

Prevalencia de endometritis subclínica postparto en tres hatos lecheros de Puerto Rico¹

Amaris Guzmán-Rivera², Esbal Jiménez-Cabán^{3},
Héctor L. Sánchez-Rodríguez³, Jaime E. Curbelo-Rodríguez³ y
Guillermo Ortiz-Colón³*

J. Agric. Univ. P.R. 99(2):125-134 2015

RESUMEN

La endometritis es una de las causas asociadas con baja eficiencia reproductiva en el ganado lechero. Se determinó la prevalencia de endometritis subclínica (ES) en tres hatos lecheros de Puerto Rico en dos épocas del año (calurosa y fresca). La ES, la cual se definió como la presencia de $\geq 5\%$ de células polimorfo nucleares en muestras de tejido endometrial, se diagnosticó por citología endometrial en vacas a los 45 ± 7 días postparto. La prevalencia general de ES ($n=101$ vacas) fue 8.9% y no se encontró efectos significativos sobre la misma por raza ($P=0.73$), época ($P=0.34$), número de lactancias ($P=0.60$), ni localidad ($P=0.56$). En vacas Holstein, Pardo Suiza, Jersey y cruces la prevalencia de ES fue 10.4, 18.7, 0 y 6.3%, respectivamente. Vacas primíparas mostraron un valor de 7.1% y múltiparas de 10.2%. Durante la época de calor se observó una prevalencia de ES de 6.1% versus 11.5% para la época fresca. En las vaquerías ubicadas en Moca, Lajas y Camuy se detectó esta condición en 5.5%, 6.6% y 12.0% de las vacas, respectivamente. En comparación a estudios realizados en otros países, los presentes resultados indican que la ES está relativamente bien controlada en los hatos lecheros locales estudiados.

Palabras clave: endometritis subclínica, ganado lechero, citología endometrial

ABSTRACT

Prevalence of postpartum subclinical endometritis in three dairy farms of Puerto Rico

Endometritis is one of the causes associated with low reproductive efficiency in dairy cattle. This study evaluated the prevalence of subclinical endometritis (SE) in three dairy herds in Puerto Rico during both hot and cool seasons. In cows at 45 ± 7 days post-partum, SE, defined as the presence of $\geq 5\%$ of polymorphonuclear cells in samples of endometrial tissue, was determined by cytology. The overall prevalence of SE ($n=101$ cows) was 8.9% and no significant effects were found of breed ($P=0.73$), season ($P=0.34$), number

¹Manuscrito sometido a la junta editorial el 18 de diciembre de 2014.

²Exestudiante Graduada, Departamento de Ciencia Animal, Colegio de Ciencias Agrícolas, Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez, Mayagüez, Puerto Rico.

³Catedrático Asociado, Departamento de Ciencia Animal. *Autor para correspondencia esbal.jimenez1@upr.edu

of lactations ($P=0.60$), nor location ($P=0.56$). For Holsteins, Brown Swiss, Jersey and crossbred cows the prevalence of SE was 10.4, 18.7, 0, and 6.3%, respectively. Primiparous cows showed a value of 7.1% SE and multiparous, 10.2%. During the hot season the prevalence of SE was 6.1% versus 11.5% for the cool season. At the dairies located in Moca, Lajas and Camuy the condition was detected in 5.5%, 6.6% and 12.0% of the cows, respectively. Compared to studies conducted in other countries, the present results indicate that SE is relatively well under control in the local dairy herds studied.

Key words: subclinical endometritis, dairy cattle, cytology

INTRODUCCIÓN

La endometritis subclínica (ES) ha sido definida como la inflamación limitada al endometrio presente a partir de los 21 días postparto (dpp) sin ningún signo clínico (Barlund et al., 2008; Dubuc et al., 2010). Histológicamente, esta condición se caracteriza por una rotura de la superficie del epitelio, provocando la entrada de células inflamatorias, acumulación de linfocitos y células del plasma en las capas superficiales (Meira et al., 2012; LeBlanc, 2002). Por no demostrar signos clínicos, la ES se detecta por la presencia y el porcentaje de células polimorfo nucleadas (PMN), a través de la citología endometrial (CE) (Sheldon et al., 2002; Santos et al., 2009; Galvão et al., 2009a; Dubuc et al., 2010; Meira et al., 2012).

