

**DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO Y MICROBIOLÓGICO DE
ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA EN VACAS PROBLEMA DE LECHERÍAS DEL
EJE CAFETERO - AVANCES**

*Subclinical endometritis evaluation by histopathology and bacteriology on dairy
problematic cattle in the Colombian coffee region – preview*

*Diagnóstico histopatológico e microbiológico de endometrite subclínica em vacas
problema em laticínios do Eixo Cafeeiro - avanços*

Ruden Restrepo, Daniel Alejandro¹. Isaza Londoño, Octavio². Arias Giraldo, Juan
Camilo³. Jaramillo Arredondo, María del Socorro⁴

Recibido: 14 de Diciembre de 2015
Aceptado: 16 de Marzo de 2016

Resumen

La endometritis subclínica bovina es un síndrome que compromete directamente el desempeño reproductivo en vacas lecheras con un subsecuente detrimento en su eficiencia productiva; la base de la producción lechera es la obtención de una preñez y progenie en el tiempo estimado por el ganadero. El objetivo de esta investigación fue determinar la eficacia de los métodos histopatológico y microbiológico en el

¹ MVZ. Estudiante de maestría, Universidad de Caldas. Grupo de Investigación en Biotecnología Animal, Centro de Investigaciones en Medio Ambiente y Desarrollo CIMAD, Universidad de Manizales. e-mail: ruden@umanizales.edu.co

² MVZ, Esp. Estudiante de maestría, Universidad Nacional de Córdoba - Argentina. Grupo de Investigación en Biotecnología Animal, Centro de Investigaciones en Medio Ambiente y Desarrollo CIMAD, Universidad de Manizales. e-mail: oisazal@umanizales.edu.co

³ MVZ. Estudiante de maestría, Universidad de Caldas. Grupo de Investigación en Biotecnología Animal, Centro de Investigaciones en Medio Ambiente y Desarrollo CIMAD, Universidad de Manizales. e-mail: jcariasg@umanizales.edu.co

⁴ Bacterióloga, Esp. Laboratorista clínica Universidad de Manizales. mariadels27@yahoo.com

diagnóstico de endometritis subclínica en ganado *Bos taurus* y brindar al productor lechero de la Región Cafetera Colombiana datos en tiempo real para la toma de decisiones asertivas sin incurrir en costos operativos que inflen la actividad. Se evaluaron 60 vacas multíparas pertenecientes a diferentes fincas de lechería especializadas en el eje cafetero bajo condiciones atmosféricas de trópico alto y ordeño tanto mecanizado como manual; las hembras evaluadas fueron las reportadas como repetidoras de celo, días abiertos mayores a cien, asintomáticas y se sometieron a análisis histopatológico y microbiológico por medio de biopsia uterina. Se observó edema, fibrosis, tejido necrótico, infiltración linfocitaria lo que comprueba la relación del diagnóstico otorgado por este método y los días abiertos en vacas lecheras.

Palabras Clave: *Bos taurus*, biopsia, días abiertos.

Abstract

Bovine subclinical endometritis is a disease that involves the reproductive performance on dairy cows, consequently, productivity decreases; the basis of milk production is to obtain a pregnancy and progenitor in the estimated time by the breeder. The objective of this study was to evaluate the efficacy of histopathology and bacteriology methods as diagnosis tools for subclinical endometritis on *Bos Taurus* cattle giving the dairy farmer of the Colombian Coffee Region real-time data for asserting decisions without making the activity more expensive. 60 dairy cows from high tropic atmospheric conditions, mechanized and manual milking were evaluated; to be included in this study, the cows were reported as service repeaters, open days greater than one hundred, asymptomatic, they were subjected to histopathology and bacteriology analysis from a biopsy sample. Edema, fibrosis, necrotic tissue, lymphocytic infiltration were observed which checks the relationship of the diagnosis given by this method and the open days in dairy cows.

Key words: *Bos Taurus*, biopsy, open days.

