

## Diagnostico de endometritis subclínica en vacas lecheras

**Bruno Rutter\***

Profesor Titular en la Cátedra de Obstetricia y Patología de la Reproducción de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Buenos Aires (UBA), Argentina.

\*E-mail: brunorutter@yahoo.com

### RESUMEN

Las enfermedades uterinas en el período posparto comprometen seriamente la eficiencia reproductiva. La clasificación hecha hace pocos años por Sheldon *et al.* (2006) permite diagnosticarlas con mayor facilidad de acuerdo al tiempo transcurrido desde el parto a su detección y diagnóstico. De acuerdo con esta clasificación ha sido posible utilizar las denominaciones de metritis puerperal a la que transcurre entre los días 4 a 10 posparto; a la endometritis clínica y la piómetra, que se observan a partir del día 14 posparto y la endometritis subclínica que ocurre en cualquier momento posterior a la culminación histológica de la involución uterina (en general más allá de las 5 a 6 semanas del posparto). En esta revisión se realiza un análisis de cada una de estas presentaciones y sus características. Finalmente se describen los tratamientos posibles que en su conjunto aún no han permitido una solución total quedando claro que es un control precoz y sobre todo durante el período de transición lo que permite disminuir el impacto de estas patologías sobre el tracto reproductivo y así mejorar la eficiencia reproductiva de la vaca lechera.

Palabras clave: Endometritis, tipos, tratamiento, vaca lechera.

### ABSTRACT

Uterine diseases in the postpartum period impacts seriously reproductive efficiency. The classification by Sheldon *et al.* (2006) allows more easily detection and diagnose of these diseases based on the elapsed time since delivery. According to the classification of the elapsed time distinction is made between puerperal metritis which manifests between 4-10 days postpartum; clinical endometritis and pyometra seen from day 14 postpartum, and subclinical endometritis occurring at any time after completion of the histological uterine involution time (generally beyond 5-6 weeks postpartum). This presentation provides an analysis and discussion of each of these phenomena and their characteristics. Further, possible treatments that can be applied and which together have not been able to give a total solution of this pathology are discussed. It is increasingly clear that early prevention and control, particularly during the transition period, will reduce the impact of these diseases on the reproductive tract and thereby improve the reproductive efficiency of dairy cattle.

Keywords: Edometritis, types, treatment, dairy cow.

## 1. INTRODUCCIÓN

Uno de los aciertos en clínica reproductiva en las vacas lecheras es que se preñen lo antes posible después del parto, así esas vacas producirán más lactancias y más terneros en su vida útil. Las causas de ineficiencia reproductiva son varias; particularmente factores como el manejo en la detección del celo, las patologías puerperales y su implicancia en el futuro fértil de la hembra bovina lechera. La función uterina se encuentra comprometida por la contaminación bacteriana dentro del lumen uterino después del parto; esta infección persiste causando alteraciones que se manifiestan como infertilidad.

La infección uterina bacteriana depende en parte de la situación endócrina; en particular la progesterona actúa como supresor de las defensas inmunitarias uterinas. La formación del primer cuerpo lúteo (CL) luego del parto y el incremento de progesterona (P4) precede al surgimiento de la enfermedad uterina. Del Vecchio *et al.* (1994) demostraron que la infusión de *Arcanobacterium pyogenes* y *Escherichia coli* durante el posparto en vacas en condiciones experimentales, no producía ninguna afección uterina siempre y cuando los niveles plasmáticos de P4 se mantuvieran bajos y tardaran en aumentar. Aún así, muchas infecciones uterinas se establecen en la tercera semana después del parto antes de la ovulación del primer folículo dominante. La relación entre las bacterias, la respuesta inmune la inflamación y la función ovárica es compleja y aún no ha sido explicada en todos sus detalles y requiere más investigación.

La acción inmunosupresora de la P4 o los esteroides suprarrenales contribuyen a un aumento de la contaminación uterina y la sucesiva infección. La P4 es inmunosupresora y es responsable en los mecanismos de síntesis de la PGF2 $\alpha$  y una gran variedad de citocinas inmuno moduladoras. La acción de la PGF2 $\alpha$  estimula la luteólisis reduciendo la P4 y aumentando la concentración de estrógenos (E<sub>2</sub>) lo que aumenta las defensas uterinas. El útero es muy resistente a las infecciones durante la fase estrogénica del ciclo (aproximadamente entre los días 18 y 5 del ciclo siguiente) pero su susceptibilidad aumenta considerablemente durante la fase progestacional (entre los días 6 y 17 aproximadamente). Durante esta última fase el útero es susceptible porque:

