarios signos clínicos adicionales para identificar la enfermedad (Sheldon y col., 2004b). En la metritis puerperal tóxica la descarga vaginal usualmente se convierte temprano en fétida (al día 3-4) luego de parir, pero solo se da más tarde (día 6-10) en los casos más leves (Kulcsár y col., 2005b). Si en los animales no afectados por distocia y/o RMF se chequea muy temprano el curso de la involución, en el día 4-5 postparto (cuando una vaca deja la unidad de maternidad en rodeos a gran escala), esta diferencia en el tiempo de la primera aparición de signos patognomónicos puede dar como resultado un hallazgo clínico falso negativo en numerosos casos.

Endometritis clínica y piómetra

Definiciones

La endometritis clínica ocurre desde la tercera semana postparto (luego del día 14 pp) en adelante, caracterizada por la presencia de un contenido anormal (mucopurulento o purulento) en la cavidad uterina, y el mismo tipo de descarga vaginal expelida a través del cérvix, que todavía se encuentra abierto. La piómetra bovina es una enfermedad inflamatoria íntimamente relacionada, la cual se desarrolla después de la primera ovulación en presencia de un tejido luteal activo (a veces persistente), usualmente desde aproximadamente el día 20-21 en adelante. Debido a la producción de progesterona luteal, el cérvix se cierra de forma impermeable, por lo tanto, el exudado mucopurulento o purulento se acumula en la cavidad uterina (Bon Durant, 1999; Sheldon y Dobson, 2004; Sheldon y col., 2006). La incidencia lactacional reportada de "endometritis" varía de 7,5% a 61,6% (Curtis y col., 1985; Markusfeld, 1987; Gilbert y col., 2005). Sin embargo, estos datos deben ser interpretados con cuidado, ya que la definición de "endometritis" utilizada en diferentes publicaciones es inconsistente.

Patología clínica de la endometritis y piómetra

En la endometritis sólo el endometrio está inflamado, la afección no se extiende más allá del estrato esponjoso. Este proceso superficial está caracterizado por cambios degenerativos en el epitelio superficial, congestión vascular con edema del estroma, y migración de granulocitos neutrófilos y otras células inflamatorias (linfocitos, células plasmáticas) dentro del endometrio y de la cavidad uterina (Lewis, 1997; BonDurant, 1999; Sheldon, 2004; Sheldon y Dobson, 2004). Durante el período puerperal el útero de la mayoría de las vacas se encuentra contaminado, y quizás en el 90% de ellas se desarrolla una forma

leve no patológica de endometritis. En la mayoría de las vacas los mecanismos de defensa antimicrobianos locales pueden eliminar los patógenos, y esta forma leve no patológica de endometritis se resuelve en unos pocos días (Sheldon, 2004). Sin embargo, cuando a continuación de una recuperación incompleta de una metritis puerperal, el útero se mantiene infectado con *A. pyogenes* y anaerobios GN obligados (*F. necrophorum*, *Prevotella* y *Bacteroides* spp.), o re infectado con estos patógenos a partir del ambiente, se puede desarrollar una endometritis clínica. A diferencia de los otros patógenos uterinos, la incidencia e importancia de *E. coli* decrece gradualmente con el tiempo: el involucramiento de coliformes en la patogénesis de endometritis clínica es solo secundario (Paisley y col., 1986; Hussain, 1989; Hussain y Daniel, 1991a y 1991b). En la endometritis clínica el influjo de granulocitos es extensivo; células inflamatorias (neutrófilos, linfocitos, células plasmáticas) infiltran el endometrio (Lewis, 1997; Bon Durant, 1999; Sheldon, 2004; Sheldon y Dobson, 2004). El exudado contenido en el útero es mucopurulento (aproximadamente 50% pus y 50% mucus) o purulento (cantidad estimada de pus >50%) (Sheldon y col., 2006). El contenido purulento del exudado uterino deriva de la gran cantidad de granulocitos neutrófilos muertos, bacterias fagocitadas y detritos celulares (Sheldon y Dobson, 2004). El endometrio se vuelve hiperémico y congestivo, las células epiteliales superficiales se pueden descamar y necrotizar. La infección uterina puede ascender también en el oviducto. En formas crónicas de endometritis clínica el tejido cicatrizal puede reemplazar al endometrio funcional, dando como resultado fibrosis periglandular, degeneración quística y/o atrofia de glándulas uterinas (Lewis, 1997).

Cuando la endometritis clínica se presenta después de la primera ovulación, se puede desarrollar piómetra de forma simultánea a la formación de tejido luteal debido al cierre del cérvix regulado por la progesterona. En estas vacas el exudado (muco)purulento se acumula en el útero (Lewis, 1997; BonDurant, 1999; Sheldon, 2004; Sheldon y Dobson, 2004). Concomitantemente, el cuerpo lúteo (CL) puede persistir (Olson y col., 1984; Manns y col., 1985; Huszenicza y col., 1999).

Debido a que existen señales quimiotácticas que estimulan el influjo de células PMN dentro del útero inflamado, la producción de FNTa, leucotrienos y también otros eicosanoides (PGF2a y PGE2) puede ser relevante en la patogénesis (Manns y col., 1985; Hussain, 1989; Hussain y Daniel, 1991a; Kindahl y col., 1992 y 1996; BonDurant, 1999; Seals y col., 2002). Sin embargo, se mantiene limitada la liberación local de estos productos inflamatorios, y/o su absorción desde el útero. Por lo tanto, generalmente no se producen signos sistémicos ni se induce la producción de proteínas de fase aguda. Por lo tanto, raramente las vacas afectadas por endometritis o piómetra se enferman de forma sistémica como consecuencia de la condición uterina (BonDurant, 1999), a pesar de que ocasionalmente el contenido plasmático de a1-AG puede estar levemente elevado (Hirvonen y col., 1999; Kulcsár y col., 2005b; Williams y col., 2005).



Por largo tiempo se supuso que el útero postparto en rumiantes es menos sensible a la invasión por patógenos o al desafío bacteriano experimental hasta la primera ovulación, y durante la fase folicular de los ciclos siguientes. Sin embargo, la susceptibilidad a la invasión bacteriana se incrementa cuando se encuentra presente un CL funcional (Paisley y col., 1986; Hussain, 1989; Hussain y Daniel, 1991a). En un modelo de estudio (Lewis, 2003) el tratamiento con progesterona por unos pocos días incrementó la susceptibilidad de los animales a la inoculación intrauterina con *A. pyogenes* y *E. coli*, redujo la PGF2a circulante, y elevó la PGE2 plasmática. La ovariectomía incrementó y el tratamiento con progesterona disminuyó la respuesta inmune celular medida por la proliferación de linfocitos estimulados por concanava-lina A. Se concluyó que la progesterona convierte al útero postparto susceptible a la infección, la ovariectomía permite a la hembra continuar siendo resistente, y las prostaglandinas uterinas pueden mediar el proceso (Lewis, 2003 y 2004).