La prevalencia de ES varía ampliamente entre el 37 y 74% en las vacas lecheras de distintos hatos (Sheldon et al., 2009). Además, vacas altas productoras en la séptima semana postparto parecen estar en mayor riesgo porque en ellas se ha encontrado una prevalencia de ES > 50% (Santos et al., 2009).

La ES desmejora la eficiencia reproductiva en las vacas lecheras. Las tasas de concepción de vacas que muestran esta condición es aproximadamente un 20% menor que las de vacas sanas (Sheldon et al., 2009). Como resultado de la ES, se ha observado incremento en los intervalos de parto al primer servicio (Kasimanickam et al., 2004; Melcher et al., 2014), de parto a concepción, y de un parto al próximo (Plöntzke et al., 2010); mayor número de servicios necesarios por preñez (Kasimanickam et al., 2004; Plöntzke et al., 2010; Madoz et al., 2013); y un incremento en el número de días abiertos (Melcher et al., 2014). Estos criterios de eficiencia desmejorada reflejan una disminución de la tasa de preñez cuando se realiza la inseminación artificial (IA), retraso en el inicio de la actividad ovárica cíclica postparto y por consiguiente extensión en la fase lútea (Melcher et al., 2014). Estos eventos causan pérdidas económicas al ganadero como resultado de mayores gastos para semen usado en la IA, para servicios médicos veterinarios y medicamentos (Schaab et al., 2010), para mantenimiento y alimentación de vacas durante periodos prolongados de baja productividad, y para reemplazar un mayor número de vacas descarte (Melcher et al., 2014).

Según el informe anual (2010-2011) de la Oficina de la Reglamentación de la Industria Lechera en Puerto Rico, la mayoría de las vaquerías presentan una deficiencia en el manejo reproductivo del hato; en parte debido posiblemente a infecciones uterinas sin detectar que estorban el restablecimiento de la preñez en vacas lecheras. Al presente, no se ha estudiado la prevalencia de ES en los hatos lecheros del país. La eficiencia reproductiva en los hatos lecheros, por ser clave para maximizar las ganancias económicas de la empresa, amerita investigación exhaustiva. El objetivo de la presente investigación es determinar la prevalencia de ES en tres hatos lecheros de Puerto Rico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales y Diseño Experimental

El estudio se llevó a cabo en dos épocas del año (caliente vs. fresca). La época caliente (E1) fue entre los meses de julio a septiembre de 2013 con temperatura promedio de 31.8° C (<http://www.srh.noaa.gov/sju/>) y la época fresca (E2) cubrió los meses de enero a marzo de 2014 con temperatura promedio de 18.1° C. Durante la época cálida se muestrearon 55 vacas de las razas: Holstein (n=32), Jersey (n=9), Pardo Suiza (n=11) y cruces (n=3), mientras en E2 fueron 53, por raza en el mismo orden: Holstein (n=22), Jersey (n=13), Pardo Suiza (n=5) y cruces (n=13); se seleccionaron vacas uníparas (n=43) y múltiparas (n=65). El estudio se llevó a cabo en los municipios de Lajas, Moca y Camuy, ubicado el primero en el área suroeste y los otros dos en el noroeste de Puerto Rico. Las vacas se examinaron entre los 45±7 dpp utilizando la CE. A través de los registros del programa “Dairy Herd Improvement” (DHI), se excluyeron animales que presentaron distocia, aborto, retención de placenta, descargas uterinas y aquellos expuestos a tratamientos intrauterinos en o posterior a su último parto.