- El pH cervical profundo es en general alcalino en cualquier fase del ciclo estral. Sin embargo, en la fase estral es menos alcalino (pH 7.2-7.4) que en la fase progestativa (alrededor de 7.6) creándose entonces, en esta última, condiciones más favorables para el desarrollo de la flora bacteriana (Schilling & Zust, 1968).
- El epitelio uterino es menos permeable a las bacterias; esto da como resultado que el sistema inmunitario sea estimulado muy tardíamente (Lewis, 2003).
- Hay una aparición retardada de leucocitos a niveles endometrial y en el lumen uterino.
- La actividad leucocitaria está disminuida.
- Las secreciones uterinas son escasas y no tienen acción de *opsonización*.

Los períodos críticos para la aparición de las endometritis son:

- Parto
- Post-parto
- Servicio

El post-parto a su vez puede dividirse de acuerdo a las modificaciones endócrinas que durante el mismo suceden y que pueden alterar los procesos involutivos, y a la acción de factores predisponentes que determinarán la infección o no del útero. Dentro del período post-partal deben diferenciarse una fase inicial comprendida entre el parto y el momento en que comienza la sensibilidad de la hipófisis a la GnRH. Durante este período que dura entre 8 y 14 días, el ovario produce mínimas cantidades de estrógenos y progesterona. Si entonces aparecen condiciones desencadenantes, puede producirse una *endometritis aguda puerperal*, precedida o no de retención de membranas fetales.

A partir del momento en que la hipófisis se hace sensible a la GnRH y hasta la primera ovulación, período que tiene una duración variable, existen niveles elevados de PGF2 $\alpha$  necesarios para completar la involución uterina. En las hembras con útero sano y niveles nutricionales adecuados, la primera ovulación tiene lugar cuando la PGF2 $\alpha$  llega a niveles basales. Durante este período, en un puerperio normal, la población bacteriana uterina que se había incrementado por el parto, se reduce notablemente y la ciclicidad ovárica se reinicia juntamente con un proceso de “auto limpieza” del órgano.

En las hembras bovinas en las que inciden factores predisponentes como estado corporal deficiente (inferior a 2.5), condiciones poco higiénicas durante el parto, patologías metabólicas (cetosis, hipocalcemia), distocias, retención de membranas fetales, etc., se observa una persistencia de la presencia microbiana con la consiguiente infección uterina. En este último caso, los niveles de PGF2 $\alpha$  permanecen elevados durante un período mayor inhibiendo y por lo tanto postergando más, el reinicio de la ciclicidad produciendo además una sub-involución uterina.

Debido a que existe una diferencia sustancial en la terminología de las enfermedades uterinas causadas por complicaciones de involución es que a veces se pueden conducir a confusiones, Sheldon *et al.* (2006) propusieron los siguientes términos para un uso uniforme de la terminología relacionada con esta problemática: metritis puerperal, endometritis clínica, piómetra y endometritis sub clínica. Estas se constituyen en las complicaciones uterinas del puerperio temprano (metritis puerperal; metritis clínica), del estadio de involución intermedio a tardío (endometritis clínica, piómetra) y del período de servicio (endometritis sub clínica), y forman una cadena de eventos patológicos que se suceden uno al otro en el orden arriba mencionado.

### 1.1. *Metritis puerperal*

#### Definición

La metritis puerperal es la complicación bacteriana que transcurre durante el puerperio temprano, la cual se observa en las primeras dos semanas después del parto (generalmente en los días 4-10 posparto) y se caracteriza 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 en la primera mitad de este período;
- o
- 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 ( $>39.5^{\circ}\text{C}$ ) (Sheldon & Dobson, 2004; Sheldon *et al.*, 2006). La incidencia de metritis puerperal varía de 2.2 a 37.3% (Kelton, 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 y algunas veces también a la serosa (perimetritis) y ligamentos suspensorios (parametritis) (Paisley *et al.*, 1986; Sheldon & 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 Gram Negativas (GN) como *F. necrophorum*, *Bacteroides spp.* y *Prevotella spp.*, son considerados como los principales patógenos responsables en esta complicación (Sheldon & 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% y 67-85% respectivamente (Dohmen *et al.*, 2000; Mateus *et al.*, 2002; Sheldon *et al.*, 2004). Se asoció las densidades de crecimiento de *A. pyogenes*, *E. coli*, *Streptococcus no hemolíticos* y *Mannheimis haemolytica* con un mucus de olor fétido (Williams *et al.*, 2005). Puede ocurrir una intensa invasión por patógenos si la capacidad migratoria y funcional (fagocítica, destructor de células, explosión oxidativa) de los neutrófilos se ve reducida (Paisley *et al.*, 1986; Mateus *et al.*, 2002). El *A. pyogenes* y los anaeróbicos GN invaden no sólo el endometrio sino que generalmente también invaden la submucosa y, ocasionalmente, las capas profundas de la pared uterina (Paisley *et al.*, 1986).