Resumo

A endometrite subclínica bovina é uma síndrome que compromete diretamente o desempenho reprodutivo em vacas leiteiras com um subsequente detrimento em sua eficiência produtiva; a base da produção leiteira é a obtenção de uma gravidez e progênie no tempo estimado pelo pecuarista. O objetivo desta pesquisa foi determinar a eficácia dos métodos histopatológicos e microbiológicos no diagnóstico de endometrite subclínica em gado *Bos taurus* e oferecer ao produtor leiteiro da Região Cafeteira Colombiana dados em tempo real para a tomada de decisões assertivas sem incorrer em custos operativos que inflem a atividade. Se

avaliaram 60 vacas multíparas pertencentes a diferentes fazendas leiteiras especializadas no eixo cafeeiro sob condiciones atmosféricas de trópico alto e ordenha tanto mecanizado quanto manual; as fêmeas avaliadas foram reportadas como repetidoras de cio, dias abertos maiores a cem, assintomáticas e foram sometidas a análise histopatológico e microbiológico por meio de biopsia uterina. Observou-se edema, fibrose, tecido necrótico, infiltração linfocitária o que prova a relação do diagnóstico outorgado por este método e os dias abertos em vacas leiteiras.

Palavras Chave: *Bos taurus*, biópsia, dias abertos.

Introducción

La endometritis subclínica es una condición patológica que en vacas lecheras está directamente asociada con un bajo desempeño reproductivo (Green *et al.*, 2011; LeBlanc, 2008) que representa un mayor número de días abiertos (Gilbert *et al.*, 2005; Kasimanickam *et al.*, 2004) y de hembras repetidoras de servicio (Salasel *et al.*, 2010) situaciones que no son para nada favorables en el orden económico para los productores si se tiene en cuenta que cada servicio acarrea costos operativos importantes dentro del hato lechero (Galvão, 2012; Lee y Kim, 2007; Plöntzke *et al.*, 2010).

Las modificaciones de la mucosa uterina que causan subfertilidad no pueden diagnosticarse por exploración rectal ni vaginal, ya que el endometrio no es explorable clínicamente de forma directa (LeBlanc *et al.*, 2002). Los productos inflamatorios visibles en los genitales femeninos (moco, pus y similares) no siempre pueden atribuirse a un determinado lugar (Grunert y Berchtold, 1988).

Para su diagnóstico existen al día de hoy métodos que visualizan y miden variables aisladas del comportamiento endometrial, tal es el caso de la ultrasonografía (Dominguez *et al.*, 2006; Sheldon *et al.*, 2006), la citología (Barlund *et al.*, 2008; Prunner *et al.*, 2014b) y la biopsia endometrial y tienen en común, la cuantificación de factores que reflejan la condición en mención tales como inflamación, congestión, edema, necrosis, entre otros (De la Sota *et al.*, 2012).

El método de interés en este trabajo fue la biopsia uterina, descrita inicialmente para predecir infertilidad en yeguas en la década de 1960 (Brandt y Manning, 1969) y aplicado posteriormente de manera netamente investigativa a la producción bovina con los mismos intereses. Esta permite obtener una muestra de mucosa del útero para examen histológico y también bacteriológico, es una técnica sencilla y de utilidad para el veterinario interesado en una completa evaluación del tracto reproductivo (De Bois y Manspeaker, 1980), además es un método diagnóstico de alta especificidad que evidencia en gran detalle el nivel de inflamación, lesiones

(Meira *et al.*, 2012) y estado microbiológico (Messier *et al.*, 1984; Studer y Morrow, 1978) del tejido uterino sin comprometer la salud reproductiva de los individuos a los que se les realiza (Chapwanya *et al.*, 2010). El método histopatológico, a comparación del método citológico tradicional que solo evalúa la capa superficial uterina, otorga visualización completa de las capas endometriales y la infiltración de polimorfonucleares; esto tiene relevancia dado que la capa superficial no cambia significativamente durante el ciclo estral (Madoz *et al.*, 2014), mientras que durante la endometritis subclínica se aprecia histológicamente infiltrado de células plasmáticas, focos linfocitarios en parénquima, edema, congestión, hemorragias, necrosis, degeneración y en estadios avanzados es posible detectar fibrosis periglandular la cual es irreversible (Perusia *et al.*, 1998).

