

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**Identificación de patógenos en descargas uterinas postparto en vacas  
lecheras Holstein**

**POR**

**XOCHILT DE JESÚS LUNA GONZÁLEZ**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL TÍTULO DE**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREÓN, COAHUILA**

**JUNIO DE 2016**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Identificación de patógenos en descargas uterinas postparto en vacas  
lecheras Holstein

POR

XOCHILT DE JESÚS LUNA GONZÁLEZ

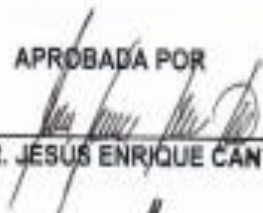
TESIS

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

PRESIDENTE:

  
DR. JESÚS ENRIQUE CANTU BRITO

VOCAL

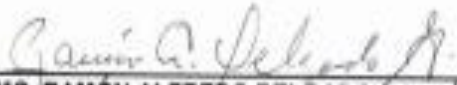

  
DR. RAMIRO GONZÁLEZ ÁVALOS

VOCAL

  
MC. RAFAEL ÁVILA CISNEROS

VOCAL SUPLENTE:

  
MC. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

  
MC. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL  
  
Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA

JUNIO DE 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Identificación de patógenos en descargas uterinas postparto en vacas  
lecheras Holstein

POR

XOCHILT DE JESÚS LUNA GONZÁLEZ

TESIS

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ DE ASESORÍA  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE

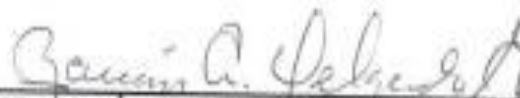
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

ASESOR PRINCIPAL



DR. RAMIRO GONZÁLEZ ÁVALOS



MC. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal

## **AGRADECIMIENTOS**

**A mi Madre**, Oliva González Luna por haberme dado la vida, por enseñarme a ser fuerte, para poder realizar mis metas, y por siempre apoyar mi sueño de ser profesionista.

**A mis hermanos**, María Magdalena Luna González, Cesar Luna González, Erasmo Luna González por darme el apoyo necesario y por brindarme su ayuda.

**A Madre Raphael Quinn y las hermanas Loreto**, por su gran apoyo incondicional durante estos años de carrera.

**A mi Alma Mater**, por aceptarme ser parte de ella y darme una formación como profesionista.

**Al Dr. Ramiro González Avalos**, por brindarme todo su apoyo y asesoría en la elaboración de mi tesis.

**A la Química Margarita Yolanda Mendoza Ramos**, por dejarme usar el laboratorio de microbiología para mis estudios bacteriológicos.

**A todos mis profesores**, MVZ A todos ellos por brindarme su conocimiento, su amistad y consejos, a todos muchas gracias.

## DEDICATORIAS

**A mi madre**, Oliva González Luna por su confianza y el apoyo que me brindaron todo este tiempo.

**A mis hermanos**, María Magdalena Luna González, Cesar Luna González, Erasmo Luna González, Susana Luna González, Salvador Luna González, Lucía Luna Covarrubias, Marta Angélica Luna González, Juan Pablo Luna González, Raúl Luna González, y Cecilia Luna González a quienes quiero mucho.

**A mis compañeros**, Valeria Roció Tovar, Perla Rosas Villegas y todos los demás que siempre estuvieron conmigo en cada paso de esta carrera, los quiero mucho.

**A las Hermanas Loreto**, por el gran apoyo que siempre me brindaron, sin condiciones estaré siempre agradecida por todo lo que hicieron por mí.

## RESUMEN

Siendo una de las razones importantes de la disminución de la producción lechera, las enfermedades uterinas causadas en una mayoría por microorganismos oportunistas, es necesaria la realización de estudios para encontrar e aislar el microorganismos para efectuar un tratamiento eficiente. El objetivo del presente estudio fue identificar los patógenos que se encuentran en las descargas uterinas postparto en vacas lecheras Holstein. Las muestras se obtuvieron de vacas con signos de metritis o placenta retenida. Los signos incluyen desde presentación de descargas mucopurulenta, café rojizas a pirexia, y anorexia. Se usó guantes e hisopos estériles para cada muestra. En una hielera se alojaron a temperatura 4-6°C en tubos de ensaye con medio de transporte Stuart. En las descargas uterinas de se identificaron estreptococos, cocos Gram positivos, microorganismos Bacilos Gram negativos, diplococos Gram positivos y también las bacterias *Escherichia coli*, *Arcanobacterium spp.* *Klebsiella sp.* En conclusión se encuentran diferentes microorganismos en las descargas uterinas y que éstas pueden ocasionar distintas enfermedades en las vacas.

**Palabras clave:** *Arcanobacterium spp*, bacterias, enfermedades uterinas, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, microorganismos.

## Índice general

|   |     |
|---|-----|
| <b>AGRADECIMIENTOS</b> .....  | i   |
| <b>DEDICATORIAS</b> .....   | ii  |
| <b>RESUMEN</b> .....  | iii |
| <b>Índice general</b> .....   | iv  |
| <b>Índice de figuras</b> .....  | v   |
| <b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....  | 1   |
| 1.1. <b>Objetivo</b> .....  | 3   |
| 1.2. <b>Hipótesis</b> .....   | 3   |
| <b>2. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....                                  | 4   |
| 2.1. <b>Procesos del Parto en los Bovinos</b> .....                     | 5   |
| 2.2. <b>Involución uterina</b> .....                                    | 5   |
| 2.3. <b>Contaminación bacteriana</b> .....                              | 7   |
| 2.4. <b>Retención placentaria</b> .....                                 | 9   |
| 2.5. <b>Metritis</b> .....  | 10  |
| 2.6. <b>Endometritis</b> .....  | 12  |
| 2.7. <b>Piometra</b> .....  | 13  |
| 2.8. <b>Impacto de enfermedades uterinas</b> .....                      | 13  |
| <b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....                                    | 15  |
| 3.1. <b>Localización</b> .....  | 15  |
| 3.2. <b>Obtención de muestras</b> .....                                 | 15  |
| 3.3. <b>Procedimiento</b> .....   | 15  |
| <b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....                                  | 17  |
| <b>Microorganismos identificados en descarga uterina posparto</b> ..... | 21  |
| <b>5. CONCLUSIONES</b> .....  | 23  |
| <b>6. LITERATURA CITADA</b> .....                                       | 24  |

## Índice de figuras

|   |    |
|---|----|
| Figura 1. Microorganismos observados en descargas uterinas posparto.    | 18 |
| Figura 2. Microorganismos que crecimiento en agar sangre.               | 19 |
| Figura 3. Crecimiento de microorganismos en agar MacConkey.             | 20 |
| Figura 4. Reacciones hemolíticas de los microorganismos en Agar Sangre. | 21 |



## 1. INTRODUCCIÓN

Los bovinos son susceptibles a numerosas infecciones y a enfermedades metabólicas durante la etapa temprana post-parto. Estas enfermedades son asociadas con el cambio abrupto de demandas nutricionales y procesos fisiológicos presentes durante este lapso de tiempo. Por lo que, la metritis puerperal es una enfermedad post-parto que es conocida por disminuir la producción láctea, consumo de alimento, además de afectar negativamente el desempeño reproductivo (Wittrock *et al.*, 2011).

Además, la metritis involucra el endometrio, tejido glandular inferior y capas musculares. La condición de metritis puede presentarse clínicamente o sub-clínicamente. La metritis clínica puede ser aguda, presentándose rápidamente y afectando generalmente el apetito de la vaca y su producción de leche; la crónica, la cual persiste por un largo periodo. Por otra parte, la metritis clínica puede ser detectada por palpación rectal como un incremento en tamaño y grueso de la pared uterina. Una descarga vaginal purulenta puede o no puede estar presente (Manspeaker, 2010).