El estancamiento de los loquios en la cavidad uterina provee un excelente medio de cultivo para la multiplicación de *E. coli* y/u otros coliformes, dando como resultado una liberación extensiva de un componente de la pared celular de estos microbios tipo lipopolisacárido (endotoxina) (Mateus *et al.*, 2002). 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 anaeróbicos GN en el período posparto tardío (Dohmen *et al.*, 1996). 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 *et al.*, 1996) o pueden ser detectadas sólo en los casos más severos (Mateus *et al.*, 2002). 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  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) e interleuquinas (IL1 e IL6) y activa los sistemas enzimáticos fosfolipasa A2, ciclooxigenasa-2 y 5-lipooxigenasa, produciendo varios eicosanoides (PGF2 $\alpha$ , PGE2) y también prostaciclina y tromboxanos (Mateus *et al.*, 2002). Uno de estos eicosanoides es la PGF2 $\alpha$ , que tiene conocidas propiedades luteolíticas e inmunoestimuladoras, lo cual también incrementa la contractibilidad endometrial en la vaca (Lewis, 2003). En las primeras 2 a 3 semanas postparto, se encontraron niveles aumentados de PGF2 $\alpha$  y su metabolito estable (13, 14-dihidro-15-ketoprostaglandina F2 $\alpha$ , PGFM). Estas altas concentraciones de PGFM coincidieron con la fase de regresión rápida de la involución uterina. La amplitud y duración de la liberación endometrial de PGF2 $\alpha$  se correlaciona de forma lineal con el tiempo para la involución uterina completa en vacas con metritis puerperal (Del Vecchio *et al.*, 1994). El grado de metritis influencia el patrón de liberación de PGF2 $\alpha$  y sus niveles plasmáticos, pero no el contenido de PGFM en el fluido uterino (Mateus *et al.*, 2002). Se puede utilizar a las concentraciones plasmáticas de PGFM como un indicador para el seguimiento del curso de la metritis (Del Vecchio *et al.*, 1994; Seals *et al.*, 2002; Mateus *et al.*, 2002).

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 *et al.*, 1991, 1996), a pesar de que sola o en combinación con la PGF2 $\alpha$  puede incrementar la contractibilidad miometrial. Mateus *et al.* (2002), encontraron niveles más altos de PGE2 en el fluido uterino de vacas con metritis severa que en aquellas que mostraron solo signos leves de esta enfermedad. Cuando las citoquinas proinflamatorias (TNF $\alpha$ , 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 gonadotropinas (LH). Simultáneamente, se encuentra elevada la producción de proteínas de fase aguda, como glicoproteína ácida -  $\alpha$ 1 ( $\alpha$ 1-AG) y haptoglobina (HP) (Sheldon *et al.*, 2004; Williams *et al.*, 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, distress respiratorio, diarrea) así como en los conteos de células sanguíneas y del sistema de coagulación (Sheldon & Dobson, 2004).

El desarrollo de metritis puerperal coincide con el reclutamiento de los folículos de la primera onda folicular, seguido por la emergencia y selección del primer folículo dominante (FD). El FD de la primera onda produce 17 $\beta$ -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 prerrequisitos endocrinos de este rápido reanudamiento de la ciclicidad. Sheldon *et al.* (2002) 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 primero o segundo FD en el ovario ipsilateral mostró una correlación inversa con la densidad del crecimiento bacteriano uterino (Sheldon *et al.*, 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) y la función ovárica general postparto durante las primeras semanas de lactación donde también se reportaron alteraciones ováricas con liberación intensa de citoquinas y endotoxinas (Gilbert *et al.*, 1998, 2005).