La importancia del análisis microbiológico radica en que comúnmente la persistencia de infección bacteriana a nivel de útero en el periodo posparto trae como consecuencia subfertilidad asociada con una ovulación retrasada, persistencia de cuerpo lúteo y baja tasa de concepción posparto; así, el diagnóstico efectivo de enfermedad uterina es indispensable para un programa de control reproductivo (Sheldon y Dobson, 2004). A partir de cultivos de muestras de tejido uterino o sus productos (moco y/o flóculos mucopurulentos) es posible diagnosticar y además tratar un cuadro patológico (Otto *et al.*, 2009). La contaminación bacteriana del útero en el periodo posparto es un hallazgo frecuente que por sí solo no altera la restauración histológica y anatómica del tracto genital (Földi *et al.*, 2006); el desbalance entre la infección uterina y los mecanismos de defensa comúnmente conllevan a complicaciones como metritis, endometritis clínica, piómetra y endometritis subclínica. Estas a su vez traen consigo efectos negativos sobre el desempeño reproductivo en vacas lecheras (Bell y Roberts, 2007).

Mediante este estudio se esperó determinar la eficacia de los métodos histopatológico y microbiológico en el diagnóstico de endometritis subclínica en ganado *Bos taurus* y brindar al productor lechero de la Región Cafetera Colombiana datos en tiempo real para la toma de decisiones asertivas sin incurrir en costos operativos que inflen la actividad.

Materiales y Métodos

Las muestras fueron recolectadas por Médicos Veterinarios Zootecnistas de la Universidad de Caldas, quienes tuvieron en cuenta para los procedimientos de recolección de muestras, manejo y conservación, las normas éticas, técnicas, científicas y administrativas para la investigación en animales contenidas en la Ley

84 (Congreso-Nacional-de-Colombia, 1989). Durante el estudio se mantuvo la confidencialidad de la información de predios muestreados y animales positivos.

Población y muestra

Hembras bovinas *Bos taurus* (n=60) de lecherías especializadas del eje cafetero colombiano que comprenden los municipios de Villamaría, Manizales Caldas y Salento Quindío con condiciones ambientales de trópico alto entre 13 – 25°C con ordeño mecanizado y manual que cumplieran con los criterios de inclusión:

- Vacas con número de partos mayor a 1
- Vacas vacías cíclicas con días abiertos iguales o superiores a 100 (con presencia de cuerpo lúteo a la palpación rectal y/o ultrasonografía).
- Vacas que vuelven a celo después de haber sido servidas una o más veces.
- Vacas con o sin diagnóstico de endometritis subclínica al chequeo por ultrasonografía.

Criterios de exclusión:

- Signos clínicos evidentes tales como descargas uterinas purulentas, sanguinolentas, fétidas y/o mixtas, cojeras, y mastitis, tratamientos farmacológicos intrauterinos, reporte de distocias y/o abortos previos.
- Vacas en anestro superficial o profundo con días abiertos iguales o superiores a 100.
- Vacas con retención de placenta en el último parto
- Vacas con paresia puerperal antes, durante o después del último parto.

Biopsia uterina

Para su obtención, se empleó una pinza de biopsia de uso humano (Chevalier Jackson) para esofagoscopia de acero inoxidable de 60 cm de largo total y 0,5 cm de diámetro anterior, en cuyo extremo posee una pequeña mandíbula de 0,6 x 0,4 cm con filo en los bordes de corte. El mecanismo de corte fue manejado a través del cierre de su parte posterior, tipo tijera. Previo a cada uso, la pinza fue desinfectada con amonio cuaternario para evitar contaminaciones entre los animales (Madoz, 2012).

Se realizó un lavado general y enérgico de la zona vulvar y perianal de cada individuo con agua potable, posteriormente, secado con toalla de papel desechable para proceder con la anestesia epidural usando agujas nuevas para cada vaca y 5 cc de Xilocaina por aplicación, una camisa tubular sanitaria plástica envuelve el dispositivo, la cual se rompe por tracción manual una vez logrado el cuello uterino.