La contaminación del útero después del parto y cambios metabólicos en el periodo de transición son factores etiológicos de ocurrencia importante de metritis y endometritis. Por consiguiente, la endometritis es una de las condiciones reproductivas más comunes en vacas. La endometritis bacteriana después del parto es la causa más común de infertilidad en vacas así como la tardancia a de involución uterina, prolonga el tiempo al primer estro, incrementa el número de servicios por concepción (Udhayavel *et al.*, 2012). La metritis puerperal es caracterizada por la presencia de un útero anormalmente engrandecido, con una

secreción de olor fétido café- rojiza asociada con signos de una enfermedad sistémica (Galvao *et al.*, 2011).

De ahí que, la contaminación bacteriológica del útero después del parto y cambios metabólicos en el periodo de transición son factores etiológicos importantes para la ocurrencia de metritis e endometritis. Una gran variedad de bacterias han sido recuperadas del útero de vacas postparto. Los patógenos más prevalentes involucrados en la etiología de endometritis son *Arcanobacterium pyogenes*, *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum* y *Prevotella species* (Udhayavel *et al.*, 2012).

Cabe considerar, por otra parte; la presencia de bacterias en el útero causa inflamación, lesiones histológicas del endometrio y retardos en la involución uterina. Después del parto bacterias del ambiente del animal contaminan el lumen uterino. La infección persiste en el útero de muchos animales por más de tres semanas, con aproximadamente 15% de las vacas lecheras, presentando signos de endometritis clínica. Estos animales tendrán tasas de concepción bajas, duraran más tiempo en concebir y es probable que se manden a desecho por infertilidad (Moges *et al.*, 2013).

Examinación de las descargas vaginales, es uno de los procedimientos más útiles, ya que la presencia de pus en la vagina es correlacionada a la presencia de bacterias patógenas en el utero (Giuliodori *et al.*, 2013). No hay un estándar de oro que exista para el diagnóstico de endometritis, lo que hace que sea desafiante (Madoz *et al.*, 2014). Además, de la resistencia bacteriana emergente a antibióticos usados ha sido demostrado (Moges *et al.*, 2013).

### **1.1. Objetivo**

Identificar los patógenos que se encuentran en las descargas uterinas postparto en vacas lecheras Holstein.

### **1.2. Hipótesis**

En las descargas uterinas posparto en vacas lecheras Holstein, se encuentren *Aracanobacteriuim pyogenes*, *E. coli*, *Fusobacterium necrophorum* y *Prevotella species*.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

La eficiencia reproductiva es un asunto importante en la industria lechera por su impacto en la economía. Enfermedades del tracto reproductivo como desecho vaginal purulento y endometritis citológica están asociados con los efectos detrimentales en el rendimiento reproductivo (Robichaud y Dubuc, 2015). El ganado lechero es susceptible a un número de desórdenes durante el periodo postparto (Credille *et al.*, 2014). Infección bacteriana es una causa importante de las varias que causan la disminución de fertilidad. Tal condición puede causar inflamación del cervix o endometritis en varios niveles, el cual puede causar muerte embrionaria o problemas en el desarrollo de las crías (Gani *et al.*, 2008). El tracto genital de las hembras posee flora bacteriana en casi toda su extensión, a excepción del útero. La vagina por ser la parte más expuesta, posee un mayor número de bacterias entre las cuales podemos encontrar Gram negativas y Gram positivas. Sin embargo, durante la gestación y el parto el cuello uterino y útero no se encuentran totalmente estériles, por lo que se pueden aislar microorganismos oportunistas (Sánchez *et al.*, 2011). Así mismo, intervenciones como la inseminación artificial, el coito, los exámenes obstétricos pueden incrementar el riesgo de introducción de bacterias al útero (González *et al.*, 2007).

Las infecciones uterinas durante las primeras semanas posparto afectan el retorno de la ciclicidad y se asocian con el desarrollo de metritis, condición frecuente que se presenta en las vacas lecheras, y se traduce en el retraso de la involución uterina y del reinicio de la actividad ovárica, además de aumentar la formación de quistes ováricos, sobre todo si la infección evoluciona en piometra (Solorzano *et al.*, 2002).

## **2.1. Procesos del Parto en los Bovinos**

Hay tres etapas durante el proceso del parto: dilatación del cérvix, nacimiento del becerro y expulsión de la placenta. La primera etapa del parto consiste en la preparación de la madre y el feto. Durante este tiempo contracciones regulares del miometrio empiezan a tiempos de 12 a 24 contracciones por h. Las conexiones cotiledinarias de la placenta comienzan a soltar, el cérvix se acorta y se dilata por las contracciones y por descompostura de tejido (Ball y Peters, 2004). La segunda etapa empieza con la aparición de membranas en la vulva. El becerro debe ser expulsado entre 2 a 5 h. En la etapa tres la placenta debe ser expulsada entre 8 a 12 horas después del nacimiento del becerro. Debe señalarse que después de ese tiempo si no es expulsada, se considera retención de placenta (Haynes, 1978).

## **2.2. Involución uterina**

El útero bovino es bicorne, tiene tres capas en la pared uterina, el perímetro, el cual es la capa más externa; el miometrio es la capa del medio, la cual tiene tres capas: un musculo circular y longitudinal, una capa vascular y el endometrio, el cual es la capa interna del útero y consiste de mucosa y submucosa (Knudsen *et al.*, 2014). Durante la gestación se forman los cotiledones y placentomas. Los cotiledones son racimos de villi en membranas corioamnióticas fetales y los alantocoriones que invaden las carúnculas (Budras y Habel, 2003).

En el postparto las contracciones uterinas y la incipiente involución uterina producen una disminución en el volumen de los placentomas, con reducción del pedúnculo, con modificaciones alternas de la forma de las carúnculas y la separación-alargamiento de las criptas. Las membranas fetales se invaginan a

partir del ápex del cuerno grávido y se inicia así la progresiva expulsión hacia el exterior. La eliminación normal de la placenta sucede en la hembra bovina después de las 6 horas de finalizado el periodo de expulsión (Rutter, 2002).

La salud uterina es a menudo comprometida en vacas por la contaminación postparto del lumen uterino por bacterias, y bacterias patogénicas que persisten causando enfermedades clínicas. La subfertilidad asociada con infección uterina involucra la perturbación del hipotálamo, glándula pituitaria y ovario, en adición efectos directos en el útero, y aparentemente persiste incluso después de la resolución de la enfermedad (Sheldon *et al.*, 2004).

La involución uterina después del parto es caracterizada por el regreso del útero a su tamaño previo, regeneración endometrial, reanudación de la ciclicidad ovárica y la eliminación de contaminación bacteriana (Hepelmann *et al.*, 2015). En la vaca, la tercera etapa del parto, durante el cual las membranas fetales son desprendidas, dura alrededor de 6 a 12 horas. Si el desprendimiento no ocurre dentro de las 12 horas se considera retención placentaria (Dobson, 2008).

La rápida disminución del tamaño ocurre por la vasoconstricción y contracciones peristálticas, las cuales ocurren en intervalos de 3 a 4 minutos y gradualmente disminuyen para el cuarto día postparto. Los eventos durante la involución uterina incluyen necrosis del tallo caruncular, descompostura de la capa superficial de la carúncula y la formación de los loquios. Este procedimiento se completa generalmente para el 12 día postparto. La involución uterina normalmente puede ser un proceso aséptico, aunque esto es más una excepción que una regla. La infección puerperal espontánea, con crecimiento bacteriana en los loquios es común (Leslie, 1983).