La inoculación intrauterina de *E. coli* acortó la duración máxima de vida luteal en la vaca (Gilbert y col., 1990). Este hallazgo es asociado con la liberación intrauterina de endo-toxinas, disparando una liberación endometrial directa de PGF2a (Kindahl y col., 1996), y/o a través de la activación de vías productoras de FNTa local relacionadas con la PGF2a (Okuda y col., 2002). Si en el ovario se encuentra presente un CL sensible, estos mecanismos son capaces de causar una luteólisis prematura, y de esta manera, acortar el ciclo estral como se probó en experimentos (Peter y Bosu, 1987; Peter y col., 1987; Kindahl y col., 1996) y estudios de campo (Huszenicza y col., 1987 y 1999). Por lo tanto, la duración máxima de vida del CL puede más ser corta (en endometritis leves) o incluso más larga (en piómetras/endometritis severas) que un ciclo fisiológico (Huszenicza y col., 1999).

Signos y diagnóstico de endometritis clínica y piómetra

El diagnóstico de endometritis clínica no parece difícil, pero considerando que el tamaño del útero y la calidad de su contenido puede mostrar una gran variación entre individuos y que puede depender en gran medida del tiempo desde la parición, tenemos que admitir que el diagnóstico clínico es bastante subjetivo. Al examen clínico siempre debe considerarse el estado actual de la involución uterina: 3 a 5 semanas post parto el útero se encuentra agrandado, no ha involucionado por completo. Sin embargo, más tarde, generalmente parece ser normal a la palpación rectal. Antes de la primera ovulación y formación del primer CL, el cérvix se encuentra abierto. Por lo tanto, en la endometritis existe al menos, una pequeña cantidad de descarga cervical (muco)purulenta, a pesar de que esto no siempre se pueda ver en animales que se encuentran de pie. No ocurren signos sistémicos, y en la mayoría de los casos la producción de leche también es normal (BonDurant, 1999; Sheldon, 2004; Sheldon y Dobson, 2004; Sheldon y col., 2006).

Se han realizado muchos intentos y reportes para investigar y validar criterios objetivos de diagnóstico para

la endometritis. Sheldon y col. (2006) concluyeron que la palpación rectal por sí misma no era lo suficientemente confiable para el diagnóstico. El resultado mostró una correlación pobre entre la presencia de patógenos uterinos primarios y la fertilidad. Para un correcto diagnóstico es necesaria y justificada la visualización de la descarga eliminada a través del cérvix y del orificio externo, utilizando un vaginoscopio estéril metálico o un vaginoscopio descartable de cartón forrado en papel de aluminio. LeBlanc y col., (2002^a) examinaron 1865 vacas una vez cada una entre los días 20 y 33 postparto para el diagnóstico de endometritis. Se clasificó y dio puntaje a la naturaleza de la descarga. Se colocaron todos los hallazgos clínicos en un modelo de regresión, se evaluaron sus efectos sobre la fertilidad, y se definió el diagnóstico de endometritis clínica de acuerdo con los parámetros que perjudican significativamente la fertilidad. Como conclusión, la definición propuesta de endometritis clínica al día 21 postparto fue la presencia de descarga uterina purulenta o maloliente detectable en la vagina y/o un diámetro cervical mayor de 7,5 cm. Luego del día 26 también se consideró a la descarga mucopurulenta como anormal y prueba de endometritis. Como alternativa a la vaginoscopia recientemente se desarrolló (Mc Dougall y col., 2006) un nuevo dispositivo ("Meti-check"; Simcrotech, Hamilton, Nueva Zelanda).

Cuando se categorizó las bacterias recolectadas con hisopos del lumen uterino de vacas a los 21 y 28 días postparto según su potencial patogénico esperado sobre el útero, se asoció el mucus vaginal purulento con la densidad de crecimiento de bacterias patógenas, pero no con contaminantes oportunistas: el crecimiento de *A. pyogenes*, *F. necrophorum*, *Prevotella* spp. y *Bacteroides* spp. fue asociado con mucus vaginal purulento o mucopurulento (Dohmen y col., 1995; Williams y col., 2005).

El diagnóstico de piómetra por palpación rectal y/o ecografía transrectal (ultrasonografía, US) se basa en los signos bien definidos de útero agrandado, gran volumen de contenido uterino acumulado, cérvix cerrado (p. ej. sin descarga visible) y un CL en el ovario (BonDurant, 1999; Sheldon, 2004; Sheldon y Dobson, 2004; Sheldon y col., 2006).

Endometritis subclínica

Definición

La endometritis subclínica recientemente definida ocurre en cualquier momento posterior a la culminación histológica de la involución uterina (p. ej. en y luego de la semana 8), y se caracteriza por un endometrio infiltrado extensivamente con granulocitos neutrófilos, que pueden ser reconocidos solo mediante un examen citológico del endometrio. No existe o existe solo una mínima cantidad de exudado acumulado en el útero, dando como resultado una completa falta de descarga cervical con propiedades patognomónicas (Kasimanickam y col., 2004; Gilbert y col., 2005; Sheldon y col., 2006).

Patología, diagnóstico y relevancia clínica de la endometritis subclínica

La endometritis subclínica es un proceso inflamatorio crónico no manifiesto del endometrio, con una proporción relativamente alta de leucocitos PMN en el útero, lo cual su-prime la fertilidad de las vacas afectadas. La proporción de células PMN considerada como "relativamente alta" depende de la técnica de muestreo así como del tiempo desde el parto. Kasimanickam y col (2004) estudiaron vacas lecheras postparto clínicamente normales a los 20-33 días de lactación (DDL) para validar la citología endometrial (CE) y la US como herramientas de diagnóstico de endometritis subclínica. El examen, que incluyó palpación transrec-tal, CE y US fue repetido dos semanas después de la primera visita, p. ej. 24-47 DDL. Las muestras para CE fueron recolectadas mediante el uso de la técnica de cepillo citológico modificada para grandes animales, extendidas en portaobjetos de vidrio, y fueron fijadas y teñidas con la coloración de Wright-Giemsa modificada. Se utilizó un análisis de superviven-cia para establecer una definición de endometritis subclínica basada en los factores asociados con una tasa de preñez relativamente disminuida. Los siguientes factores asociados con una tasa de preñez relativamente baja fueron identificados y considerados como el criterio de dia-gnóstico de endometritis subclínica: (a) CE positiva con >18% de leucocitos PMN a los 20-33 DDL; (b) CE positiva con >10% de leucocitos PMN a los 34-47 DDL; (c) fluido en el útero en cualquier examen. Gilbert y col. (2005) usaron otra técnica, el menor volumen uterino la-vado para recolectar muestras para CE a partir de vacas entre 40-60 DDL. Ya que la muestra en este caso es 2-5 ml de fluido, antes de colorearla debe ser re-suspendida y transferida a portaobjetos mediante centrifuga cytospin (n. de t.: de centrifugado celular). La tinción tam-bién fue Wright-Giemsa modificada y la proporción de corte de leucocitos PMN, como crite-rio de diagnóstico para endometritis subclínica, fue fijada en 5%. La palpación transrectal del útero no tuvo valor diagnóstico para la endometritis subclínica.