La toma de muestras se realizó una vez enhebrado el cérvix, con el extremo anterior de la pinza posicionado sobre la superficie endometrial de un cuerno uterino. Luego se abren las ramas de la pinza y haciendo leve presión sobre el útero desde el recto, se cierran las ramas y se gira la pinza 90 grados. Una vez que la pinza de biopsia era retirada del animal, cada porción recuperada era tomada con una aguja hipodérmica nueva y colocada en tubos Eppendorf (1,5 ml) con solución formolada tamponada al 10% hasta su procesamiento histológico. Posteriormente en el laboratorio, las muestras fueron deshidratadas, incluidas en parafina, cortadas con micrótopo y teñidas con hematoxilina y eosina para la obtención de los cortes correspondientes de útero. El procesamiento de las biopsias fue realizado por un patólogo con la técnica descrita por Perusia *et al.* (1998).

Cuadro 1. Criterios de lectura en microscopio óptico de las muestras tomadas por biopsia endometrial propuestos por Perusia *et al.* (1998).

1. Reconocimiento del epitelio de revestimiento
Ausencia técnica (no presencia del mismo por deficiente perfil de corte)
Degeneración
Necrosis
Apariencia discontinua del mismo
Desprendimiento
2. Corion subepitelial
Edemas
Infiltrados celulares polimorfonucleares, mononucleares o mixtos
3. Corion glandular
Glándulas
• Presencia
• Ausencia
• Hipersecreción
• Degeneración
• Necrosis
Tejido conectivo periglandular
• Presencia
• Edema
• Infiltrados celulares purulentos o no purulentos
Tejido conectivo del corion profundo
• Sin cambios
• Proliferación y maduración del tejido conjuntivo fibroso

Se establecieron 4 grupos de animales según su grado de inflamación endometrial (Nulo: UB-0, mínimo: UB-1, moderado: UB-2 y severo: UB-3) como lo describe Madoz *et al.* (2014).

Cultivo microbiológico

Una vez tomada la muestra de tejido uterino, un analista distinto al tomador, con vestimenta desechable, guantes de látex limpios, tapabocas y tomando la porción con aguja hipodérmica estéril, cultivó según el método descrito por Koneman *et. al.* (2001) en dos medios sólidos (agar sangre de cordero y agar McKonkey para Gramnegativos) mediante frotis directo la pieza de tejido y esparcido con asa desechable estéril con argolla por la caja de Petri con un recorrido en espiral; las cajas de Petri con los medios fueron abiertas por tiempo promedio de 5 segundos al interior de una caja acrílica hermética previamente irradiada con rayos UV, una vez hecho el frotis, las cajas fueron cerradas y selladas con película plástica, rotuladas y almacenadas en una nevera exclusiva para medios cultivados hasta su transporte al laboratorio (máximo 6 horas)

Las muestras tomadas en agar sangre fueron incubadas a 37°C durante 48 horas en un medio aeróbico; los cultivos en agar McKonkey fueron sometidos a microanaerobiosis, todos situados en posición invertida; pasadas las 24 horas, las cajas se evaluaron macroscópicamente para determinar el número de colonias, hemólisis en el agar sangre, coloración de Gram, las colonias halladas se aislaron para obtener cultivos puros, identificados posteriormente mediante pruebas bioquímicas: producción de Indol, prueba de motilidad, prueba de TSI y ureasa, de acuerdo a la metodología reportada por Galindo *et. al.* (2003).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo para determinar la frecuencia de cada hallazgo histopatológico y su participación porcentual dentro de la población mediante el paquete estadístico RStudio®, de igual manera, para determinar la distribución y frecuencia de las bacterias incubadas.

Se modeló una regresión logística binomial con el efecto del número de días abiertos y número de partos en la presentación de la endometritis subclínica mediante el paquete estadístico SPSS Statistics®.