En general los índices más altos de bacterias son durante las primeras 2 semanas posparto dentro de las 5 semanas se ve una disminución sin tratamiento. Involución del útero y erradicación de bacteria son asociadas con prostaglandina en el plasma. Las prostaglandinas son producidas en altas cantidades en el útero durante el posparto temprano. Una alta magnitud y duración continua de prostaglandinas ha sido relacionada con una involución rápida. En un posparto normal hay una disminución de metabolitos prostaglandina durante la primera semana hasta llegar a niveles basales en la segunda semana posparto. En vacas con placenta retenida, los niveles de prostaglandina no disminuyen sino son elevadas mientras las bacterias sean presentes en el útero, lo cual influye el tiempo para la siguiente ovulación (Gustafsson *et al.*, 2004). La involución puede ser evaluada por palpación rectal y si esta sigue un patrón normal el útero entero se puede palpar a los 8-10 días postparto (Kallero, 2010).

### **2.3. Contaminación Bacteriana Posparto**

Entre los problemas reproductivos más comunes en bovinos se encuentran las infecciones uterinas que por lo general son de etiología bacteriana y se favorece cuando concurren diferentes factores predisponentes relacionados con la higiene del parto, ya que durante el parto y puerperio el tracto genital se expone al medio ambiente. El mecanismo fisiológico y anatómico de cierre del canal genital resultan temporalmente insuficientes y las bacterias que normalmente habitan la región perianal y vulvar, pueden ascender y causar infecciones (González *et al.*, 2007).

Por varias semanas postparto hay un ciclo de contaminación, despeje, y recontaminación bacteriana. En muchos animales esta contaminación bacteriana es gradualmente resuelta por la involución uterina, pasaje de loquios fuera del útero y por la movilización de defensas inmunes. Aunque, la falla en resolver la contaminación puede comprometer la función uterina, y así la persistencia de bacterias patógenas de hasta 3 semanas postparto causa endometritis clínica (Potter *et al.*, 2010).

Por consiguiente, la presencia de bacterias patógenas en el útero causa inflamación y lesiones histológicas del endometrio. Los signos clínicos de infección uterina dependen del número y virulencia de los microorganismos presentes y de las condiciones del útero y sus defensas. Las bacterias patógenas que se encuentran frecuentemente en casos de endometritis son *A. pyogenes* y *E. coli*, en vacas con metritis aguda y endometritis crónica son *A. pyogenes*, *Prevotella spp.*, *Fusobacterium necrophorum* y *Escherichia coli*. en otros estudios se pudo encontrar *Staphylococcus spp.* *Streptococcus spp.* (Takamtha *et al.*, 2013). Es asumido que estos organismos son adquiridos de la contaminación fecal del propio animal, pelaje, cama, y medio ambiente. Sin embargo, el papel del medio ambiente del animal y en particular si la contaminación fecal son un riesgo de endometritis clínica son a menudo olvidados (Potter *et al.*, 2010).

Clásicamente, la caracterización de la microbiota uterina en bovinos ha dependido en el cultivo de secreciones uterinas (Santos *et al.*, 2011). La principal fuente de contaminación del tracto reproductivo de la hembra bovina está constituido por la flora bacteriana que proviene del medio ambiente, especialmente del suelo y del establo, cuando el parto se desarrolla en ambientes



contaminados. Los animales susceptibles a contraer esta infección son las vacas lecheras de alta producción, con elevados números de partos, gestaciones prolongadas, alteraciones puerperales, raciones desbalanceadas y problemas sanitarios (Riffo, 2002).

Las endotoxinas bacterianas son componentes de la parte externa de la pared celular de bacterias Gram negativas o Gram positivas que altamente inmunostimuladoras y que pueden desencadenar un respuesta inflamatoria (Eckel y Ametaj, 2016). La presencia de bacterias en el útero de vacas posparto no siempre resulta en enfermedad inflamatoria uterina. A pesar de, la infección intrauterina, que sigue en ciertos casos de contaminación, implica la adherencia de organismos patogénicos a la mucosa, colonización o penetración al epitelio y/o la liberación de productos bacterianos (toxinas, enzimas etc.) que pueden conllevar a el establecimiento de enfermedades uterinas. Aunque, la infección intrauterina en sí, no significa manifestación clínica de la enfermedad; esto es dependiendo del estatus inmune del huésped (Foldi *et al.*, 2006).

#### **2.4. Problemas Asociados a la Retención Placentaria**

La retención de la placenta es una condición en la cual contribuyen muchos factores, por los que el agente etiológico se considera multifactorial o multi-etiológico y no está muy claramente demostrado. Las vacas con partos distócicos retienen membranas fetales de un 90% a 100% (Rocha *et al.*, 2008). Las vacas que han sufrido retención placentaria, son significativamente susceptibles de desarrollar metritis, cetosis, y mastitis que las vacas que tuvieron un postparto normal (Silva *et al.*, 2000).

Si bien la retención placentaria ocasiona una baja mortalidad, tiene gran importancia en los hatos lecheros debido a su efecto detrimental sobre la fertilidad. La retención y la asociación con otras patologías puerperales tales como quistes ováricos y endometritis agudas o crónicas, originan pérdidas económicas considerables, derivadas fundamentalmente de un aumento de los lapsos reproductivos, servicios por concepción y en costos de asistencia veterinaria, disminución en la vida útil de las hembras del hato, disminución en el número de crías por vaca y deterioro en el avance genético (Scheidegger *et al.*, 1993).

La secuencia normal de los eventos iniciando el parto incluye la inducción fetal de cortisol de enzimas placentales que dirigen la síntesis de esteroides lejos de progesterona y hacia los estrógenos. Un incremento de los estrógenos resultan ambos en el incremento de regulación de los receptores de oxitocina en el miometrio y la secreción de prostaglandinas F2 alfa. Las prostaglandinas inician contracciones del miometrio y resulta en la lisis del cuerpo lúteo. Lisis del cuerpo lúteo con lleva a la secreción de relaxina y una continua disminución de progesterona (Beagley *et al.*, 2010).

## **2.5. La Metritis Posparto**

En vacas lecheras postparto, las enfermedades como la metritis y endometritis afectan una gran proporción de la población y son asociadas con pérdidas económicas substanciales. Ya que no hay un estándar para el diagnóstico de estas enfermedades uterinas, la evaluación de los desechos vaginales es un procedimiento útil porque la pus en los desechos vaginales están correlacionados con las bacterias patógenas dentro del útero (Giuliodori *et al.*, 2013). La metritis

es definida como una inflamación de las paredes musculares del útero y del endometrio. La mayoría de los casos serios ocurren durante los primeros 10 a 14 días postparto y son llamados metritis puerperal, metritis aguda postparto o simplemente metritis puerperal. Esta infección es caracterizada por ser una sustancia café roja acuosa, que se puede ver acompañado por signos comunes de una infección sistémica incluyendo la pirexia, inapetencia, depresión y disminución de la producción de leche (Wittrock *et al.*, 2011).

La incidencia de metritis toxica varía desde 2.2% a un 37.3%. Las vacas afectadas exhiben diferentes grados de depresión, inapetencia y disminución de la producción de leche y están predispuestas a sufrir desordenes de abomaso (Palmer, 2007). La metritis séptica generalmente está asociada a la retención de membranas fetales o retención placentaria. La retención de membranas fetales se convierte en factor predisponente de importancia en el aumento a la susceptibilidad de metritis y piometra. Muchas de las condiciones que contribuyen a la metritis también contribuyen a la susceptibilidad de retención de las membranas fetales (Fernández *et al.*, 2008).

Estudios en los Estados Unidos revelan que al menos un 25% de las vacas recién paridas sufren metritis clínica, pero el porcentaje aumenta al 80% cuando las vacas sufren retención placentaria (Tahua y Hoover, 2012). La metritis puede ocurrir en cualquier momento después del parto, incluyendo 21 días después posparto aunque la mayoría de los casos 95% (709/753) ocurren en los primeros 14 días después del parto, con un pico de alrededor de 5 a 7 días después del mismo (Galvao *et al.*, 2011). La disminución de fertilidad es causada por efectos negativos en útero y en el ovario. Estas enfermedades uterinas causan lesiones

en el endometrio y interrumpen función endometrial y perjudican el desarrollo embrionario (Galvao, 2013).