Colección de muestras y determinación de endometritis subclínica

La ES fue determinada por la técnica de CE descrita por Bacha y Regassa (2010). Las células del endometrio se colectaron por medio del “cytobrush” (CB) (Endocervical Brush), instrumento modificado para el uso en el ganado vacuno. Los CB se cortaron aproximadamente a 2 cm de largo y se enroscaron en la varilla de inseminación. A esta se le colocó el protector plástico (Continental Plastic, Proudly American)⁴ para

⁴Los nombres de compañías y de marcas registradas solo se utilizan para proveer información específica y su uso no constituye garantía por parte de la Estación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico, ni endoso sobre otros productos o equipo que no se mencionan.

mantener la varilla estéril una vez introducida en la vagina. La varilla de inseminar fue desinfectada entre cada muestra con alcohol etílico al 70%. Para minimizar la contaminación de las muestras, se lavó la vulva y el área del peritoneo con agua y se secó con papel toalla. Similar al procedimiento de IA, el instrumento se introdujo hasta pasar la cérvix y se usó el CB dentro del útero, frotándolo contra la pared uterina. El CB se retractó dentro de la varilla de inseminar previo a remover esta del útero. Por último, se expuso la muestra citológica en laminillas porta objetos. Los CB se desecharon luego de un solo uso.

Citología

El procedimiento de la CE se inició frotando el CB en la superficie de laminillas porta objetos y fijando la muestra con un cito fijador (CytoPrep, Fixative, Fisher Scientific Co., Pittsburgh, PA 15106), que ayuda a reducir la degradación celular. Luego se siguieron las instrucciones del protocolo del "Dip Quick Stain" (kit J0322, Jorgensen Laboratories, Loveland, CO). Posteriormente se examinó la muestra bajo el microscopio a magnificación 400X. El porcentaje de células epiteliales y polimorfo nucleares (PMN) se determinó por el conteo de entre 80 y 100 células representativas bajo el foco visual. Muestras con células PMN \geq 5% a los días 45 ± 7 dpp, fueron diagnosticadas positivas para ES.

Análisis Estadístico

Para calcular la prevalencia de ES se utilizó el PROC GLIMMIX de SAS (SAS software, Version 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, EE.UU.) en una distribución binomial. El modelo fue:

$$E(Y) = \frac{e^{(\beta_0 + \alpha_i + \alpha_j + \alpha_k + \alpha_l)}}{1 + e^{(\beta_0 + \alpha_i + \alpha_j + \alpha_k + \alpha_l)}}$$

donde:

E (Y)= Valor estimado de ES en la población

β_0 = Tasa de ES observada en el muestreo

X= Variables independientes

α_i = Raza

$H_0 = p \leq 0.05$

α_j =Época

$H_a = p \geq 0.05$

α_k = Número de lactancias

α_l = Localidad

RESULTADOS

De las muestras obtenidas de 108 vacas, cuatro fueron excluidas del análisis estadístico debido a contaminación ocurrida en el proceso de muestreo y tres adicionales fueron excluidas debido a la pobre visibili-

dad de las células en las laminillas preparadas para la CE. Los restantes 101 animales mostraron una prevalencia de ES de 8.9%. Este valor no difirió significativamente ($P < 0.05$) de cero. No se observaron diferencias ($P = 0.73$) en la prevalencia entre las cuatro razas; siendo los valores de Holstein, Pardo Suiza, Jersey y cruces de 10.4 ± 4.4 , 18.7 ± 9.7 , 0 y $6.3 \pm 6\%$, respectivamente (Cuadro 1). El número de lactancias tampoco influyó ($P = 0.60$) en el desarrollo de ES. La prevalencia observada en vacas primíparas y multíparas fue de 7.1 ± 3.4 y $10.2 \pm 3.4\%$, respectivamente, sin diferencia significativa (Cuadro 1). La época del año tampoco afectó ($P = 0.34$) la prevalencia de ES; durante las épocas caliente y fresca se observaron valores de $6.1 \pm 3.4\%$, y $11.5 \pm 4.4\%$ (Cuadro 1). Finalmente, en cuanto a la localidad, su efecto ($P = 0.56$) tampoco alcanzó significación. En el hato lechero de Moca, de Lajas y de Camuy la prevalencia fue de $5.5 \pm 3.8\%$, $6.6 \pm 6.4\%$ y $12 \pm 4.6\%$, respectivamente (Cuadro 1).