### Signos clínicos. Diagnóstico

En la metritis puerperal, la consistencia viscosa de los loquios normales cambia a un exudado maloliente, acuoso 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 *et al.*, 1986; Hussain, 1989; Lewis *et al.*, 1997, 2002; Sheldon & Dobson, 2004; Sheldon *et al.*, 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 de (endo) toxinas y otros productos bacterianos. Por lo tanto se considera a la metritis puerperal tóxica como un sinónimo de la forma más severa (Sheldon & Dobson, 2004; Sheldon *et al.*, 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 diagnóstico (Sheldon & Dobson, 2004; Sheldon *et al.*, 2006). El carácter y el olor del mucus vaginal refleja el número de bacterias en el útero (Williams *et al.*, 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 *et al.*, 2004). En la metritis puerperal tóxica la descarga vaginal usualmente se convierte temprano en fétida (al día 3-4) luego de parir, pero sólo se da más tarde (día 6-10) en los casos más leves.

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.

## **1.2. Endometritis clínica y piómetra**

### Definiciones

La endometritis clínica ocurre desde la tercera semana postparto (luego del día 14 p.p.) en adelante y es caracterizada por la presencia de un contenido anormal (mucopurulento o purulento) en la cavidad uterina y el mismo tipo de descarga hacia la vagina a través de la cervix que todavía se encuentra abierta. La piómetra bovina es una enfermedad inflamatoria íntimamente relacionada con la reactivación sexual postparto ya que 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, la cervix se cierra de forma impermeable y por lo ello, el exudado mucopurulento o purulento se acumula en la cavidad uterina (Sheldon & Dobson, 2004; Sheldon *et al.*, 2006). La incidencia reportada de “endometritis” varía de 7.5% a 61.6% (Gilbert *et al.*, 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 de estroma y migración de granulocitos neutrófilos y otras células inflamatorias (linfocitos, células plasmáticas) dentro del endometrio y de la cavidad uterina (Lewis, 1997; Sheldon & 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 & Dobson, 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 ssp.*) o re infectado con estos patógenos a partir del ambiente, se puede desarrollar una endometritis clínica. A diferencia de otros patógenos uterinos, la incidencia e importancia de *E. coli* decrece gradualmente con el tiempo: el compromiso de coliformes en la patogénesis de endometritis clínica es sólo secundario (Paisley *et al.*, 1986; Hussain, 1989). En la endometritis clínica el influjo de granulocitos es extensivo; células inflamatorias (neutrófilos, linfocitos, células plasmáticas) infiltran el endometrio (Lewis, 1997; Sheldon & Dobson, 2004). El exudado contenido en el útero es mucopurulento (aproximadamente 50% pus y 50% mucus) o purulento (cantidad estimada de pus >50%) (Sheldon *et al.*, 2006). El contenido purulento del exudado uterino deriva de la gran cantidad de granulocitos neutrófilos muertos, bacterias fagocitadas y detritos celulares (Sheldon & Dobson, 2004). El endometrio se vuelve hiperémico y congestivo, las células epiteliales superficiales se pueden descamar y necrosar. La infección uterina puede ascender también en el oviducto. En formas crónicas de endometritis clínica, el tejido cicatricial 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 de la cérvix regulado por la progesterona. En estas vacas el exudado (muco) purulento se acumula en el útero; concomitantemente, el cuerpo lúteo (CL) puede persistir (Lewis, 1997; Sheldon & Dobson, 2004).

Sin embargo, se mantiene limitada a la liberación local de los 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 a pesar de que ocasionalmente el contenido plasmático de  $\alpha 1$ -AG puede estar levemente elevado (Williams *et al.*, 2005).

Por largo tiempo se supuso que el útero posparto en rumiantes era 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 *et al.*, 1986; Hussain, 1989). En un modelo de estudio, Lewis (2003) determinó que 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 PGF2 $\alpha$  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 con cannavalina A. Se concluyó que la progesterona convierte al útero posparto susceptible a la infección y la ovariectomía permite a la hembra continuar siendo resistente, y las prostaglandinas uterinas pueden mediar el proceso (Lewis, 2003).

#### 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 postparto 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 (Sheldon & Dobson, 2004; Sheldon *et al.*, 2006).

Se han realizado muchos intentos y reportes para investigar y validar criterios objetivos de diagnóstico para la endometritis. Sheldon *et al.* (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 *et al.* (2002) examinaron 1865 vacas entre los días 20 y 33 posparto 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 posparto, 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 (McDougall *et al.*, 2007) un nuevo dispositivo (“Metichcek”; Simcrotech, Hamilton, Nueva Zelanda).