Resultados y discusión

En los hallazgos preliminares fue común encontrar descamación del epitelio endometrial en diferentes fases de la misma, como lo confirmaron Perusia *et al.*, (1998) quienes establecieron que es fisiológicamente normal hallar este tipo de lesión en diferentes fases del ciclo estral de la hembra bovina, al igual que edema en el estro y días posteriores al parto, lo que corresponde a una endometritis

subclínica aguda, la cual es reversible sin dejar secuelas en el desempeño reproductivo de la hembra (Mokhtar, 2015).

Fue común encontrar en todas las muestras, células linfocitarias, especialmente polimorfonucleares en distintas proporciones pero evidenciando un patrón regular, sobre todo en muestras con presencia de edema y hemorragia evidenciable solo en tejido obtenido a partir de biospsia uterina, como lo describió Madoz *et al.* (2014).

Un nivel más alto de daño tisular fue hallado con menor frecuencia que la migración linfocitaria y con relación directa con el número de partos. Se trata de la fibrosis periglandular cuya gravedad responde a su carácter de irreversibilidad pudiendo ser causas de formación de glándulas quísticas, atróficas y aplanadas. El estroma caruncular puede aparecer reemplazado por tejido cicatrizal y calcificación de porciones necróticas endometriales; la proliferación de tejido conectivo fibroso puede ser causa de aborto (Perusia *et al.*, 1998).

Dentro de los Hallazgos más comunes en cultivos microbiológicos de tracto genital de hembras bovinas se encuentran agentes que hacen parte de la biota normal del animal y el medio ambiente, los cuales proliferan en un periodo estresante, como lo es el parto, cambios repentinos de clima, transporte, sobrepoblación, entre otros y pueden llegar a ser patógenos (Azawi, 2008; Galindo *et al.*, 2003), con asociación directa a la modalidad productiva, existiendo una prevalencia mayor de colonización bacteriana en ganado *bos Taurus* estabulado y lechero (Sheldon *et al.*, 2008)

Se evidenciaron bajo tinción de Gram, cocos Grammpositivos agrupados que correspondían a la morfología descrita por el *Staphylococcus aureus*. Se evidenciaron cocos Grammpositivos correspondientes a *Streptococcus uberis* así como lo describieron Wagener *et al.*, (2014) y Muskens *et al.*, (2011) lo que tenía relación directa con la salud reproductiva posparto en vacas.

Agentes tipo *E. coli* son los más reportados por los autores pero otros como *Prevotella melaninogenica*, *Proteus spp.*, *Fusobacterium necrophorum*, *Staphylococcus aureus* también son comunes en cultivos a partir de muestras de hembras clínicamente sanas (Galindo *et al.*, 2003; Sheldon *et al.*, 2008; Williams *et al.*, 2005) , *Trueperella pyogenes* en vacas con endometritis clínica es predominante (Madoz *et al.*, 2014); Prunner *et al.*, (2014a) confirma dicho hallazgo ya que el 30% de la población evaluada en su estudio reveló presencia de *T. pyogenes* reportando

una mayor incidencia en vacas primerizas y aquellas que requieren asistencia durante el parto. Williams (2005) mediante estudio organoléptico sobre individuos con flujo purulento fétido acompañado de análisis bacteriano son asociadas grandes densidades de *T. pyogenes*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* no hemolítico y *Mannheimia haemolytica*.

Mediante cultivos hechos a partir de muestras uterinas, Muskens *et al.*, (2011) identificaron que las bacterias más comunes son *Arcanobacteria*, *E. coli*, *Estreptococcus uberis* y *Estreptococcus dysgalatiae*; además indicó que la *Coxiella burnetii* no es una causa importante de metritis en vacas lecheras.

Madoz *et al.*, (2014) mediante cultivo por citocepillo, no aisló bacterias de individuos con endometritis subclínica mientras que de vacas saludables aisló *Citrobacter spp.*, *Micrococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.* Y bacilos Gramnegativos no fermentadores. Por otra parte, Prunner *et al.*, (2014a) obtuvieron una mayor densidad de crecimiento bacteriano a partir de vacas con endometritis subclínica y con endometritis clínica que en vacas saludables y aclaró que el riesgo de padecer endometritis clínica aumenta en la medida que son más numerosas las colonias de *T. pyogenes* y en general, crecimiento bacteriano.