Kasimanickam y col. (2004) reportaron CE positiva en 35% y 34% de los casos al primer y segundo examen respectivamente. Gilbert y col. (2005) encontraron en su estudio una prevalencia total de 53%, con una variación entre rodeos de 37% a 74%. En ambos estu-dios la endometritis subclínica tuvo un efecto significativamente negativo en la performance reproductiva. Kasimanickam y col. (2004) siguieron a los animales involucrados en el estudio por un mínimo de 8 meses hasta la preñez o el refugio y calcularon la tasa de riesgo para la preñez (TRP). Las vacas con endometritis subclínica al primer y al segundo examen tuvieron una TRP de 0,59 y 0,49; en otras pala-bras tuvieron una tasa de preñez relativa de 41% y 51% en comparación con las vacas sin endometritis clínica. Glibert y col. (2005) llevaron a cabo un análisis de supervivencia de Kaplan-Meier, el cual reveló una tasa de preñez total significativamente baja ($P < 0,0001$). La mediana de días abiertos fue de 206 versus 118 para vacas con y sin endometritis subclínica. La tasa de preñez fue de 69% vs.

90% en los dos gru-pos, mientras que la tasa de preñez al primer servicio fue de 11% y 36%, la mediana de servi-cios fue de 3 versus 2 (todas estas diferencias: $P < 0,05$ para todos los parámetros, pero en diferentes niveles).

Los principios de la terapia

A primera vista, el manejo de las infecciones uterinas parece ser solo un término sofis-ticado para la terapia, sin embargo, tiene un significado más amplio: además de la terapia, involucra la prevención en la vaca individual, así como a nivel de rodeo. Ya que los factores que causan un deterioro en el balance entre la infección uterina y los mecanismos de defensa son muy complejos, las medidas preventivas también deben ser comprensivas (Paisley y col., 1986; Hussain y Daniel, 1991b).

En tambos a gran escala, un punto clave para una terapia exitosa es el diagnóstico a tiempo, basado en el monitoreo programado sistemático de las vacas pp mediante palpación transrectal y vaginoscopia. Idealmente, recomendamos llevar a cabo estos exámenes a los días 1-3, 6-10, 14-21 y 28-35 postparto, sin embargo, si alguien realiza un chequeo por metritis subclínica, también puede ser deseable examinar a los días 40-60 pp. En la rutina diaria de estos tambos grandes, estos requerimientos pueden ser cumplidos mediante la programación dos "días reproductivos" a la semana (p. ej. lunes, miércoles). En rodeos pequeños manteni-dos en pastoreo este chequeo regular no está justificado debido a la menor presión de infec-ción (Paisley y col., 1986; Hussain y Daniel, 1991b).

El objetivo y la puesta en práctica del tratamiento son un poco diferentes por las diferen-tes condiciones. En la RMF y distocia, se recomienda la estimulación de la contractibilidad miometrial mediante el uso de oxitocina o PGF2a, con el fin de prevenir el estancamiento in-trauterino de los loquios, y por lo tanto la infección intrauterina masiva. Existen algunos datos sobre el éxito limitado de la administración de antimicrobianos en tales casos (Paisley y col., 1986; Hussain y Daniel, 1991b), sin embargo, recientemente también se ha reportado el efecto beneficioso del tratamiento antibiótico sobre la performance reproductiva (Drillich y col., 2003). E. coli es un patógeno de particular importancia durante este período del postparto: su presencia se encuentra altamente correlacionada con la preva-lencia de A. pyogenes y anaero-bios GN al día 14 postparto (Dohmen y col.; 2000). Los métodos que tratan infeccio-nes in-trauterinas con E. coli en el período postparto inme-diato probablemente sean los más eficien-tes para reducir la endometritis más adelante. Sin embargo, es difícil esti-mar en la práctica la eficacia real de estos procedimien-tos.

Cuando ya se ha desarrollado la **metritis puerperal**, se deben administrar antibióticos con actividad sobre A. pyogenes, E. coli y anaerobios GN, con el fin de tratar la infección in-trauterina masiva y para prevenir las consiguien-tes complicaciones bacterianas y sépticas. Además de eso, también se pueden administrar sustancias que



incrementen la tonicidad del miometrio (Meléndez y col., 2004).

En un estudio reciente en Hungría (observación no publicada del autor) chequeamos la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los principales patógenos aislados de los úteros de vacas con metritis puerperal, contra oxitetraciclina (OTC) y amoxicilina, así como de algunas cefalosporinas (cefapirina y cefquinona) que recientemente se han aplicado en la terapia contra esta enfermedad. Se recolectaron hisopados uterinos a partir de vacas Holstein-Friesian de 5 rodeos que mostraron al menos los signos clínicos locales de metritis puerperal. El aislamiento e identificación de las bacterias fue llevado a cabo de acuerdo a las técnicas bacteriológicas convencionales. Las cepas fueron identificadas a nivel de especie utilizando los tests bioquímicos apropiados y el sistema Bio-Merieux de identificación ATB automática. Para la determinación de la CIM se adicionaron cantidades de μl de cultivos que contenían incrementos dobles de concentración de agentes antimicrobianos a bandejas de 96-pocillos de microdilución. Cada pocillo fue inoculado con 10 μl de suspensión bacteriana (el inóculo fue de 1.5×10^5 UFC/ml). La CIM fue leída como la menor concentración de antibiótico a la cual no se registró crecimiento. Se recolectaron e incubaron un total de 33 hisopos. Los patógenos más aislados fueron los siguientes: *A. pyogenes* (n=28), *E. coli* (n=30), *F. necrophorum* (n=4), *Bacteroides* spp. bilis-resistentes (n=9), *Bacteroides* spp. bilis-sensibles (n=24), *Porphyromonas* spp. y *Prevotella* negra pigmentada (n=10). Se midió una CIM elevada contra OTC en más de la mitad de *E. coli* y en casi todos los anaerobios Gram-negativos (excepto por las pocas cepas de *F. necrophorum*). Además cerca del 25% de las cepas de *A. pyogenes* fueron resistentes a la OTC. Casi todas las *E. coli* y todos los *Bacteroides* spp. bilis resistentes fueron completamente resistentes a la amoxicilina (CIM > 1,0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ y MIC = 4.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectivamente). Otros anaerobios gram-negativos mostraron una CIM variable, mientras que la mayoría de las cepas de *A. pyogenes* presentaron una sensibilidad in vitro relativamente alta (CIM = 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$) a la amoxicilina. Todos los patógenos aislados, salvo *E. coli*, mostraron ser sensibles (CIM = 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$) a la cefquinona, un derivado de cefalosporina de 3ª generación. *A. pyogenes* y los anaerobios Gram-negativos mostraron 100% de sensibilidad contra cefapirina, sin embargo, 75% de las cepas de *E. coli* tuvieron una CIM = 4.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ y el restante 75% incluso fue de alrededor de 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Concluimos que, en comparación con nuestros hallazgos previos, es remarcable el incremento de la CIM de la OTC y la amoxicilina contra los principales patógenos uterinos. Esta tendencia justifica nuevos caminos en la terapia de APE en vacas de tambó.