Cuando se categorizó a las bacterias recolectadas con hisopos del lumen uterino de vacas a los 21 y 28 días posparto 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 *et al.*, 1996; Williams *et al.*, 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 (Sheldon & Dobson, 2004; Sheldon *et al.*, 2006).

### 1.3. 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 sólo mediante un examen citológico del endometrio. No existe o existe sólo una mínima cantidad de exudado acumulado en el útero, dando como resultado una completa falta de descarga cervical con propiedades patognomónicas (Kasimanickam *et al.*, 2004; Gilbert *et al.*, 2005; Sheldon *et al.*, 2006).

#### Patología, diagnóstico y relevancia clínica de la endometritis sub clínica

La endometritis sub clínica es un proceso inflamatorio crónico no manifiesto del endometrio, con una proporción relativamente alta de leucocitos PMN en el útero, la cual altera 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 *et al.* (2004) estudiaron vacas lecheras posparto clínicamente normales a los 20-33 días de lactación para validar la citología endometrial (CE) y la ultrasonografía (US) como herramientas de diagnóstico de endometritis sub clínica. El examen, que incluyó palpación transrectal, CE y US fue repetido dos semanas después de la primera visita, p.ej. 24-47 días en leche.

## 2. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE LAS ENDOMETRITIS

Se pueden utilizar distintos métodos para el diagnóstico de endometritis.

#### Palpación rectal

Durante la palpación del tracto reproductivo se deberán evaluar los siguientes hallazgos clínicos, tomando en cuenta la edad de la vaca y la cantidad de partos.

## MASKANA, 1er CONGRESO INTERNACIONAL DE PRODUCCIÓN ANIMAL ESPECIALIZADA EN BOVINOS, 2015

- Diámetro cervical (<5 cm, de 5 a 7.5 cm >7.5 cm) y su ubicación con respecto a la cavidad pelviana.
- Ubicación del útero (en la pelvis, o un poco más allá del borde pélvico pero completamente palpable después de la retracción, o pasando el borde pélvico y no palpable en toda su superficie).
- Cuernos uterinos simétricos (si / no).
- Diámetro del cuerno uterino más grande (en cm).
- Grosor de la pared uterina (gruesa / fina).
- Contenido uterino (si / no) presencia de fluctuación.
- Estructuras ováricas (cuerpo lúteo, folículo, quistes “con un diámetro  $\geq 2.5$  cm).

### Vaginoscopía

Hay vaginoscopios de varios modelos, el más interesante (en opinión del autor) es el modelo Minitub® (Varikon Ref.No. 17064/0380) que permite la utilización de camisas sanitarias entre vaca y vaca.

La observación del orificio cervical externo, nos permite inspeccionar:

- Grado de dilatación o relajación.
- Presencia de flujo (si / no).
- Características del flujo.
- Presencia de lesiones.
- Cantidad y características del moco:
  - 0 - moco claro y translúcido.
  - 1 - moco con flóculos de pus.
  - 2 - <50 ml de exudado conteniendo un  $\leq 50\%$  de material muco purulento.
  - 3 - >50 ml de exudado formado por material purulento.
- Evaluación del olor:
  - 0 - normal a carne fresca.
  - 1 - fétido.

La presencia de olor en el moco vaginal entre los días 21 y 28 pos parto refleja una gran carga bacteriana intrauterina. Material vaginal muco purulento o purulento y con olor fétido hay que asociarlo a un gran crecimiento de bacterias en el útero, no oportunistas.

### Palpación vaginal

El método consiste en explorar por vía vaginal, previa a limpieza completa con papel del tipo cocina limpio y seco de la zona perineal, introducir la mano con un guante descartable por vulva y explorar hasta el fondo de vagina; se palpan las paredes laterales, techo y piso de vagina, el orificio cervical externo y se extrae moco para poder analizarlo. Del mismo modo se evalúa el color, proporción, volumen, características y olor. La interpretación de los arrojamientos es semejante a lo expresado en el punto anterior.

### Ecografía

La relación entre la estimación de las medidas del cuerno uterino y los días pos parto permite una evaluación a tiempo real. Se puede calcular el área de los cuernos uterinos y de la cervix en los varios estadios del puerperio, analizar las imágenes que nos presenta del contenido, si este aparece; las imágenes ováricas y de los folículos (tamaño) y la presencia o no de un cuerpo lúteo.