Conclusiones

El método histopatológico posee gran utilidad como herramienta para diagnosticar el estado del endometrio y la salud uterina en vacas lecheras; es vigente con la disponibilidad actual de centros investigativos y agremiaciones de productores lecheros. Por su parte, hace falta establecer criterios que cuantifiquen el daño de manera más precisa que la actual con el interés de predecir el futuro productivo de cada vaca.

El estado microbiológico del útero bovino obtenido a partir de porciones tomadas por biopsia, otorga un acercamiento a su diagnóstico pero continúa siendo inherente a condiciones reproductivas, idiosincráticas, medioambientales y de la efectividad de la técnica utilizada en campo. Sin embargo su utilización es de vital importancia para el tratamiento en los cuadros de endometritis causadas por bacterias.

Bibliografía

Azawi, O.I. (2008). Postpartum uterine infection in cattle. *Animal Reproduction Science*. 105:187-208.

Barlund, C.S., Carruthers, T.D., Waldner, C.L., Palmer, C.W. (2008). A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology*. 69: 714-723.

Bell, M. J., and D. J. Roberts. 2007. The impact of uterine infection on a dairy cow's performance. *Theriogenology* 68: 1074-1079.

Brandt, G.W., Manning, J.P. (1969). Improved uterine biopsy technics for diagnosing infertility in the mare. *Vet. Med. Small Anim. Clin.* 64:977-983.

Congreso Nacional de Colombia. (1989). Ley 84 del 27 de diciembre de 1989, Bogotá.

Chapwanya, A., Meade, K.G., Narciandi, F., Stanley, P., Mee, J.F., Doherty, M.L., Callanan, J.J., O'Farrelly, C. (2010). Endometrial biopsy: a valuable clinical and research tool in bovine reproduction. *Theriogenology* 73: 988-994.

De Bois, C.H.W., Manspeaker, J.E. (1980). Endometrial biopsy of the bovine. *Morrow DA. Current Therapy in Theriogenology: Diagnosis, Treatment and Prevention of Reproductive Diseases in Animals*. 2nd. Filadelfia. W.B. Saunders. p. 424-426.

De la Sota, R.L., Madoz, L.V., Ploentzke, J., Drillich, M., Domínguez, G., Albarracín, D. (2012). Endometritis suclínica en vacas del Tambo: diagnóstico, prevalencia e impacto sobre la eficiencia reproductiva. (Tesis de doctorado). Universidad Nacional de La Plata, La Plata.

Dominguez, G., Magnasco, M., Magnasco, R., Hernandez, J., Risco, C., De la Sota, R.L. (2006). Effect of clinical endometritis on reproductive performance in Holstein cows in Argentina. *Theriogenology* 66:679-680.

Földi, J., Kulcsár, M., Pécsi, A., Huygheb, B., De Sa, C., Lohuis, J.A.C.M., Cox, P., Huszenicza, G. (2006). Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Animal Reproduction Science* 96:265-281.

Galindo, A.S.D., Gambarini, M.L., Oliveira Filho, B.D., Kunz, T.L., da Silva, K.P.C., Mota, R.A. (2003). Avaliação microbiológica e citológica do útero de vacas repetidoras de cio. *ARS Veterinaria, Jaboticabal*. 19:179-187.

Galvão, K.N. (2012). Postpartum uterine diseases in dairy cows. *Animal Reproduction*. 9: 290-296.

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.

Green, M.P., Ledgard, A.M., Beaumont, S.E., Berg, C. McNatty, K.P., Peterson, A.J., Back, P.J. (2011). Long-term alteration of follicular steroid concentrations in relation to subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *J. Anim. Sci.* 89: 3551-3560.

Grunert, E., Berchtold, M. (1988). *Infertilidad en la vaca*. Montevideo: Hemisferio sur.

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 the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*. 62: 9-23.

Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn JR, W.C. (2001). *Diagnóstico Microbiológico. Texto e Atlas Colorido*. 5 ed. Rio de Janeiro. MEDSI. p. 720-785.