## **2.6. La Endometritis en Vacas Posparto**

Endometritis es la inflamación del endometrio el cual es una membrana mucosa de revestimiento del útero (Abdullah *et al.*, 2015). La endometritis clínica se define cuando los desechos vaginales de una vaca presentan pus dentro la vagina 21 días o más postparto, sin algún signo de sistemático de enfermedad. Las vacas que presentan un alto porcentaje de células polymorfonucleares en muestras citológicas uterinas se define como endometritis subclínica (Giuliodori *et al.*, 2013).

Una gran variedad de bacteria, ambas Gram positivas y Gram negativas aerobias y anaerobias, han sido aisladas del útero bovino posparto (Dhaliwal *et al.*, 2001). La prevalencia de endometritis disminuye con tiempo en el postparto porque la mayoría de las vacas se recuperan de forma espontánea (Burke *et al.*, 2010). Los factores de riesgo reportados para endometritis incluyen, gemelos, distocia, temporada del año. Poca evidencia existe de una conexión potencial entre metritis y endometritis en la literatura porque la mayoría de los estudios consideran estas dos condiciones separadas (Dubuc *et al.*, 2010).

En adición, infección uterina bacterial o productos bacteriales suprimen la secreción de Hormona leutinizante de la glándula pituitaria y perturben crecimiento folicular ovárico y sus funciones post parto, lo cual interrumpe la ovulación en vacas (Moges *et al.*, 2013).

## **2.7. Piometra en Vacas Posparto**

La piometra es una enfermedad dentro del útero, donde líquido y exudado purulento se acumulan en el lumen uterino mientras hay un cuerpo lúteo persistente. La presencia de una infección endometrial cuando la vaca regresa a su funcionamiento cíclico ovárico después del parto es un prerrequisito para el desarrollo de piometra. Esta infección inhibe la liberación de prostaglandina del endometrio, así previniendo la regresión usual del cuerpo lúteo. La progesterona producida por el cuerpo lúteo causa el cierre del cérvix, lo cual con lleva a el alargamiento y distención del útero por acumulación de exudado dentro del lumen uterino (Knudsen *et al.*, 2014).

La piometra es a menudo diagnosticada durante visitas del hato rutinarias. Las vacas que serán palpadas por anestro. La presencia de líquido dentro el cuerno uterino y también la presencia de un cuerpo lúteo en la ausencia de un feto o membranas fetales (Palmer, 2014).

## **2.8. Impacto de enfermedades uterinas**

La enfermedades uterinas reducen el bienestar de la vaca afectada causando y puede causar que sean eliminadas del hato (Sheldon *et al.*, 2009). Ha sido demostrado que proteínas de fase aguda en la sangre durante el posparto en vacas lecheras incrementan en concentraciones con asociación a una contaminación bacterial del útero (Sheldon *et al.*, 2001).

Lo cual indica un grado de incomodidad y dolor en la vaca (Miller *et al.*, 2007). Mientras la falta enfermedad sistémica en endometritis y piometra hacen difícil la evaluación por la incomodidad o dolor experimentados por la vaca (LeBlanc *et*

*al.*, 2002). Las vacas con metritis si presentan enfermedad sistémica con fiebre, y exhiben inapetencia, fatiga y depresión (Sheldon *et al.*, 2006).

El efecto financiero de las enfermedades uterinas son derivados de la infertilidad, incrementación de sacrificio por inhabilidad de quedar gestante, baja producción de leche y el costo del tratamiento (Sheldon *et al.*, 2009). La salud del hato tiene un efecto en la reproducción del mismo. Infecciones uterinas o mamarias son factores de riesgo para la infertilidad (Lucy, 2001).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Localización**

Se analizó a 30 vacas de dos establos diferentes. Un establo llamado 'La Sangra' y el segundo 'La Esperanza'. Estos localizados en el Municipio de Torreón, en el Estado de Coahuila de Zaragoza; en la región semi-desértica del norte de México a una altura entre 1000 y 2500 msnm, entre los paralelos 25° 42' y 24° 48' N y los meridianos 103° 31' y 102° 58' O (INEGI, 2009).

#### **3.2. Obtención de muestras**

Las vacas analizadas son de raza Holstein con signos de metritis o placenta retenida. Los signos incluyen desde presentación de descargas mucopurulenta, café rojizas a pirexia, y anorexia. Para obtener las muestras se dio limpieza de área peritoneal para así prevenir la contaminación o reducir la contaminación de la muestra. Se usó guantes estériles, e hisopos estériles para cada muestra. En una hielera se alojaron a temperatura 4-12°C tubos de ensaye con medio de transporte Stuart. El medio es químicamente definido como semisólido, medio no-nutriente que previene la proliferación microbial. Es por su composición que el medio asegura que los microorganismos que están presentes, puedan sobrevivir por el tiempo suficiente (HIMEDIA, 2011).

#### **3.3. Procedimiento**

El procedimiento usado fue limpieza peritoneal, con el uso de guantes estériles, se introdujo el hisopo estéril dentro la vagina y para obtener la muestra fue con el rozo circular del hisopo. Se extrae el hisopo con precaución de no contaminar la muestra tocando otra parte el área peritoneal. El siguiente paso es la introducción del hisopo al medio de transporte Stuart, el hisopo entra al medio y

toca la base del tubo de ensaye para así poder sellar con la tapa del tubo. Las muestras son conservadas en una hielera a temperatura de 4-12°C mientras se transportan al laboratorio. En el laboratorio estas se conservaron en el refrigerador. Los agares utilizados fueron agar sangre y MacConkey. El agar sangre es un medio de propósito general a menudo es usado para el crecimiento de organismos sensibles y para diferenciar las bacterias en base a sus propiedades hemolíticas (Buxton, 2005). En agar MacConkey ofrece pistas sobre la identificación de un organismo, por la habilidad de fermentar lactosa. El agar MacConkey contiene cristales violetas y sales biliares, las cuales inhiben el crecimiento de organismos Gram positivos y ciertos Gram negativos (Kohlerschmidt *et al.*, 2015). Ya preparados las placa Petri 60 de agar sangre y 60 de agar MacConkey. En un área estéril con mecheros, se acercan los tubos de ensaye con el medio Stuart, con las placas Petri identificadas por muestra y establo. Se extrae el hisopo con pinzas que se esterilizan por medio de la llama del mechero y al tener ya el hisopo con las manos se abre la caja Petri con la tapa aun cubriendo parte de la superficie y se siembra la muestra en ambos agares en forma de estrillas para dejar el microorganismo en todo el agar. Los agares son luego transportados a la incubadora a una temperatura de 37°C por 24 horas para observación de su crecimiento. A las 24°C se extraen los agares de la incubadora y son analizados por colonias, cada colonia es contada y descrita. Después de este proceso se hizo análisis de Tinción Gram con las colonias que se observó mayor crecimiento. De nuevo en un área estéril o con el uso de los mecheros para proveer un área estéril se levanta la tapa de la placa de Petri y con la asa de siembra ya esterilizada se obtiene una muestra de una



de las colonias. Esta muestra se pone una laminilla, la cual tiene una pequeña gota de agua destilada para mezclarse junto con la muestra. El siguiente paso es la tinción Gram y la observación bajo el microscopio de todas las muestras para la determinación del tipo de bacterias que se obtuvieron. La tinción Gram está relacionado a la unión de colorantes violeta y safranina que contienen cationes positivos a los componentes celulares dentro de la célula bacteriana que tiene aniones negativos. La retención de los colorantes dentro del citoplasma de la célula hacen la distinción entre los dos grupos; Gram positiva (morado) y Gram negativa (rosa) (Subhash, 2009). Las bacterias fueron identificadas en base a las características de la colonia, por tinción Gram, morfología, y hemólisis. El análisis de los datos se realizó mediante estadística descriptiva.