DISCUSIÓN

Durante el periodo postparto el ambiente uterino de la vaca lechera se encuentra susceptible a la entrada de patógenos y por consiguiente a infecciones. Las células PMN son la primera línea de defensa al ocurrir una infección del útero (Hammon et al., 2006). Estudios previos indican que el número de dichas células en vacas lecheras comienza

CUADRO 1.—Prevalencia (media \pm error estándar) de endometritis subclínica en vacas lecheras lactantes por raza, número de lactancia, época y localidad.

	Número de vacas positivas / número de vacas totales	Prevalencia de endometritis subclínica (%)	Error Estándar	Pr > F
Raza				
Pardo Suiza	3/101	18.7	9.7	0.73
Holstein	5/101	10.4	4.4	
Jersey	0/101	0	0.0150	
Cruce	1/101	6.3	6.0	
Lactancia				
Primíparas	3/101	7.1	3.4	0.60
Multíparas	6/101	10.2	3.4	
Época				
Calor	3/101	6.1	3.4	0.34
Fresca	6/101	11.5	4.4	
Localidad				
Moca	2/101	5.5	3.8	0.56
Lajas	1/101	6.6	6.4	
Camuy	6/101	12.0	4.6	

a declinar entre las tres y cinco semanas antes del parto (Hammon et al., 2006). Por ello, la vaca recién parida se vuelve más susceptible a adquirir patógenos. Para detectar ES en las vacas, el conteo de células PMN en la citología uterina es una herramienta importante (Cocchia et al., 2012).

En el presente estudio se determinó la prevalencia de ES en tres hatos lecheros locales. Hasta donde conocemos, esta es la primera investigación que se realiza en Puerto Rico sobre este tema. La etapa de lactancia de las vacas estudiadas fue de 45 ± 7 dpp y se utilizó un umbral de $\geq 5\%$ en el conteo de neutrófilos para la identificación positiva de ES. En otras investigaciones, Galvão et al. (2009a) adoptaron un umbral de $\geq 4\%$ de neutrófilos al día 49 postparto como indicativo de ES; Barlund et al. (2008) utilizaron un umbral de $> 8\%$ entre los 28 a 41 dpp, y Gilbert et al. (2005) $> 5\%$ de neutrófilos para los 40 a 60 dpp. Utilizando esta última definición de ES, en la presente investigación se encontró una prevalencia total de 8.9% (9/101). Gilbert et al. (2005) observaron que para el segundo muestreo en la octava semana postparto ocurrió una disminución en el porcentaje de la inflamación uterina. Muchos estudios, bien sea sobre vacas lecheras (Holstein), como los de Gilbert et al. (2005) y Kasimanickam et al. (2004, 2005), o como en ganado de carne (Angus) por ejemplo el de Santos et al. (2009), han mostrado que la prevalencia de ES disminuye a medida que transcurren los días postparto. En contraste con los presentes resultados, Kasimanickam et al. (2004) detectaron un 34% de prevalencia de ES a los 34 a 47 dpp en ganado Holstein, mientras que Gilbert et al. (2005) reportaron una prevalencia de ES de 19% en vacas de esta misma raza examinadas a los 40 a 60 dpp. Los resultados de aquellas dos investigaciones muestran una reducción en la prevalencia de ES a fechas más distantes del parto.