El uso local de OTC es la manera más tradicional de terapia antimicrobiana. Sin embargo, debido a la menor susceptibilidad de patógenos uterinos a la OTC, actualmente la eficacia de esta terapia está disminuyendo, y además se hace hincapié el carácter irritativo de las tetraclinas. La CIM de la OTC contra los principales patógenos

uterinos se ha incrementado durante los últimos 10-15 años, lo cual requiere dosis muy altas (2-4 g/día) durante 3-5 días. La eficacia in vivo esperada de otros antimicrobianos tradicionales (amoxicilina, aminoglucósidos) es cuestionable. (Paisley y col., 1986; Hussain y Daniel, 1991b; Cohen y col., 1993, 1995 y 1996; Sheldon y col., 2004a). Por lo tanto, recientemente se han realizado y se están realizando extensas investigaciones con nuevas generaciones (tercera y cuarta) de cefalosporinas. Además de la susceptibilidad de los patógenos uterinos más importantes (valores de CIM muy bajos; Sheldon y col., 2004a) estas sustancias poseen propiedades farmacocinéticas ideales con periodos de retiro cortos en leche y carne. Algunas experiencias ya fueron reportadas con la administración sistémica en vacas con fiebre (Drillich et al., 2001; Chenault et al., 2004; Meléndez et al., 2004), y también se lograron resultados promisorios con el uso intrauterino (observación del autor no publicada). La administración local de antibióticos versus la administración sistémica es un gran debate. Un tratamiento intrauterino conduce a altas concentraciones de la droga en la cavidad intrauterina y endometrio, y una cantidad relativamente pequeña es absorbida dentro de la circulación sistémica. (Mäser y col., 1980). La administración sistémica de antibióticos da como resultado concentraciones en el tejido uterino y en la luz que son, en el mejor de los casos, comparables con los niveles plasmáticos, y las cuales generalmente no alcanzan concentraciones inhibitorias mínimas contra patógenos uterinos. Otras desventajas del tratamiento parenteral son las altas cantidades totales de antibióticos necesarias para alcanzar concentraciones similares. Generalmente, no se justifica un tratamiento antibiótico sistémico mientras que la infección se mantenga localizada en el útero. La administración sistémica de antibiótico (Chenault y col., 2004) tiene su importancia primaria en el tratamiento de los casos más serios de metritis, cuando la infección tiene algunas consecuencias más allá del aparato reproductivo. Para estos casos tóxicos potencialmente peligrosos para la vida, además de la terapia antimicrobiana sistémica, también es necesario un tratamiento para mejorar la condición corporal (drogas antiinflamatorias no esteroideas, fluidos junto con reemplazo de electrolitos (Paisley y col., 1986; Hussain y Daniel, 1991b).

La eficacia de la terapia se mejora si simultáneamente con la administración de antimicrobianos, se tratan y compensan también los desórdenes metabólicos a los que están predispuestas (como hipocalcemia o hiperketonemia). Esta mejora será especialmente importante en tambos a gran escala, donde las vacas paren todo el año, los animales se mantienen bajo un confinamiento total sin pastoreo, y son alimentados con ración mixta. Sin embargo, no es fácil la identificación "on-spot" de vacas afectadas por formas subclínicas de estas disfunciones metabólicas. La presencia y el grado de cetonuria es un parámetro simple y práctico para detectar una producción elevada de cuerpos cetónicos en el estado de descompensación del balance energético negativo

postparto en vacas de tambo. Se realizó un estudio de campo (Pécsi y col., 2007) en dos tambos a gran escala en Hungría para evaluar el efecto de la cetonuria tratada y no tratada sobre el curso y cura clínica de la metritis puerperal, así como sobre la performance reproductiva siguiente. En el estudio se incluyeron vacas ($n=131$) con metritis puerperal hasta 10 días pp y que parieron a término (>270 días de gestación) sin complicaciones. La metritis puerperal se caracterizó (i) por una gran cantidad de exudado maloliente, marrón-rojizo, acuoso (p. ej. pútrido) con algunos detritos necróticos en el útero y una pared uterina delgada, o (ii) por una cantidad limitada de exudado uterino maloliente y purulento, y una pared uterina engrosada (edematosa) con o sin signos sistémicos de enfermedad. El primer tratamiento antimicrobiano (OTC) intrauterino fue aplicado a la inclusión, mientras que al mismo tiempo se aplicó un tratamiento anticetogénico a una proporción de animales seleccionados al azar. Se determinó el nivel de acetato-acético (AcAc) urinario para cada vaca mediante un test rápido de tira reactiva semi cuantitativo (se consideró un nivel de $=1.5$ mmol/l como reacción positiva p. ej. cetonuria), y una parte de las vacas con cetonuria recibió además un tratamiento anticetogénico hasta que el nivel de AcAc urinario se ubicara por debajo del límite de corte durante dos días consecutivos. Por lo tanto, para la evaluación de los datos, se ubicó a las vacas en cuatro grupos: con cetonuria, no tratadas ($n=37$); con cetonuria, tratadas ($n=28$); sin cetonuria, no tratadas ($n=27$); sin cetonuria, tratadas ($n=29$). El nivel urinario de AcAc en las vacas no tratadas con cetonuria estuvo por encima del límite de corte por 1-4 semanas (promedio \pm SEM: $17,3 \pm 1,6$ días), mientras que tomó 2-8 días ($4,5 \pm 0,4$ días) en las vacas tratadas con cetonuria ($P < 0,001$).