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En los resultados obtenidos en el presente estudio (Figura 1, 2, 3 y 4) se observó crecimiento de microorganismos en un 91% del total de las muestras. En agar

sangre hubo un crecimiento de 95% y en agar MacConkey un 83% del total de las muestras respectivamente.

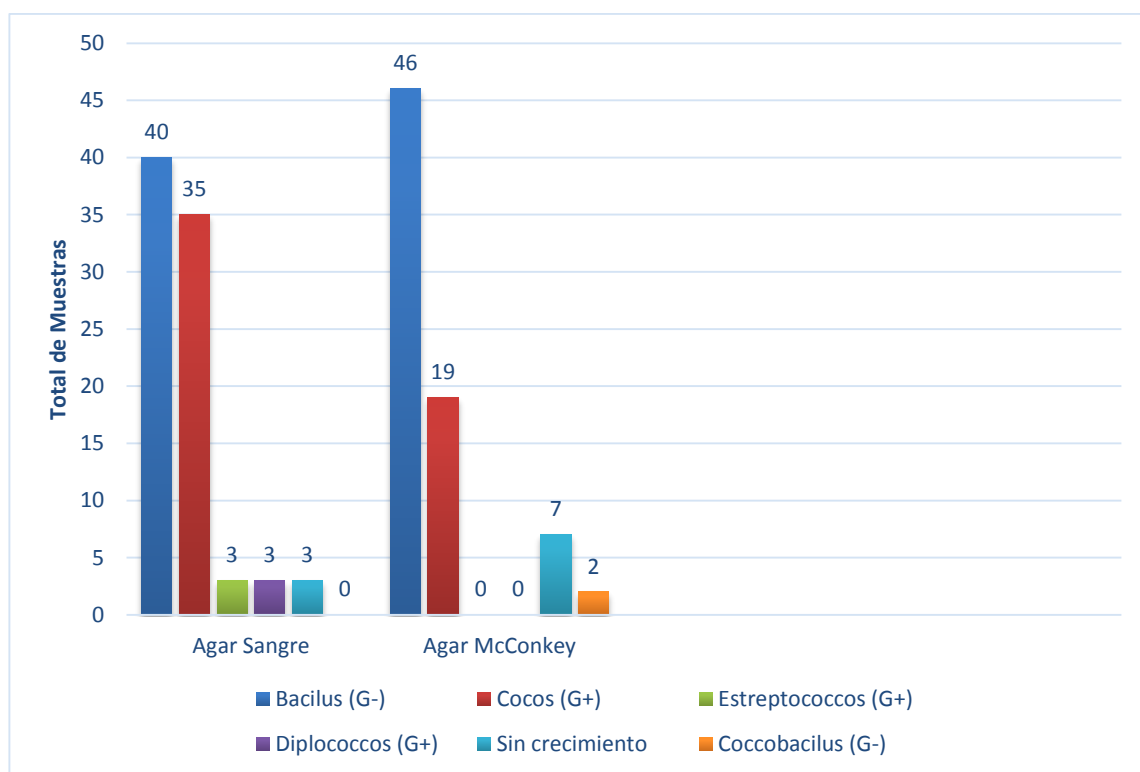


Figura 1. Microorganismos observados en descargas uterinas posparto.

Usando la tinción Gram y por observación bajo el microscopio se encontraron en 40 de las muestras microorganismos Bacilos Gram negativos, 35 de las muestras se pudo observar la presencia de microorganismos cocos Gram positivos, en tres de las muestras se encontró también estreptococos, en otras tres se observó diplococos Gram positivos.

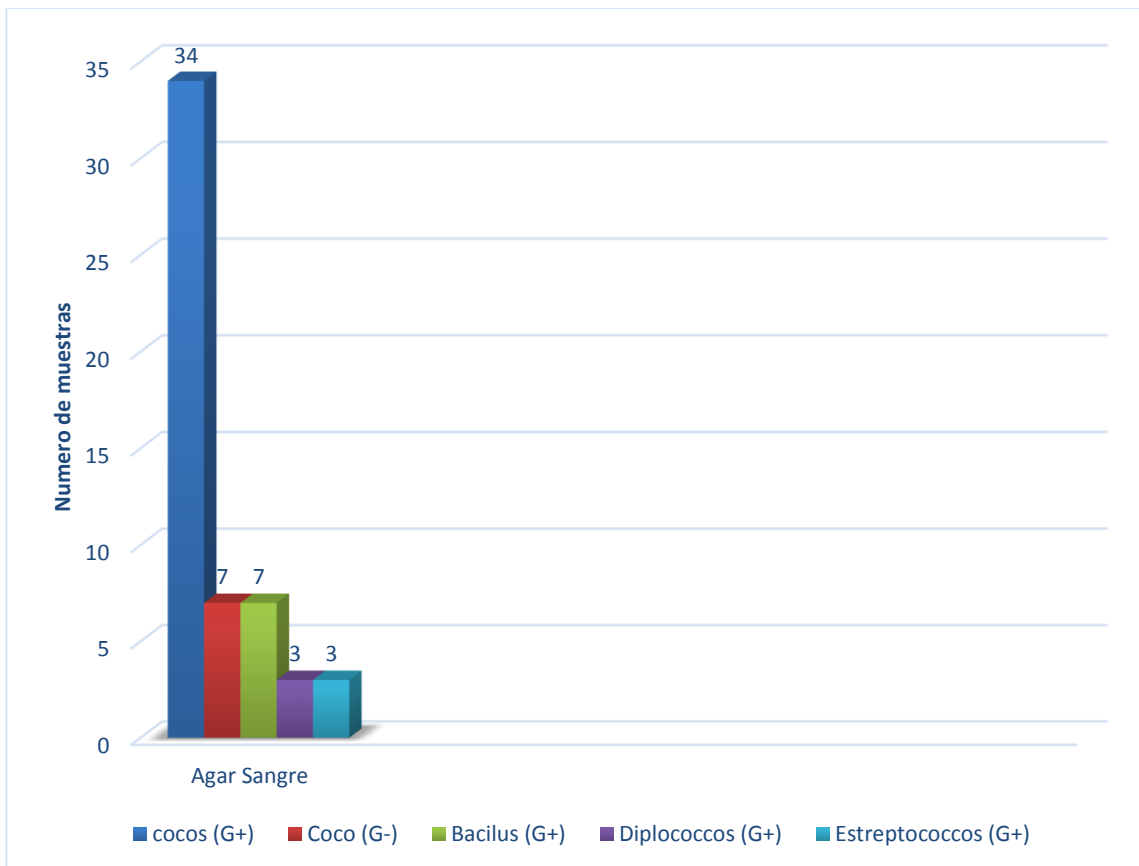


Figura 2. Microorganismos que crecieron en agar Sangre

Se observó crecimiento en agar Sangre, del cual de las colonias distintas se practicó una tinción Gram. Los resultados fueron la identificación de microorganismos cocos Gram positivo en 34 de la muestras, en 7 muestras se pudo encontrar cocos negativos y bacilos Gram negativos. También se encontraron algunos microorganismos de tipo diplococos y estreptococos en tres muestras.