La acumulación de loquios dentro del lumen uterino permite determinar con cierta aproximación las características de los mismos, en cuanto al volumen, y a la composición (muco-purulenta, purulenta). Correlacionando este hallazgo con la presencia de estructuras ováricas, se puede definir el tratamiento. Mateus *et al.* (2002) concluyeron que el fluido intrauterino visualizado mediante el examen ecográfico se correlaciona positiva y significativamente con la presencia de un crecimiento bacteriano y que esa infección afecta la involución uterina.

Metricheck®: (Simcrotech - [www.feltonmedical.com](http://www.feltonmedical.com))

Es un dispositivo formado por una barra de acero con un mango. En el extremo que se introduce en el útero tiene una copa de goma puesta con la concavidad hacia el operador, lo cual permite arrastrar desde el fondo de vagina flujo, para poder visualizarlo.

La metodología de utilización es la siguiente:

1. Tomar un Metricheck® estéril.
2. Limpieza de la zona perineal.
3. Lubricar la parte convexa de la copa de goma.
4. Insertar el Metricheck dentro de la vagina hasta el fondo en cercanías del orificio cervical externo.
5. Extraer el Metricheck, con el material obtenido desde el fondo y piso de vagina.
6. Inspeccionar el material.
7. Limpieza del aparato extrayendo con cuidado los elementos recuperados; material fecal, moco, sangre pus etc.

Citología endometrial (CE)

Es un método que se está utilizando sobre todo para determinar las endometritis sub clínicas, pero que puede ser utilizado, con sus limitaciones, para evaluar la defensa uterina.

Kasimanickam *et al.* (2004) utilizan un método para obtener muestra del lumen uterino, y evaluar mediante frotis coloreados el porcentaje de neutrófilos hallados contando 100 células. Para ello se utiliza un Cytobrush®, al cual se corta su mango a los 3 a 4 cm de la parte del cepillo, se ensarta en un vástago de acero de 4 mm de diámetro y 65 cm de longitud, cubierto por un tubo de acero de diámetro interno 5mm y de 50 cm de longitud. El tubo externo cubre la parte del cepillo, todo cubierto por una camisa sanitaria. Al introducirlo y al sacarlos del tracto genital, el cepillo está protegido por el vástago de acero; solo sale el cepillo dentro del útero para tomar la muestra.

La metodología consiste en realizar limpieza de la zona perineal y especialmente vaginal con un papel de cocina húmedo, introducción del cytobrush hasta el lumen uterino, extracción del cepillo del tubo de acero protector, rotar sobre la pared del cuerno de mayor tamaño, volver a cubrir con el tubo protector, extraer de la vaca y hacer un frotis sobre un porta limpio y desengrasado; colorear con Giemsa o Tinción 15 (Biopur, Argentina). Observación al microscopio óptico 400X.

Se considera la muestra positiva (Kasimanickam *et al.*, 2004, 2005; Sheldon *et al.*, 2006) (endometritis subclínica) cuando:

- Entre 20-33 días, PP>18% de polimorfos nucleares.
- Entre 34-47 días, PP>10% de polimorfos nucleares.
- Entre 40-60 días, PP>5% de polimorfos nucleares.

Los puntos de corte encontrados por Madoz *et al.* (2012) y De La Sota (2014) en vacas en pastoreo, consideraron a los animales positivos cuando:

- Entre 21-33 días, PP>8% de polimorfos nucleares.
- Entre 34-47 días, PP>6% de polimorfos nucleares.
- Entre 40-60 días, PP>4% de polimorfos nucleares.

Este método es efectivo para el diagnóstico de las endometritis sub clínicas, así como es interesante su utilización en vacas repetidoras para un diagnóstico de presencia de anidaciones bacterianas que es una de las causas de repetición. Es importante poder determinar que el útero está infectado para instaurar un tratamiento precoz y poder asegurar un acortamiento del intervalo parto gestación y así lograr el objetivo de una lactancia y un ternero por año.

Gilbert *et al.* (2005) usaron otra técnica con el mismo fin. Realizaron un lavaje uterino con un volumen de 20-60 ml de solución salina 0.9% para recolectar muestras para CE a partir de vacas entre 40-60 días en lactancia. Ya que la muestra en este caso es de 2-5 ml de fluido, antes de colorearla debe ser suspendida en solución salina y centrifugada mediante centrífuga cytopspin (centrifugado celular) para luego con el culote hacer un extendido sobre un portaobjetos. La tinción también fue Tinción 15 (Biopur, Argentina) y la proporción de corte de leucocitos PMN, como criterio de

diagnóstico para endometritis sub clínica, fue fijada en 5%. La palpación transrectal del útero no tuvo valor diagnóstico para la endometritis sub clínica.