En el grupo con cetonuria no tratada la involución anatómica del útero se completó aproximadamente 1 semana después (38 ± 1 días) en comparación con los grupos con cetonuria tratada o sin cetonuria (31 ± 1 días, 29 ± 1 días, 31 ± 1 días respectivamente; $LSD(P=0.05)=3.1$). Además, las vacas de este grupo requirieron tratamientos antimicrobianos intrauterinos más repetidos para lograr una curación completa que aquellas que se encontraban en los otros tres grupos (9.6 ± 0.7 vs. 4.7 ± 0.6 , 3.8 ± 0.4 , 4.1 ± 0.5 ; $LSD(P=0.05)=1.64$). En este grupo el período parto-concepción fue mayor (días abiertos: 113 ± 9 días vs. 94 ± 6 días, 90 ± 7 días, 89 ± 8 días; por ANOVA: $P=0.12$), y la tasa total de preñez fue significativamente menor (38% vs 61 , 59 , 62% ; comparaciones en pares por χ^2 $p_{1-2}=0.05$, $p_{1-3}=0.09$, $p_{1-4}=0.05$). Se concluyó que en vacas metríticas caracterizadas por cetonuria y que no recibieron tratamiento anticetogénico, el curso de la involución uterina fue más lento, dando como resultado un período de recuperación más prolongado. Estas vacas requirieron más tratamientos antimicrobianos y su performance reproductiva fue peor que para las vacas con metritis sin cetonuria o que aquellas que tenían cetonuria pero que recibieron un tratamiento anticetogénico apropiado. Sin embargo, no se observó diferencia entre estos últimos grupos.

El tratamiento de las formas clínica y subclínica de endometritis debe dirigirse final-mente a mejorar la fertilidad mediante la eliminación de patógenos del útero. En la terapia de la piómetra también se debe iniciar la luteólisis. Por eso, durante muchos años en la mayoría de los sistemas productivos, han sido ampliamente utilizadas preparaciones que contienen PGF_{2a} o sus análogos sintéticos para el tratamiento de endometritis y piómetra (Etherington y col., 1994; Nakao, y col., 1996; Feldmann y col., 2005). Como antimicrobianos, las cefalosporinas de primera generación (cefapirina), pueden ser la droga de elección. La eficacia del tratamiento intrauterino con cefapirina ha sido definida en muchos grandes trabajos de campo, los cuales demostraron una mejora de las performances reproductivas (McDougall, 2001; Le-Blanc y col., 2002b; Kasimanickam y col., 2005). El tratamiento antibiótico puede conducir a una cura clínica más rápida del animal, lo cual ayuda a retornar a la normalidad a las funciones reproductivas. Sin embargo, también debe subrayarse la importancia de la prevención.

Conclusiones

Las infecciones uterinas y las enfermedades consecuentes tienen efectos perjudiciales sobre la performance reproductiva de las vacas de tambo. Por lo tanto, un mejor entendimiento de la etiología y patogénesis, y una mejora en el diagnóstico y la terapia es de gran importancia práctica y económica. En nuestra revisión, enfatizamos y apoyamos el uso de una terminología y parámetros de diagnóstico uniformes para las diferentes condiciones. Recomendamos un sistema programado de monitoreo para tambos a gran escala para lograr un diagnóstico a tiempo y por lo tanto, una terapia más eficiente.

A pesar de los impresionantes resultados obtenidos durante las dos décadas pasadas, existe un espacio sustancial para una investigación más amplia con referencia a temas como el rol de diferentes mediadores inflamatorios en la patogénesis y la descripción precisa de los mecanismos de respuesta inmune del huésped. Existen incluso más aspectos prácticos para ser mejorados, como: menos herramientas diagnósticas subjetivas, y sistemas de medida uniformes y objetivos para evaluar la eficacia bacteriológica y clínica real de los diferentes protocolos terapéuticos

Bibliografía

Bajcsy, A.C., Szenci, O., Doornenbalb, A., van der Weijden, G.C., Csorba, C, Kocsis, L. Szucs, I., Ostgard, S., Taverne, M.A.M. (2005): Characteristics of bovine early puerperal uterine contractility recorded under farm conditions. *Theriogenology*, 64. 99-111.

Battaglia, D.F., Krasa, H.B., Padmanabhan, V., Viguie, C., Karsch, F.J. (2000): Endocrine alterations that



underline endotoxin-induced disruption of the follicular phase in ewes. *Biol. Reprod.* 62. 45-53.

BonDurant RH. (1999): Inflammation in the bovine reproductive tract. *J. Dairy Sci.*, 82 (Suppl. 2): 101-110.

Bruun, J., Ersboll, A.K., Alban, L. (2002): Risk factors for metritis in Danish dairy cows. *Prev. Vet. Med.*, 54. 179-190.

Butler, W.R. (2003): Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Prod. Sci.*, 83. 211-218.

Cai, T.Q., Weston, P., Lund, L.A., Brodie, B., McKenna, D., Wagner, W.C. (1994): Association between neutrophil functions and periparturient disorders in cows. *Am. J. Vet. Res.*, 55. 934-943.

Chenault J.R., McAllister, J.F., Chester, S.T., Dame, K.J., Kausche, F.M., Robb, E.J. (2004): Efficacy of ceftiofur hydrochlorid sterile suspension administered parenterally for the treatment of acute post-partum metritis in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 224. 1634-1639.

Cohen, R.O., Bernstein, M., Ziv, G. (1995): Isolation and antimicrobial susceptibility of *A. pyogenes* recovered from the uterus of dairy cows with retained fetal membranes and post parturient endo-metritis. *Theriogenology* 43. 1389-1397.

Cohen, R.O., Colodner, R., Ziv, G., Keness, J. (1996): Isolation and antimicrobial susceptibility of obligate anaerobic bacteria recovered from the uterus of dairy cows with retained fetal membranes and postparturient endometritis. *J. Vet. Med. B* 43, 193-199.

Cohen, R.O., Ziv, G., Soback, S., Glickman, A., Saran, A. (1993): The pharmacology of oxytetracycline in the uterus of postparturient dairy cows with retained fetal membranes. *Isr. J. Vet. Med.* 48, 69-79.

Curtis, C.R., Erb, H.N., Scarlet, J. (1985): Path analysis for seven post-partum disorders of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 67. 1305-1314.

Cullor, J.S. (1992): Shock attributable to bacteraemia and endotoxaemia in cattle: clinical and experimental findings. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 200. 1894-1902.

Daniel, J.A., Whitlock, B.K., Wagner, C.G., Sartin, J.L. (2002): Regulation of the growth hormone and luteinizing hormone response to endotoxin in sheep. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 23. 361-370.

Del Vecchio, R.P., Matsas, D.J., Fortin, S., Sponenberg, D.P., Lewis, G.S. (1994): Spontaneous uterine infections are associated with elevated prostaglandin F2a metabolite concentrations in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 41, 413-421.

Del Vecchio, R.P., Matsas, D.J., Inzana, T.J., Sponenberg, D.P., Lewis, G.S. (1992): Effect of intra-uterine bacterial infusion and subsequent endometritis on prostaglandin F2a metabolite concentrations in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.*, 70. 3158-3162.