En el presente caso, se examinaron vacas de las razas Holstein, Pardo Suiza, Jersey y cruces. Otras investigaciones han estudiado vacas de la raza Holstein (Gilbert et al., 2005; Plöntzke et al., 2010; Galvão et al., 2009a, 2010), la raza Angus (Santos et al., 2009) y el cruce de Zebu x Friesian (Bacha y Regassa, 2010). En el presente estudio los cuatro grupos raciales no diferenciaron significativamente en la prevalencia de ES. En las otras investigaciones citadas no se compararon diferentes razas para prevalencia de ES.

Teóricamente, el tamaño de las instalaciones lecheras podría afectar la prevalencia de ES. Si se compara con fincas comerciales del extranjero, la presente investigación incluyó un número módico de animales en ordeño por finca para realizar el análisis en cuestión. Específicamente el número de animales en ordeño fue alrededor de 90 a 120 por finca, mientras estudios de Galvão et al. (2009a), Dubuc et al. (2010), Couto et al. (2013) y Kasimanickam et al. (2006), comprendieron en-

tre 275 a 1,044 vacas por instalación comercial. Por consiguiente, el manejo de instalaciones relativamente pequeñas en comparación con grandes vaquerías comerciales del extranjero podría facilitar un mejor control sanitario de los animales, evitando así el contagio de infecciones uterinas.

En otros estudios publicados se indica la temporada en la cual se tomaron las muestras (LeBlanc et al., 2002; Dubuc et al., 2010), pero no se incluye análisis del efecto de la época del año en relación a la ES. Los presentes resultados arrojaron una ventaja de 5.6 puntos porcentuales (11.5 vs. 6.1%) de menor prevalencia de ES a favor de la época fresca, pero por la alta variabilidad de esta diferencia quedó corto de la significación a $P>0.05$ (Cuadro 1).

En estudios de Dourey et al. (2011), Bacha y Regassa (2010) y Galvão et al. (2010), se encontraron resultados variables sobre la prevalencia de ES para el efecto del número de lactancias (primíparas versus múltiparas). Bacha y Regassa (2010) encontraron que la prevalencia de ES no difirió entre vacas primíparas y múltiparas a la cuarta semana (56.2% vs 44.2%, $P=0.49$), pero se acercó a una diferencia significativa a favor de las segundas a la octava semana postparto (50.0% vs. 25.6%, $P=0.08$). Sin embargo, Galvão et al. (2010) observaron lo contrario, una mayor prevalencia de ES en vacas múltiparas que en primíparas (36% vs. 19%; $P=0.09$, respectivamente). En el presente estudio la diferencia de 3.1 puntos porcentuales (10.2 vs. 7.1%) favorable a las vacas primerizas de menor prevalencia de ES quedó lejos de la significación a $P=0.05$ (Cuadro 1).

Referente a la última variable independiente, se midió la prevalencia de ES en tres localidades de Puerto Rico, sin encontrar diferencias ($P<0.56$) entre los porcentajes de 5.5, 6.6 y 12.0 en las vaquerías de Moca, Lajas y Camuy, respectivamente. Plöntzke et al. (2010) investigaron tres granjas lecheras comerciales en Buenos Aires, Argentina, pero no analizaron la prevalencia de ES por localidad. Gilbert et al. (2005) diagnosticaron ES en animales provenientes de cinco hatos comerciales de diferentes localidades en el estado de Nueva York y obtuvieron resultados positivos que variaron por localidad entre 74, 56, 49, 49 y 37%. En comparación con estudios realizados en otros países, los presentes resultados demuestran una baja prevalencia de ES en los hatos locales estudiados.