Barlund *et al.* (2008) mostraron que muestras de citología endometrial (>8% de neutrófilos) colectadas utilizando cytobrush de vacas con 28-41 días en lactancia tuvieron una sensibilidad de 12.9% y una especificidad de 89.9% para la preñez a los 150 días posparto. Muestras colectadas al mismo tiempo por lavaje y evaluadas de la misma forma tuvieron una sensibilidad y especificidad de 14.35 y 84.0% respectivamente. Estos autores mostraron que el lavaje y la técnica de cytobrush estuvieron altamente correlacionados, pero que la técnica de lavado produjo resultados menos consistentes, posiblemente debido a la distorsión de las células causada por la solución de lavaje. Lamentablemente ninguna de las técnicas de diagnóstico fue altamente sensible cuando se evaluaron respecto a la preñez a los 150 días, posiblemente debido a numerosos factores que afectan la preñez.

La sensibilidad de cada uno de los métodos descritos para el diagnóstico de endometritis es (Gilbert *et al.*, 1998, 2005; Sheldon *et al.*, 2002; Barlund *et al.*, 2008):

- Palpación rectal: 22% de sensibilidad.
- Vaginoscopía: 60-80% de sensibilidad.
- Palpación vaginal: 60-80% de sensibilidad.
- Metricheck: 60-80% de sensibilidad.
- Ultrasonografía: 94% de sensibilidad.
- Citología: 95% de sensibilidad.

### 3. CONCLUSIONES

Las patologías puerperales son una causa directa de la atención incorrecta del animal en situaciones estresantes como el parto y el inicio de la lactancia, con sus problemas de desbalance en el sistema inmunitario. Es importante la utilización de un criterio común para el diagnóstico y la implementación de medidas correctivas para reducir estas patologías uterinas dentro de los establecimientos lecheros y asegurar que las vacas tengan un puerperio normal y que regresen a un estado pre gestacional lo antes posible. Se han intentado varios tratamientos que se basan normalmente en dos regímenes diferentes:

- infusiones intrauterinas de antibióticos (Oxitetraciclina, Metricur®, Penicilina-Estreptomicina) (Galvao *et al.*, 2009; LeBlanc *et al.*, 2002);
- antibióticos por vía sistémica (Ceftiofur - Excenel, Excede; Oxitetraciclina) (De La Sota, 2014) o la inyección intramuscular de prostaglandina F<sub>2α</sub> (Hendricks *et al.*, 2006).

Lamentablemente no se ha podido encontrar un tratamiento que demuestre una efectividad suficiente para tratar las vacas con este problema que impacta en la reproducción. Esto se debe a que las patologías puerperales no solo deben tomarse como tales sino como un todo con el animal enfermo (establecimiento, edad del animal, cantidad de lactancias, estado corporal, tiempo en la detección de la patología, metabolismo, etc.) y comparar todos estos tratamientos con todas estas variables es casi imposible.

Son necesarios nuevos estudios e investigaciones para perfeccionar los diagnósticos y los tratamientos en las patologías uterinas, pero una de las herramientas en las que se debe hacer hincapié nuevamente es en la prevención.

### REFERENCIAS

- Barlund, C.S., T.D. Carruthers, C.L. Waldner, C.W. Palmer, 2008. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology*, 69, 714-723.
- Del Vecchio, R.P., D.J. Matsas, S. Fortin, D.P. Sponenberg, G.S. Lewis, 1994. Spontaneous uterine infection are associated with elevated prostaglandin F<sub>2α</sub> metabolite concentration in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 41, 413-421.