Diskin, M.G., Mackey, D.R., Roche, J.F., Sreenan, J.M. (2003): Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 78. 345-370.

Dohmen, M.J.W., Joop, K., Sturk, A., Bols, P.E.J.,

Lohuis, J.A.C.M. (2000): Relationship between intra-uterine bacterial contamination, endotoxin levels and the development of endometritis in postpartum cows with distocia or retained placenta. *Theriogenology*, 54. 1019-1032

Dohmen, M.J.W., Lohuis, J.A.C.M., Huszenicza, Gy., Nagy, P., Gacs, M. (1995): The relationship between bacteriological and clinical findings in cows with subacute/chronic endometritis. *Theriogenology*, 43. 1379-1388.

Drillich, M., Beetz, O., Pfützner, A., Sabin, M., Sabin, H.J., Kutzner, P., Nattermann, H., Heuweiser, W. (2001): Evaluation of systemic antibiotic treatment of toxic puerperal metritis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 84. 2010-2017.

Drillich, M., Pfützner, A., Sabin, H.J., Sabin, M., Heuweiser, W. (2003): Comparison of two protocols for the treatment of retained fetal membranes in dairy cattle. *Theriogenology*, 59. 951-960.

Elsasser, T.H., Caperna, T.J., Rumsey, T.S. (1995): Endotoxin administration decreases plasma insulin-like growth factor (IGF)-1 and IGF-binding protein-2 in Angus x Hereford steers independent of changes in nutritional intake. *J. Endocrinol.* 144. 109-117.

Elsasser, T.H., Richards, M., Collier, R., Hartnell, G.F. (1996): Physiological responses to repeat endotoxin challenge are selectively affected by recombinant bovine somatotropin administration to calves. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 13. 91-103.

Etherington, W.G., Kelton, D., Adams, J. (1994): Reproductive performance of dairy cows following treatment with fenprostalene, dinoprostum or cloprostenol between 24 and 31 days postpartum: a field trial. *Theriogenology*, 42. 739-752.

Feldmann, M., Emming, S., Hoedemaker, M. (2005): Therapie der chronischen Endometritis des Rindes und Faktoren des Behandlungserfolgs [Treatment of chronic bovine endometritis and factors for treatment success]. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.*, 112. 10-16.

Fredriksson, G., Kindahl, H., Sandstedt, K., Edqvist, L.E. (1985): Intra-uterine bacterial findings and release of PGF2a in the postpartum dairy cow. *Zbl. Vet. Med. A*, 32. 368-380.

Gilbert R.O., Shin, S.T., Guard, C.L., Erb, H.N., Frajblat, M. (2005): Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 64. 1879-1888.

Gilbert, R.O., Bosu, W.T.K., Peter, A.T. (1990): The effect of *Escherichia coli* endotoxin on luteal function on Holstein heifers. *Theriogenology* 33, 645-651.

Gong, J.G. (2002): Influence of metabolic hormones and nutrition on ovarian follicle development in cattle: practical implications. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 23. 229-241.

Herath, S., Fischer, D.P., Werling, D., Williams, E.J., Lilly, S.T., Dobson, H., Bryant, C.E., Sheldon M. I. (2006): Expression and function of Toll-like Receptor 4 in the endometrial cells of the uterus. *Endocrinology*, 147. 562-570.

Hirsbrunner, G., Knutti, B., Küpfer, U., Burkhardt, H., Steiner, A. (2003): Effect of prostaglandin E2, DL-



cloprostenol, and prostaglandin E2 in combination with D-cloprostenol on uterine motility during diestrus in experimental cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 79, 17-32.

Hirvonen, J., Huszenicza, Gy., Kulcsár, M., Pyörala, S. (1999): Acute-phase response in dairy cows with postpartum metritis. *Theriogenology*, 51, 1071-1083.

Hussain, A.M. (1989): Bovine uterine defense mechanisms: a review. *J. Vet. Med. B*, 36, 641-651.

Hussain, A.M., Daniel, R.C.W. (1991a): Bovine normal and abnormal reproductive and endocrine functions in the postpartum period: a review. *Reprod. Dom. Anim.* 26, 101-111.

Hussain, A.M., Daniel, R.C.W. (1991b): Bovine endometritis: current and future alternative therapy. *J. Vet. Med. A*, 38, 641-651.

Huszenicza Gy., Jánosi Sz., Gáspárdy A., Kulcsár M. (2004): Endocrine aspects in pathogenesis of mastitis in postpartum dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 82-83, 389-400.

Huszenicza, Gy., Fodor, M., Gacs, M., Kulcsar, M., Dohmen, M. J. V., Vamos, M., Porkolab, L., Keggl, T., Bartyik, J., Lohuis, J. A. C. M., Janosi, Sz., Szita, G. (1999): Uterine bacteriology, resumption of cyclic ovarian activity and fertility in postpartum cows kept in large-scale dairy herds. *Reprod. Dom. Anim.*, 34, 237-245.

Huszenicza, Gy., Jánosi, Sz., Kulcsár, M., Kóródi, P., Reiczigel, J., Kátai, L., Peters, A.R., De Rensis, F. (2005): Effects of clinical mastitis on ovarian function in postpartum dairy cows. *Reprod. Dom. Anim.*, 40, 199-204.

Huszenicza, Gy., Kulcsar, M., Kóródi, P., Bartyik, J., Rudas, P., Ribiczey-Szabó, P., Nikolic, J.A., Samanc, H., Ivanov, I., Gvozdic, D. (2006): Adrenocortical and thyroid function, hormone and me-tabolite profiles and the onset of ovarian cyclicity in dairy cows suffering from various forms of keto-sis. *Acta Vet. (Beograd)*, 56, 25-36.

Huszenicza, Gy., Molnár, L., Solti, L., Haraszi, J. (1987): Postpartal ovarian function in Holstein and crossbred cows on large scale farms in Hungary. *J. Vet. Med. A*, 34, 249-263.

Jánosi, Sz., Kulcsár, M., Kóródi, P., Kátai, L., Reiczigel, J., Dieleman, S.J., Nikolic, J.A., Sályi, G., Ribiczei-Szabó, P., Huszenicza, Gy. (2003): The energy imbalance related predisposition for mastitis in group-fed high-producing postpartum dairy cows. *Acta Vet. Hung.* 51, 409-424.

Kamgarpour, R., Daniel, R.C.W., Fenwick, D.C., McGuigan, K., Murphy, G. (1999): Post partum sub-clinical hypocalcaemia and effects on ovarian function and uterine involution in a dairy herd. *Vet. J.*, 158, 59-67.

Kasimanickam, R., Duffield, T.F., Foster, R.A., Gartley, C.J., Leslie, K.E., Walton, J.S., Johnson, W.H. (2004): Endometrial cytology and ultrasonography for detection of subclinical endometritis in post-partum dairy cows. *Theriogenology*, 62, 9-23.