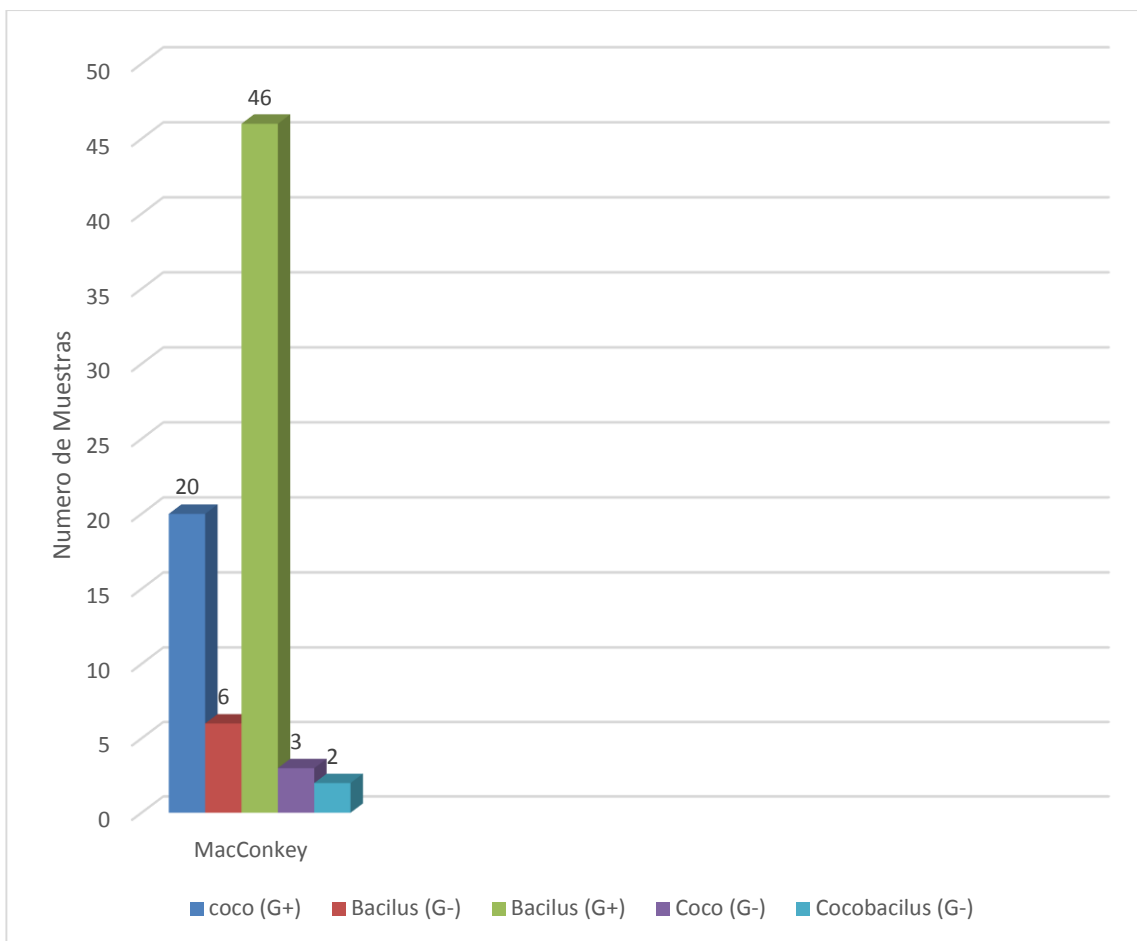


Figura 3. Crecimiento de microorganismos en agar MacConkey

Los microorganismos que se obtuvieron del agar MacConkey y se pudo observar bajo el microscopio bacilos Gram negativos, cocos Gram positivos, y cocobacilos Gram negativos. De acuerdo al estudio por Bonnet et al. (1990) en los resultados también se observó crecimiento de microorganismos Gram positivos y Gram negativos en ambos agares Sangre y MacConkey.

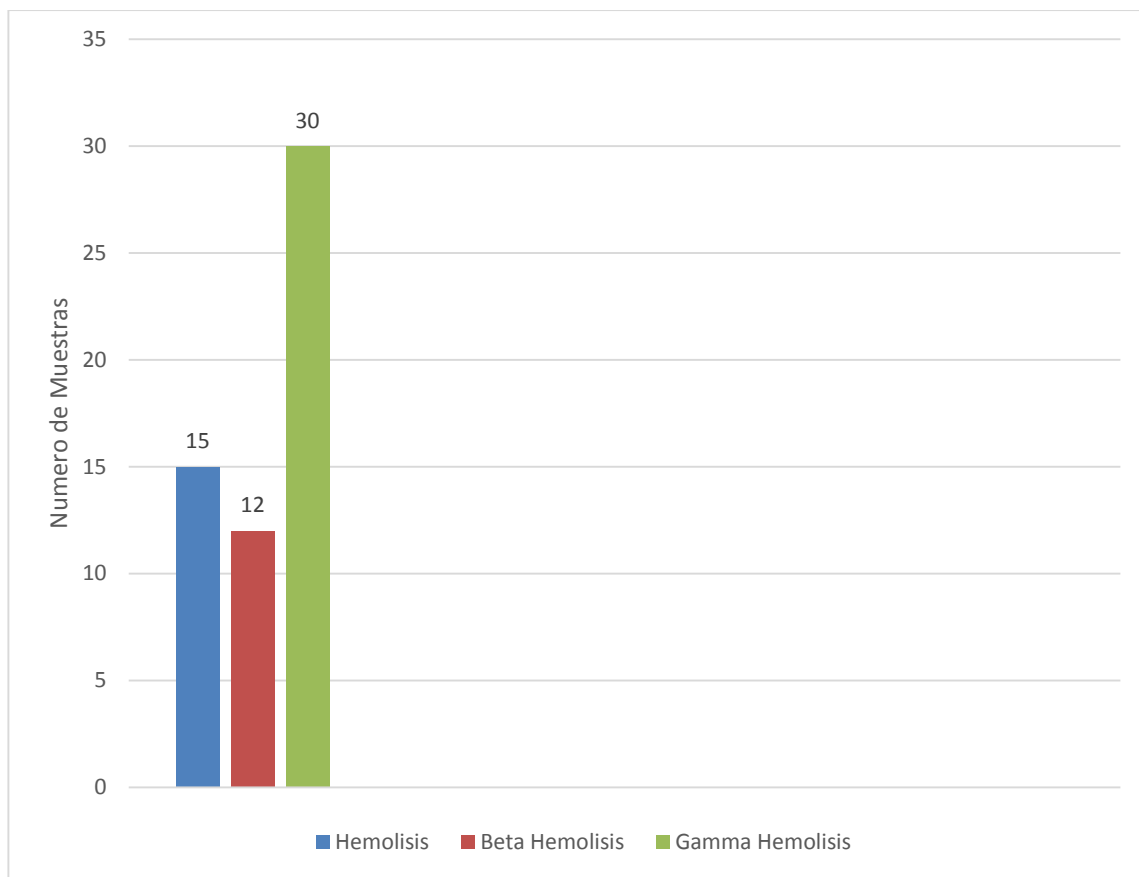


Figura 4. Reacciones hemolíticas de los microorganismos en agar Sangre

El uso de dos tipos de agares resulto eficiente, se observó desarrollo de diferentes tipos de bacterias. En el agar sangre se encontraron colonias distintas de las cuales 15 mostraron hemolisis, 12 beta hemolisis, en 30 se mostró gamma hemolisis. En comparación al estudio realizado por Sheldon et al. (2004) se reportó en su mayoría de las bacterias identificadas estreptococo alfa hemolítico.

#### **Microorganismos identificados en descarga uterina posparto**

En base a la distinción de colonias y su identificación por tinción Gram y morfología algunas de las bacterias que se encontraron fueron: *Escherichia coli* su crecimiento se encontró en ambos agares. De acuerdo al estudio por Gani et al (2008) *Escherichia coli* produjo colonias con brillo metálico en agar MacConkey

bajo la tinción Gram se observaron bacilos Gram negativos. De manera análoga, se reportó que la bacteria *Escherichia coli* causan enfermedades en tracto reproductivo de la hembra a un 40% después del parto (Sheldon *et al.*, 2010).

*Klebsiella sp.*, se identificó por colonias de distinción mucoides de color morada-rosa y convexas, bajo el microscopio con tinción Gram se observó bacilos Gram negativos. En la investigación por Xing *et al.* (2008), la bacteria *Klebsiella* se identificó en 11.5%, en donde se muestreo a 26 úteros con endometritis.