El método usado para detectar ES en las vacas lecheras puede afectar los resultados obtenidos en los estudios. Bacha y Regassa (2010) usaron el método de lavado uterino en vacas Zebu x Friesian ($n= 59$) clínicamente sanas durante el periodo postparto y detectaron ES en un 47.5% y 30.5% a la semana cuarta y octava, respectivamente. Gilbert et al. (2005) también utilizaron la técnica de lavado uterino en su es-

tudio con vacas Holstein (n=141), donde determinaron una prevalencia general de ES de 53% en cinco hatos lecheros. En contraste, Kasimanicham et al. (2004) se valieron del método de "cytobrush" en lugar de lavado uterino al diagnosticar vacas Holstein Friesian de dos hatos lecheros (n=228), e informaron prevalencias ligeramente inferiores a los últimos resultados citados, siendo de 51% y 41% al realizar la visita 1 y la visita 2 al hato, respectivamente.

Los presentes resultados de 8.9% ES en promedio acusan también el efecto de la etapa de lactancia. Usamos una sola etapa (45±7 dpp); mientras Meira et al. (2012) analizaron muestras colectadas a través de un intervalo entre los 21 a 47 dpp, utilizando un umbral determinado de ≥18% células PMN para el intervalo de 21 a 33 dpp y luego de ≥10% para el intervalo de 34 a 47 dpp y determinaron alta prevalencia de ES en las vacas estudiadas. Dourey et al. (2011) analizaron muestras colectadas 25 dpp usando un umbral de ≥8% de células PMN y verificaron alta prevalencia de ES. Bacha y Regassa (2010) encontraron una prevalencia de ES de 30.5% en la octava semana postparto utilizando un umbral de ≥5% de células PMN. Gilbert et al. (2005) indican también una alta prevalencia de ES, 53% a los 40 a 60 dpp. A diferencia del presente caso, en los otros trabajos citados la prevalencia de ES determinada difirió ($P<0.05$) de cero contundentemente.

En condiciones normales, se presume que a medida avanza el intervalo postparto disminuye sustancialmente la inflamación del endometrio junto con el conteo de células PMN. Esto se debe a la estabilización y limpieza de la región uterina del animal reflejando así una involución normal (Baranski et al., 2012). La recuperación del endometrio ocurre durante el puerperio. No obstante en vacas que padecen de ES, este proceso ocurre de manera anormal, provocando un retraso en la estabilización del útero y la involución de este órgano.

De la presente investigación se concluye que la ES no tiene una alta prevalencia y no debe ejercer un gran impacto negativo en la eficiencia reproductiva de los hatos lecheros analizados, lo que es contrario a lo que se esperaba en el ambiente tropical de Puerto Rico. Observaciones hechas en las tres vaquerías a través del estudio indican que en cada localidad se toman las medidas necesarias en el manejo del hato de acuerdo a los protocolos sanitarios de rutina bajo la supervisión de los respectivos encargados o veterinarios contratados. Un factor importante para lograr una reducida prevalencia de ES es el mantenimiento óptimo en la higiene durante el periodo periparturiente y el postparto; además, se precisa la identificación previa de animales problemáticos. Los esfuerzos por mantener al día la identificación de los individuos predisuestos aportarán al beneficio económico de la empresa lechera del país.