Kasimanickam, R., Duffield, T.F., Foster, R.A., Gartley, C.J., Leslie, K.E., Walton, J.S., Johnson, W.H. (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.

Kelton, D.F., Lissemore, K.D., Martin, R.E. (1998): Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 81, 2502-2509

Kennedy, P.C., Miller, R.B. (1993): The female genital system. In: Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C., Palmer, N. (eds): *Pathology of Domestic Animals*, 4th edition. San Diego, Academic Press, pp. 378-387.

Kimura, K., Goff, J.P., Kehrl, E., Jr., Reinhardt, T.A. (2002): Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85, 544-550.

Kindahl, H., Odensvik, K., Aiumlamai, S., Fredriksson, G. (1992): Utero-ovarian relationships during the bovine postpartum period. *Anim. Reprod. Sci.* 28, 363-369.

Kindahl, H., Odensvik, K., Bekana, M., Kask, K. (1996): Prostaglandin release as a radiator between infections and impaired reproductive performance. *Reprod. Dom. Anim.* 31, 441-444.

Kulcsár, M., Jánosi, Sz., Lehtolainen, T., Kátai, L., Delavaud, C., Balogh, O., Chilliard, Y., Pyöralä, S., Rudas, P., Huszenicza, Gy. (2005a): Feeding-unrelated factors influencing the plasma leptin level in ruminants. *Domest. Anim. Endocrin.*, 29, 214-226.

Kulcsár, M., Kátai, L., Balogh, O., Pécsi, A., Dalevaud, C., Földi, J., Hirvonen, J., Faigl, V., Chilliard, Y., Huszenicza, Gy. (2005b): Metabolic and endocrine changes, inflammatory proteins and ovarian activity in dairy cows with acute puerperal metritis. *Abstract. Reprod. Dom. Anim.*, 40, 407.

Kushibiki, S., Hodate, K., Ueda, Y., Shingu, H., Mori, Y., Itoh, T., Yokomizo, Y. (2000): Administration of recombinant bovine tumor necrosis factor- α affects intermediary metabolism and insulin and growth hormone secretion in dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 78, 2164-2171.

LeBlanc, S.J., Duffield, T.F., Leslie, K.E., Bateman, K.G., Keefe G.P., Walton, J.S., Johnson, W.H. (2002a): Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 85, 2223-2236.

LeBlanc, S.J., Duffield, T.F., Leslie, K.E., Bateman, K.G., Keefe, G.P., Walton, J.S., Johnson, W.H. (2002b): The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 85, 2237-2249.

Lewis, G.S. (1997): Uterine health and disorders. *J. Dairy Sci.*, 80, 984-994.

Lewis, G.S. (2003): Role of ovarian progesterone and potential role of prostaglandin F2 α and prostaglandin E2 in modulating the uterine response to infectious bacteria in postpartum ewes. *J. Anim. Sci.* 81, 285-293.

Lewis, G.S. (2004): Steroidal regulation of uterine immune defences. *Anim. Repr. Sci.*, 82-83, 281-294.

Lopez-Diaz, M.C., Bosu, W.T.K., (1992): A review and update of cystic ovarian degeneration in ruminants. *Theriogenology* 37, 1163-1183.

Madej, A., Kindahl, H., Woyno, W., Edqvist, L.E.,



- Stupnicki, R. (1984): Blood levels of 15-keto-13,14-dihydro-prostaglandin F2a during the postpartum period in primiparous cows. *Theriogenology*, 21. 279-287.
- Manns, J.G., Nkuuhe, J.R., Bristol, F. (1985): Prostaglandin concentrations in uterine fluid of cows with pyometra. *Can. J. Comp. Med.*, 49. 436-441.
- Markusfeld, O. (1987): Periparturient traits in seven high performance dairy herds. Incidence rates, association with parity and interrelationships among traits. *J. Dairy Sci.*, 70. 158-164.
- Masera, J., Gustafsson, B.K., Afiefy, M.M., Stowe, C.M., Bergt, G.P. (1980): Disposition of oxytetracycline in the bovine genital tract : systemic versus intrauterine administration. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 176. 1099-1102.
- Mateus, L., Lope de Costa, L., Robalo Silvia, J. (2002): Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. *Reprod. Dom. Anim.*, 37. 31-35.
- Mateus, L., Lope de Costa, L., Diniz, P., Zieciak, A.J. (2003): Relationship between endotoxin and prostaglandin (PGE2 and PGFM) concentrations and ovarian function in dairy cows with puerperal endometritis. *Anim. Repr. Sci.*, 76. 143-154.
- McDougall, S. (2001): Effect of intrauterine antibiotic treatment on reproductive performance of dairy cows following periparturient disease. *New Zealand Vet. J.*, 49. 150-158.
- McDougall, S., Macaulay, R., Compton, C. (2006): Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Rep. Sci.*, in press
- Melendez, P., McHale, J., Bartolome, J., Archbald, L.F., Donovan, G.A. (2004): Uterine involution and fertility of Holstein cows subsequent to early postpartum PGF2a treatment for acute puerperal metritis. *J. Dairy Sci.*, 87. 3238-3246.
- Messier S., Higgins, R., Couture, Y., Morin, M. (1984): Comparison of swabbing and biopsy for studying the flora of the bovine uterus. *Can. Vet. J.*, 25. 283-288.
- Nakao, T., Gamal, A., Osawa, T., Nakada, K., Moriyoshi, M., Kawata K. (1996): Postpartum plasma PGF metabolite profile in cows with dystocia and/or retained placenta, and effect of Fenprostalene on uterine involution and reproductive performance. *J. Vet. Med. Sci.*, 59. 791-794.
- Nikolic, J.A., Kulcsár, M., Kátai, L., Nedic, O., Jánosi, Sz., Huszenicza, Gy. (2003): Periparturient endocrine and metabolic changes in healthy cows and in those affected by various forms of mastitis. *J. Vet. Med. A* 50. 22-29.
- Noakes, D.E., Wallace, L., Smith, G.R. (1991): Bacterial flora of the uterus of cows after calving on two genetically contrasting farms. *Vet. Rec.*, 128. 440-442.
- Okuda, K., Miyamoto, Y., Skarzynski, D.J., (2002): Regulation of endometrial prostaglandin F2a synthesis during luteolysis and early pregnancy in cattle. *Domest. Anim. Endocr.* 23. 255-264.
- Olson, J.D., Ball, L., Mortimer, R.G., Farin, P.W., Adney, W.S., Huffman E.M. (1984): Aspects of bacteriology and endocrinology of cows with pyometra and retained fetal membranes. *Am. J. Vet. Res.* 45. 2251-2255.
- Paisley, L.G., Mickelsen, W.D., Anderson, P.B. (1986): Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infections of cows: a review. *Theriogenology* 25. 353-381.
- Pecsi A., Földi J., Nagy P., Kégl T., Pécsi T., Kulcsár M., Huszenicza Gy. (2007): Effect of ketonuria on the course of puerperal metritis in dairy cows (in Hungarian) *Magy. Áo. Lapja*, accepted for publication
- Peter, A.T. (2004): An update on cystic ovarian degeneration in cattle. *Reprod. Dom. Anim.*, 39. 1-7.
- Peter, A.T., Bosu, W.T.K. (1987): Effects of intrauterine infection on the function of the corpora lutea formed after first postpartum ovulation in dairy cows. *Theriogenology* 27. 593-600
- Peter, A.T., Bosu, W.T.K., de Decker, R.J. (1989): Suppression of preovulatory LH surges in heifers after intrauterine infusion of *E. coli* endotoxin. *Am. J. Vet. Res.* 50. 368-373.
- Peter, A.T., Bosu, W.T.K., Gilbert R.O. (1990): Absorption of *E. coli* endotoxin (lipopolysaccharide) from the uteri of postpartum dairy cows. *Theriogenology* 33, 1011-1020.
- Peter, A.T., Bosu, W.T.K., Luker, C.V. (1987): Plasma endotoxin and concentrations of stable metabolites of prostacyclin, thromboxane A2 and prostaglandin E2 in postpartum dairy cows. *Prostaglandins* 34, 15-28.
- Radcliffe, W., Seals, R.C., Lewis, G.S. (2005): Uterine response to multiple inoculations with *Arcanobacterium pyogenes* and *Escherichia coli* in nulliparous ewes. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 54. 249-261.
- Reist, M., Erdin, D.K., von Euw, D., Tschümperlin, K.M., Keuener, H., Hammon, H.M., Künzi, N.K., Blum, J.W. (2003): Use of threshold serum and milk ketone concentrations to identify risk for ketosis and endometritis in high-yielding dairy cows. *Am. J. Vet. Res.*, 64. 188-194.
- Rettori, V., Dees, W.L., Hiney, J.K., Lyson, K., McCann, J. (1994): An interleukin-1-alpha-like neuronal system in the preoptic-hypothalamic region and its induction by bacterial lipopolysaccharide in concentrations which alter pituitary hormone release. *Neuroimmunomodulation*, 1. 251-258.
- Sartorelli, P., Paltrinieri, S., Agnes, F. (1999): Non-specific immunity and ketone bodies I. In vitro studies on chemotaxis and phagocytosis of ovine neutrophils. *J. Vet. Med. A* 46, 613-619.
- Sartorelli, P., Paltrinieri, S., Comazi, S. (2000): Non-specific immunity and ketone bodies II. In vitro studies on adherence and superoxide anion production in ovine neutrophils. *J. Vet. Med. A* 47, 1-8.
- Seals, R.C., Matamoros, I., Lewis, G.S. (2002): Relationship between postpartum changes in 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F2a concentrations in Holstein cows and their susceptibility to endometritis. *J. Anim. Sci.*, 80. 1068-1073.
- Sheldon, I.M. (2004): The postpartum uterus. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 20. 569-591.