- De La Sota, R.L., 2014. *Endometritis sub clínica en vacas de tambo: diagnóstico, prevalencia e impacto sobre la eficiencia reproductiva*. Actas VII Jornadas *Taurus* 2014. Buenos Aires, Argentina.
- Dohmen, M.J.W., K. Joop, A.Struk, P.E.J. Bols, J.A.C.M. Lohuis, 2000. Relationship between intra-uterine bacterial contamination, endotoxin levels and the development of endometritis in postpartum cows with dystocia or retained placenta. *Theriogenology*, 54, 1019-32.
- Elliott, L., K.J. McMahon, H.T. Gier, G.B. Marion, 1968. Uterus of the cow after parturition: bacterial content. *Am. J. Vet. Res.*, 29, 77-81.
- Galvão, K., M. Frajblat, S. Brittin, W. Butler, C. Guard, R. Gilbert, 2009. Effect of prostaglandin F2 $\alpha$  on subclinical endometritis and fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 92, 4906-4913.
- Gilbert, R.O., S.T. Shin, C.L. Guard, H.N. Erb, 1998. Incidence of endometritis and effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 49, 251.
- Gilbert, R.O., S.T. Shin, C.L. Guard, H.N. Erb, M. Frajblat, 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 64, 1879-1888.
- Hendricks, K.E.M., J.A. Bartolome, P. Melendez, C. Risco, L.F. Archbald, 2006. Effect of repeated administration of PGF2 $\alpha$  in the early post partum period on the prevalence of clinical endometritis and probability of pregnancy at first insemination in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 65, 1454-1464.
- Hussain, A.M., 1989. Bovine uterine defense mechanisms: a review. *J.Vet.Med.*, B36, 641 -651.
- Kasimanickam, R., T.F. Duffield, R.A. Foster, C.J. Gartley, K.E. Leslie, J.S. Walton, W.H. Johnson, 2004. Endometrial cytology and ultrasonography for 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, W.H. Johnson, 2005. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinical normal postpartum dairy cow. *Can.Vet. J.*, 46, 255-259.
- Kelton, D.F.D. 1998. Recommendation for reording and calculatin the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. *J. Dairy. Sci.*, 81, 2502-2509.
- LeBlanc, S.J., T.F. Duffield, K.E. Leslie, K.G. Bateman, G.P. Keefe, J.S. Walton, W.H. Johnson, 2002. Defining and Diagnosing Postpartum Clinical Endometritis and the impact on Reproductive Performance in Dairy Cows. *J.Dairy Sci.*, 85, 2223-2236.
- Lewis, G.S. 1997. Uterine Health and Disorders. *J. Dairy Sci.*, 80, 984-994.
- Lewis, G.S. 2003. Steroidal regulation of uterine resistance to bacterial infection in livestock. *Reproduction Biology and Endocrinology*, 1, 117.
- Madoz, L.V., J. Plöntzke, D. Albarracín, M. Drillich y R.L. de la Sota, 2012. Determinación de los puntos de corte para el diagnóstico de endometritis subclínica en Argentina. *Taurus*, 54, 29-35.
- Mateus, L., L.L. da Costa, F. Bernardo, J.R. Silva, 2002. Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. *Reprod. Dom. Anim.*, 37, 31-35.
- McDougall, S., R. Macaulay, C. Compton, 2007. Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci.*, 99, 9-23.
- Paisley, L.G., W.D. Mickelsen, P.B. Anderson, 1986. Mechanisms and therapy for retained (membranes and uterine infection of cows: a review. *Theriogenology*, 25, 353-381.
- Schilling, E., J. Züst, 1968. Diagnosis of oestrus and ovulation in cows by pH measurements intra vaginam and by apparent viscosity of vaginal mucus. *J. Reprod. Fert.*, 15, 307-311.
- Seals, R.C., I. Matamoros, G.S.Lewis, 2002. Relationship between postpartum changes in 13, 14-dihydro-15-ket-PGF2 $\alpha$  concentration in Holstein cows and their susceptibility to endometritis. *J. Anim. Sci.*, 80, 1068-1073.
- Sheldon, I.M., D.E. Noakes, 1998. Comparison of three treatments for bovine endometritis. *Vet. Rec.*, 142, 575-579.

- Sheldon, I.M., D.E. Noakes and H. Dobson, 2002. Effect of regressing corpus luteum of pregnancy on ovarian folliculogenesis after parturition in cattle. *Biology of Reproduction*, 66, 266-271.
- Sheldon, I.M., H. Dobson, 2004. Postpartum uterine health in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 82-83:295-306.
- Sheldon, I.M., G.S. Lewis, S. LeBlanc, R.O. Gilbert, 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65, 1516-1530.
- Slama, H.H., D. Vaillancourt, A.K. Goff, 1991. Pathophysiology of the puerperal period: relationship between prostaglandin E2 (PGE2) and uterine involution in the cow. *Theriogenology*, 36, 1071-1090.
- Slama, H., 1996. Prostaglandines, leucotriènes et subinvolution uterine chez la vache. *Rec. Med. Vet.*, 172, 169-181.
- Williams, E.J., D.P. Fischer, D.U. Pfeiffer, G.C. England, D.E. Noakes, H. Dobson, I.M. Sheldon, 2005. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, 63, 102-117.