LITERATURA CITADA

- Bacha, B. y F. G. Regassa, 2010. Subclinical endometritis in Zebu x Friesian crossbred dairy cows: its risk factors, association with subclinical mastitis and effect on reproductive performance. *Trop. Anim. Health Prod.* 42: 397-403.
- Barański, W., M. Podhalicz-Dzicgiewlewska, S. Zduńczyk y T. Janowski, 2012. The diagnosis and prevalence of subclinical endometritis in cows evaluated by different cytologic thresholds. *Theriogenology* 78: 1939-1947.
- Barlund, C. S., T. D. Carruthers, C. L. Waldner y C. W. Palmer, 2008. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology* 69: 714-723.
- Cocchia, N., O. Paciello, L. Auletta, V. Uccello, L. Silvestro, K. Mallardo, G. Paraggio, M. P. Pasolini, 2012. Comparison of the cytobrush, cottonswab, and low-volume uterine flush techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology* 77: 89-98.
- Couto, G. B., D. H. Vaillancourt y R. C. Lefebvre, 2013. Comparison of a leukocyte esterase test with endometrial cytology for diagnosis of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 79: 103-107.
- Dourey, A., M. G. Colazo, P. B. Barajas y D. J. Ambrose, 2011. Relationships between endometrial cytology and interval to first ovulation, and pregnancy in postpartum dairy cows in a single herd. *Veterinary Science* 91: 149-153.
- Dubuc, J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, J. S. Walton y S. J. LeBlanc, 2010. Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93: 5225-5233.
- Galvão, K. N., M. J. B. F. Flaminio, S. B. Brittin, R. Sper, M. Fraga, L. Caixeta, A. Ricci, C. L. Guard, W. R. Butler y R. O. Gilbert, 2010. Association between uterine disease and indicators of neutrophil and systemic energy status in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 93: 2926-2937.
- Galvão, K. N., M. Frajblat, S. B. Brittin, W. R. Butler, C. L. Guard y R. O. Gilbert, 2009a. Effect of prostaglandin F_{2α} on subclinical endometritis and fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92: 4906-4913.
- Galvão, K. N., L. F. Greco, J. M. Vilela, M. F. Sá Filho y J. E. P. Santos, 2009b. Effect of intrauterine infusion of ceftiofur on uterine health and fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92: 1532-1542.
- Gilbert, R. O., S. T. Shin, C. L. Guard, H. N. Erb y M. Frajblat, 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 64: 1879-1888.
- Hammon, D. S., I. M. Evjen, T. R. Dhiman, J. P. Goff y J. L. Walters, 2006. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 113: 21-29.
- Kasimanickam, R., J. M. Cornwell y R. L. Nebel, 2006. Effect of presence of clinical and subclinical endometritis at the initiation of Presynch-Ovsynch program on the first service pregnancy in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 95: 214-223.
- Kasimanickam, R., T. F. Duffield, R. A. Foster, C. J. Gartley, K. E. Leslie, J. S. Walton y 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 y 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.
- LeBlanc, S. J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, K. G. Bateman, G. P. Keefe, J. S. Walton y W. H. Johnson, 2002. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 2223-2236.
- Madoz, L. V., M. J. Giuliadori, M. Jaureguiberry, J. Plöntzke, M. Drillich y R. L. De la Sota, 2013. The relationship between endometrial cytology during estrous cycle and cutoff points for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96: 4333-4339.

- Meira, Jr., E. B. S., L. C. S. Henriques, L. R. M. Sá y L. Gregory, 2012. Comparison of ultrasonography and histopathology for the diagnosis of endometritis in Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.* 95: 6969-6973.
- Melcher, Y., I. Prunner y M. Drillich, 2014. Degree of variation and reproducibility of different methods for the diagnosis of subclinical endometritis. *Theriogenology* 81:1-7.
- Plöntzke, J., L. V. Madoz, R. L. De la Sota, M. Drillich y W. Heuwieser, 2010. Subclinical endometritis and its impact on reproductive performance in grazing dairy cattle in Argentina. *Animal Reproduction Science* 122: 52-57.
- Santos, N. R., G. C. Lamb, D. R. Brown y R. O. Gilbert, 2009. Postpartum endometrial cytology in beef cows. *Theriogenology* 71: 739-745.
- Schaab, G. I., H. Mihura, A. Dick y C. Micheo, 2010. Descripción de la ocurrencia de endometritis- metritis, factores de riesgo e impacto reproductivo generado. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA.
- Sheldon, I. M., J. Cronin, L. Goetze, G. Donofrio y H. J. Schuberth, 2009. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biology of Reproduction* 81: 1025-1032. DOI 10.1095
- Sheldon, I. M., D. E. Noakes, A. N. Rycroft y H. Dobson, 2002. Effect of postpartum manual examination of the vagina on uterine bacterial contamination in cows. *Vet. Rec.* 151: 531-534.