*Arcanobacterium spp.* por morfología en agar sangre fue de colonia blancas-griseas, círculos convexos. Con la tinción Gram y observación bajo el microscopio se encontraron Bacilos Gram positivos. De acuerdo al estudio por Kaczmarowski *et al.* (2003) el índice más alto de infección con *Arcanobacterium pyogenes* fue tres semanas después del parto, se demostró que las vacas con este patógeno tienen una baja reproducción y son usualmente sacrificadas por infertilidad. Los resultados reportados por Udhayavel *et al.* (2012) de diferentes especies de bacterias identificadas que incluyen *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *proteus spp.*, *pseudomonas aeruginosas*, *Clostridium spp.*

En base a los resultados obtenidos, se revelo que microorganismos Gram negativos y Gram positivos juegan un rol importante en la causa de enfermedades uterinas. Las bacterias *Escherichia coli*, *Arcanobacterium sp.* y *Klebsiella* en este estudio fueron de las bacterias identificadas. En la investigación por Barman *et al.* (2013) se revelo la presencia de microorganismos Gram positivos y Gram negativos, Aunque también reportó que organismos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* fueron los más comunes seguidos por *Escherichia coli*. La presencia variable de flora uterina después del parto es

expuesta a una variedad de contaminantes (Griffin *et al.*, 1974). En contraste a los resultados encontrados por Gani *et al.* (2008) en donde se reporte que la bacteria *Staphylococcus spp.* fue la más prominente en las muestras, produciendo colonias circulares, lisas, brillosas, opacas, amarillo dorado y mostrándose bajo tinción Gram de forma en racimos esféricos Gram positivos.

## **5. CONCLUSIONES**

Los resultados del presente estudio permiten concluir que en las descargas uterinas posparto de las vacas lecheras se pueden encontrar una variedad de microorganismos. Estos microorganismos que pueden llegar a causar varias

enfermedades uterinas como la metritis y endometritis. Sin embargo, se requiere llevara a cabo más investigaciones que permitan evaluar el impacto de las enfermedades sobre la producción y reproducción de las vacas. Por otra parte es importante estudiar el efecto de la aplicación de terapias con antibióticos sobre el control o la eliminación de las enfermedades.

## **6. LITERATURA CITADA**

Abdullah, F. F. J., Chung, E. L. T., Abba, Y., Tijjani, A., Sadiq, M. A., Mohammed, K., Osman, A. Y., Adamu, L., Lila, M. A. M y Haron, A. W. 2015. Management of Clinical Case of Endometritis in a Cow: A Case Report. *Journal of Veterinary Advances*. 5(4):888-890.



- Ball, P. J. H. y Peters, A. R. 2004. *Reproduction in cattle*. Third Edition. Blackwell Publishing Professional. Ames, Iowa, USA. 68
- Barman, P., Bangthai, Y. A. M. C. y Kumar, H. 2013. Antibioqram of bacteria isolated from bovine endometritis. *Veterinary Research International*. 1(1):20-24.
- Beagley, J. C., Whitman, K. J., Baptiste, K. E y Scherzer, J. 2010. Physiology and treatment of retained fetal membranes in cattle. *Veterinary Internal Medicine*. 24(2):261-8.
- Bonnet B. N., Martin S. W., Gannon P. J., Etherington W. G., 1990. Endometrial Biopsy in Holstein-Friesian Dairy Cows III. Bacteriological Analysis and Correlations with Histological Findings, *Can J Vet Res*, 55:168-173
- Budras, K. D. y Habel, R. E. 2003. *Bovine Anatomy*. Second Edition. Edit. Vet S. Berlin. pp86
- Burke, C. R., Meier, S., Mcdougal, S., Compton, C., Mitchell, M. y Roche, J. R. 2010. Relationships between endometritis and metabolic state during the transition period in pasture-graze dairy cows. *J. Dairy Sci*. 93:5363-5373.
- Buxton, R. 2005. Blood agar plates and hemolysis protocols, American Society for Microbiology Microbe Library. En línea: <http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/2885-blood-agar-plates-and-hemolysis-protocols> Fecha de consulta Febrero, 2016.
- Credille, B. C., Woolums, A. R., Giguere, S., Overton, M. W. y Hurley, D. J. 2014. Prevalence of bacteremia in dairy cattle with acute periparturient metritis. *J Vet Intern Med*. 28:1606-1612.
- Dhaliwal, G. S., Murray, R. D. y Woldehiwet, Z. 2001. Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatment for endometritis. *Animal Reproduction Science*. 67:136-52.
- Dobson-Hill, B. C. 2009. Uterine involution in the dairy cow: Comparative study between organic and conventional Dairy Cows. Thesis Masters. Massey University. Palmerston North. Nueva Zelanda. 1-74.
- Dubuc, J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Walton, J. S. y LeBlanc, S. J. 2010. Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. *J. Dairy Sci*. 93:5764-5771.
- Eckel, E. F. y Ametaj, B. N. 2016. Invited review: Role of bacterial endotoxins in the etiopathogenesis of periparturient diseases of transition dairy cows. *J. Dairy Sci. Article in Press*. 02(16)30276-4.

- Fernández, M. A., Silveira, P. E. A. y López, O. F. 2008. Las infecciones uterinas en la hembra bovina. *Revista Electrónica de Veterinaria*. 7(10):1-38.
- Foldi, M., Kulscar, J., Pesci, A., Huyghe, B., C. de Sa, Lohuis. J. A. C. M., Cox, P. y Huszenica, G. 2006. Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Animal Reproduction Science*. 96:265-281
- Galvao, K. N. 2013. Uterine diseases in dairy cows understanding the causes and seeking solutions. *Animal Reproduction*, 10(3):228-238.
- Galvao, N. K., Risco, C. y Santos J. 2011. University of Florida. Gainesville,FL Identifying and Treating Uterine Disease in Dairy Cows. *Veterinary Medicine-Large Animal Clinical Sciences*. VM179:1-5.
- Gani, M. O., Amin, M. M., Alam, M. G. S., Kayesh, M. E. H., Samad, M. A., y Islam, M. R. 2008. Bacterial flora associated with repeat breeding and uterine infections in dairy cows. *Bangl. J. Vet. Med*. 6(1):79-86.
- Giuliodori, M. J., Magnasco, R. P., Becu-Villalobos, D., Lacau-Mengido, I. M., Risco, C. A. y de la sota, R. L. 2013. Metritis in dairy cows: Risk factors and reproductive performance. *J. Dairy Sci*. 96:3621-3631.
- González, T. M., Rios, R. y Mattar, S. V. 2007. Prevalencia de bacterias asociadas a la infertilidad infecciosa en bovinos de montería, Columbia, *Rev. MVZ Córdoba*. 12 (2):1028-1035.
- Griffin, J. F. T., Hartigan, P. J. y Nunn, W. R. 1974. Non-specific uterine infection and bovine fertility: I. Infection patterns and endometritis during the first seven weeks post-partum. *Theriogenology*. 1(3):91-106.
- Gustafsson, H., Kornmatitsuk, B., Konigsson, K. y Kindahl, H. 2004. Peripartum and early postpartum in the cow-physiology and pathology. *In 23<sup>rd</sup> World Buiatrics Congress*. Québec Canada.
- Haynes, N. B.1978. *Keeping livestock healthy a veterinary guide to horses, cattle, pigs, goats y sheep*. 3<sup>rd</sup> Edition. Garden Way Associates. USA. 61-67.
- Heppelmann, M., Krach, K., Krüger, L., Benz, P., Herzog, K., Piechotta, M., Hoedemaker, M. y Bollwein, H. 2015. Technical note: The use of a sonomicrometry system for monitoring uterine involution in postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci*. 98(3):1862-1869.
- HiMedia Laboratories (HIMEDIA). 2011. Transport Medium, Stuart. *Technical Data*. M306. Mumbai, India. N:022-6147.

- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2009. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Francisco I. Madero, Coahuila de Zaragoza. Clave geoestadística 05009.
- Kaczmarowski, M., Malinowski, E. y Markiewicz, H. 2003. Bacteria isolated from uterus of cows with foetal membrane retained, bull. *Vet. Inst. Pulawy*. 48:33-36.
- Kallero, E. E. 2010. Uterine Physiology and Pathology in the Postpartum Period in Ethiopian Cattle. *Sveriges lantbruksuniversitet*. 42:4-24.
- Knudsen, L. R. V., Schou, K. K., Jensen, T. K. y Angen, Ø. 2014. Molecular characterization of the uterine microbiome of dairy cows suffering from endometritis, metritis, and pyometra. Thesis PhD. *Kgs. Lyngby: Technical University of Denmark*, Denmark. 1-105.
- Kohlerschmidt, D. J., Mingle, L. A. y Dumas, N. B. 2015. Identification of aerobic gram-negative bacteria. *Practical Handbook of Microbiology*. Third Edition. 77-92
- LeBlanc, S. J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Bateman, K. G., Keefe, G. P., Walton, J. S. y 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.
- Leslie, K. E. 1983. The Events of Normal and abnormal postpartum reproductive endocrinology and uterine involution in dairy cows: A Review. *Can Vet J.* 24(3):67-71.
- Lucy, M. C. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J. Dairy Sci.* 84:1277-1293.
- Madoz, L. V., Giuliadori, M. J., Migliorisi, A. L., Jaureguiberry, M. y 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(1):195-201.
- Manspeaker, J. E. 2010. University of Maryland, College Park, MD. Metritis and Endometritis. *Dairy Integrated Reproductive Management*. IRM-22:1-3.
- Miller, A. N. A., Williams, E. J., Silbey, K., Herath, S., Lane, E. A., Fishwick, J., Nash, D. M., Rycroft, A. N., Dobson, H., Bryant, C. E. y Sheldon, I. M. 2007. The effects of *Aracnobacterium pyogenes* on endometrial function in vitro, and on uterine and uterine and ovarian function in vivo. *Theriogenology*. 68:972-980.

- Moges, N., Regassa, F., Yilma, T. y Unakal, C. G. 2013. Isolation and antimicrobial susceptibility of bacteria from dairy cows with clinical endometritis. *Journal of Reproduction and Infertility*. 4(1):04-08.
- Palmer, C. 2007. Metritis postparto en vacas lecheras. *Taurus*. 9(36):20-37.
- Palmer, C. 2014. Postpartum uterine infection. In Chapter 50. *Bovine Reproduction*. First Edition. Wiley Online Library. USA.
- Potter, T. J., Guitian, J., Fishwick, J., Gordon, P.J. y Sheldon, I. M. 2010; Risk factors for clinical endometritis in postpartum dairy cattle. *Theriogenology*. 74(1):127-34
- Riffo, C. A. A. 2002. Estudio de resistencia a antimicrobianos de uso frecuentes en medicina veterinaria, de patógenos bacterianos aislados de metritis bovina en rebaños lecheros de la décima región. Tesis de Licenciatura. *Universidad Austral de Chile*. Valdivia, Chile. 1-60.
- Robichaud, D. J. y Dubuc, J. 2015. Determination of optimal diagnostic criteria for purulent vaginal discharge and cytological endometritis in cows. *J. Dairy Sci*. 98:6848-6855
- Rocha, J., Córdova-Izquierdo, A. 2008. Causas de retención placentaria en el ganado bovino. *Revista Electronica de Clinica Veterinaria*. 3(2):1-16.
- Rutter, B. 2002. Puerperio Bovino. Sitio Argentino de Produccion Animal. 1-13.
- Sánchez, L. M, González, C. C., Castañeda, S. R. y Rueda, V. M. 2011. Evaluación citológica y microbiológica de lavados uterinos en bovinos con problemas reproductivos (estudio preliminar). *Rev. MVZ Córdoba*. 16(3):2711-2720.
- Santos, T. M. A., Gilbert, G. O. y Bicalho, R. C. 2011. Metagenomic analysis of the uterine bacterial microbiota in healthy and metritic postparto dairy cows. *J. Dairy Sci*. 94:291-302.
- Scheidegger, A. G., Meléndez, R. P., Duchens, A. M. y Austin, H. J. 1993. Retención de placenta y otras alteraciones reproductivas del puerperio: su efecto sobre la fertilidad post-parto en bovinos Holstein. *Avances en Ciencias Veterinarias*. 8(1).
- Sheldon, I. M. y Dobson, H. 2004. Postpartum uterine health in cattle. *Animal Reproduction Science*. 82-83:295-306.
- Sheldon, I. M. y Noakes, D. E. 2001. Acute phase protein responses to uterine bacterial contaminación in cattle after calving. *The Veterinary Record*. 148:172-175.

- Sheldon, I. M., Cronin, J., Goetze, L., Donofrio, G. y Schuberth, H. J. 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.
- Sheldon, I. M., Lewis, G. S., LeBlanc, S. y Gilbert, R. O. 2006. Defining postparto uterine disease in cattle. *Theriogenology*. 65:1516-1530.
- Sheldon, I. M., Price, S. B., Cronin, J., Gilbert, R. O. y Gadsby, J. E. 2009. Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle. *Reproduction in domestic animals*. 44 (Suppl.) 3:1-9.
- Sheldon, I. M., Rycroft, A. N. y Zhou, C. 2004. Association between postpartum pyrexia and uterine bacterial infection in dairy cattle. *The Veterinary Record*. 154(10):289-293.
- Sheldon, I. M., Rycroft, N. A., Dogan, B., Craven, M., Bromfield, J. J., Chandler, A., Roberts, M. H., Price, S. B., Gilbert, R. O. y Simpson, K. W. 2010. Specific strains of escherichia coli are pathogenic for the endometrium of cattle and cause pelvic inflammatory disease in cattle and mice. *PLoS ONE* 5(2):e9192.
- Silva, J. H., Quiroga, M. A. y Auza, N. J. 2000. Retención placentaria en la vaca lechera. Su relación con la nutrición y el sistema inmune. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*. 15(1): 227-240
- Solorzano Z.W, Lozano Domínguez R.R, González Padilla E., 2002; Evaluación de diferentes tratamientos en el posparto temprano a vacas lecheras con infecciones uterinas, *Tec Pecu Mex*, 40(1): 105-117.
- Subhash, K. M. 2009. Gram Stain: Looking Beyond Bacteria to Find Fungi in Gram Stained Smear: *A laboratory guide for medical microbiology*. AuthorHouse. 12
- Tahua A., Hoovert F., 2012; Metritis en vacunos de leche. Monografía. Universidad Nacional Jose Faustino Sanchez Carrion. Huachu, Peru. 22-39
- Takamtha, A., Phanaratkitti, V., Adirekklet, O, Panyapornwltaya, V, Boonyayatra, S. y Kraeusukol K. 2013. Prevalence of isolated bacteria from clinical endometritis uterine and antimicrobial susceptibility in postpartum dairy cows. *Chiang Mai Veterinary Journal*. 11(3):237-245.

- Udhayavel, S., Malmarugan, S., Palanisamy, K., y Rajeswar, J. 2012. Antibiogram pattern of bacteria causing endometritis in cows. *Vet World*. 6(2): 100-102.
- Wittrock, J. M., Proudfoot, K. L., Weary, D. M. y VonKeyserling, M. A. G. 2011. Short communication: Metritis affects milk production and cull rate of Holstein multiparous and primiparous dairy cows differently. *J. Dairy Sci*. 94:2408-12.
- Xing, C., Song-hua, H. y Ting, L. 2008. Isolation and identification of pathogenic bacteria from endometritis in dairy cows and bacteriostasis of e-polylysine. *Chinese Journal of Veterinary Drug*. 10:1-5.