LeBlanc, S.J. (2008). Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *The Veterinary Journal* 176:102-114.

LeBlanc, S. J., Duffield, T.F., Leslie, K.E., Bateman, K.G., Keefe, G.P., Walton, J.S., Johnson, W.H. (2002). Defining and Diagnosing Postpartum Clinical Endometritis and its Impact on Reproductive Performance in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 85:2223-2236.

Lee, J.I., Kim, I.H. (2007). Pregnancy loss in dairy cows: the contributing factors, the effects on reproductive performance and the economic impact. *J. Vet. Sci.* 8:283-288.

Madoz, L.V. (2012). *Endometritis subclínica en vacas de tambo: diagnóstico, prevalencia e impacto sobre la eficiencia reproductiva*. (Tesis de doctorado). Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

Madoz, L.V., Giuliodori, M.J., Migliorisi, A.L., Jaureguiberry, M., de la Sota, R.L. (2014). Endometrial cytology, biopsy, and bacteriology for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97:195-201.

Meira, E.B.S., Henriques, L.C.S., Sá, L.R.M., Gregory, L. (2012). Comparison of ultrasonography and histopathology for the diagnosis of endometritis in Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.* 95: 6969-6973.

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.

Mokhtar, D. (2015). Microscopic and histochemical characterization of the bovine uterine tube during the follicular and luteal phases of estrous cycle. *Journal of Microscopy and Ultrastructure.* 3:44-52.

Muskens, J., Mars, M.H. (2011). Dairy cows with metritis: *Coxiella burnetii* test results in uterine, blood and bulk milk samples. *Veterinary Microbiology* 147:186-189.

Otto, C., Persing, D.H., Tang, Y.W. (2009). *Diagnostic Microbiology Encyclopedia of Microbiology (Third Edition).* Biomedical Science. p. 308-320.

Perusia, O., Peralta, C., Repetto, A., Signorini, M., Iniguez, E. (1998). Biopsias endometriales en bovinos. *Revista de medicina veterinaria y produccion animal.* 27:118-124.

Plöntzke, J., Madoz, L.V., De la Sota, R.L., Drillich, M., Heuwieser, W. (2010). Subclinical endometritis and its impact on reproductive performance in grazing dairy cattle in Argentina. *Animal Reproduction Science.* 122: 52–57.

Prunner, I., Pothmann, H., Wagener, K., Giuliadori, M., Huber, J., Ehling-Schulz, M., Drillich, M. (2014). Dynamics of bacteriologic and cytologic changes in the uterus of postpartum dairy cows. *Theriogenology.* 82:1316-1322.

Prunner, I., Wagener, K., Pothmann, H., Ehling-Schulz, M., Drillich, M. (2014). Risk factors for uterine diseases on small- and medium-sized dairy farms determined by clinical, bacteriological, and cytological examinations. *Theriogenology.* 82: 857-865.

Salasel, B., Mokhtarib, A., Taktazc, T. (2010). Prevalence, risk factors for and impact of subclinical endometritis in repeat breeder dairy cows. *Theriogenology.* 74: 1271-1278.

Sheldon, I.M., Dobson, H. (2004). Postpartum uterine health in cattle. *Animal Reproduction Science.* 82-83: 295-306.

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

Sheldon, I.M., Williams, E.J., Miller, A.N.A., Nash, D.M., Herath, S. (2008). Uterine diseases in cattle after parturition. *The Veterinary Journal.* 176: 115-121.

Studer, E., Morrow, D. (1978). Postpartum evaluation of bovine reproductive potential: Comparison of findings from genital tract examination per rectum, uterine culture, and endometrial biopsy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 172:489-494.

Wagener, K., Grunert, T., Prunner, I., Ehling-Schulz, M., Drillich, M. (2014). Dynamics of uterine infections with *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis* and *Trueperella pyogenes* in post-partum dairy cows and their association with clinical endometritis. *The Veterinary Journal* 202:527–532.

Williams, E.J., Fischer, D.P., Pfeiffer, D.U., England, G.C.W., 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.