Sheldon, I.M., Bushnell, M., Montgomery, J., Rycroft, A.N. (2004a): Minimum inhibitory concentrations of some antimicrobial drugs against bacteria causing uterine infection in cattle. *Vet. Rec.*, 155. 383-387.

Sheldon, I.M., Dobson, H. (2004): Postpartum uterine health in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 82-83. 295-306.

Sheldon, I.M., Lewis, G., LeBlanc, S., Gilbert, R. (2006): Defining postpartum uterine disease in dairy cattle. *Theriogenology*, 65. 1516-1530.

Sheldon, I.M., Noakes, D.E., Dobson, H. (2000): The influence of ovarian activity and uterine involution determined by ultrasonography on subsequent reproductive performance. *Theriogenology*, 54. 409-419.

Sheldon, I.M., Noakes, D.E., Rycroft, A.N., Pfeiffer, D.U., Dobson, H. (2002): Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction*, 123. 837-845.

Sheldon, I.M., Rycroft, A.N., Zhou, C. (2004b): Association between postpartum pyrexia and uterine bacterial infection in dairy cattle. *Vet. Rec.*, 154. 289-293.

Slama, H., Vaillancourt, D., Goff, A.K. (1991): Pathophysiology of puerperal period: relationship between prostaglandin E₂ (PGE₂) and uterine involution in the cow. *Theriogenology*, 36. 1071-1090.

Slama, H., Vaillancourt, D., Goff, A.K. (1994): Effect of bacterial cell wall and lipopolysaccharide on arachidonic acid metabolism by caruncular and allantochorionic tissues from cows that calved normally and those that retained fetal membranes. *Theriogenology*, 41. 923-942.

Soliman, M., Ishioka, K., Kimura, K., Kushibiki, S., Saito, M. (2002): Plasma leptin responses to

lipopolysaccharide and tumor necrosis factor- α in cows. *Jpn. J. Vet. Res.* 50. 107-114.

Suriyasathaporn, W., Daemen, A.J.J.M., Noordhuizen-Stassen, E.N., Dieleman, S.J., Nielen, M., Schukken, Y.H. (1999): Beta-hydroxybutyrate levels in peripheral blood, and ketone bodies supplemented in culture media affect the in vitro chemotaxis of bovine leukocytes. *Vet Immunol. Immunopathol.* 68, 177-186.

Suriyasathaporn, W., Heuer, C., Noordhuizen-Stassen, E., Schukken, Y.H. (2000): Hyperketonaemia and the impairment of udder defense: a review. *Vet. Res.* 31, 397-412.

Suzuki, C., Yoshioka, K., Iwamura, S., Hirose, H. (2001): Endotoxin induces delayed ovulation following endocrine aberration during the proestrus phase in Holstein heifers. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 20. 267-278.

Vangroenweghe, F., Lamote, I., Burvenich C. (2005): Physiology of the periparturient period and its relation to severity of clinical mastitis. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 29. 283-293.

Waldron, M.R., Nishida, T., Nonnecke, B.J., Overton, T.R. (2003): Effect of lipopolysaccharide on indices of peripheral and hepatic metabolism in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 86, 3447-3459.

Williams, E.J., Fischer, D.P., Pfeiffer, D.U., England, G.C., Noakes, D.E., Dobson, H. Sheldon, I.M. (2005): Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, 63. 102-117.

Zerbe, H., Schneider, N., Leibold, W., Wensing, T., Kruij, T.A.M., Schuberth, H.J. (2000): Altered functional and immunophenotypical properties of neutrophil granulocytes in postpartum cows associated with fatty liver. *Theriogenology* 54. 771-786.