

*Artículo de revisión*

## **ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA EN VACAS DE TAMBO: DIAGNÓSTICO, PREVALENCIA E IMPACTO SOBRE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA**

**Subclinical endometritis in dairy cows: diagnosis, prevalence and  
impact over reproductive efficiency.**

**R. Luzbel de la Sota<sup>1,2,5</sup>, L. Vanina Madoz<sup>1,2</sup>, M. Jaureguiberry<sup>1</sup>, G. Dominguez<sup>3</sup>, A.  
L. Migliorisi<sup>1</sup>, D. Albarracín<sup>3,4</sup>, E. Alvarez<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*Catedra y Servicio de Reproducción Animal, <sup>4</sup>Catedra de Patología Especial, Facultad de Ciencias  
Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. Calle 60 y 118. B1900AVW. La Plata. BA.*

<sup>2</sup>*CONICET. Rivadavia 1917. C1033AAJ, CABA. <sup>3</sup>Práctica Privada.*

<sup>5</sup>*E-mail: [dairydoc82@gmail.com](mailto:dairydoc82@gmail.com)*

### **RESUMEN**

La endometritis subclínica (ES) es un problema económico y productivo de relativa importancia en los tambos de nuestro país. Las vacas con ES tienen disminuida notablemente su eficiencia reproductiva en la siguiente gestación, aumentando los días abiertos. Esto conlleva al aumento de los costos del tambo (honorarios, inseminaciones, tratamientos, días sin producción de leche) que impactan en la economía. El diagnóstico de elección se realiza por cepillado endometrial y conteo de neutrófilos (PMN). Se demostró que el porcentaje de PMN no varía a lo largo del ciclo estral en vacas normales sin endometritis clínica (EC), y que por lo tanto la citología endometrial, refleja los cambios inflamatorios que ocurren en el endometrio. Con porcentajes de PMN superiores al 8%, 6%, 4% y 5% a los 21-33, 34 a 47, 48 a 62 y

21 a 62 dpp se comienza a observar una disminución de la eficiencia reproductiva. El 17% de las vacas al finalizar el puerperio posee ES lo que retrasa aproximadamente un mes su concepción con respecto a las vacas sanas. Resultados preliminares de nuestro grupo indicarían que las bacterias que normalmente causan EC no serían las responsables de causar la ES; y por lo tanto la terapia con antibióticos sería una elección equivocada para su tratamiento. Por otro lado, encontramos que una de cada cuatro vacas repetidoras, presenta ES después de los 100 dpp, indicando que la ES no es solo un problema del puerperio. Es necesario que nuevos estudios se lleven a cabo con miras a desarrollar un tratamiento o manejo efectivo.

Palabras clave: *Bovinos, endometritis, diagnostico*

## INTRODUCCIÓN

El objetivo del manejo reproductivo del tambo es lograr que las vacas se preñen dentro de un intervalo rentable luego del parto (Dijkhuizen *et al.*, 1984), por lo que las intervenciones veterinarias y de manejo solo serían beneficiosas si logran preñar a las vacas en forma oportuna (LeBlanc *et al.*, 2002). Así, para que los exámenes reproductivos tengan valor, deben identificar vacas con mayor riesgo de fallar en quedar preñadas. Es importante destacar que los rechazos por causas reproductivas son uno de los principales motivos de descarte en los tambos, y que la infertilidad es la principal causa de rechazo reproductivo.

Las vacas de tambo enfrentan un gran desafío durante el postparto, debido a que es cuando poseen máximos requerimientos. Además del aumento progresivo de la producción láctea hacia el pico de lactancia, se suman la involución uterina, el retorno a la ciclicidad y el establecimiento de una nueva gestación. El diagnóstico correcto y temprano de las patologías uterinas que se presenten es de suma importancia porque permitiría actuar a tiempo y mantener así la eficiencia reproductiva del rodeo.

La endometritis es la inflamación de la capa más interna del útero, solo el endometrio es afectado y se presenta desde los 21 dpp (Sheldon *et al.*, 2006). Las endometritis se clasifican en clínica (EC) y subclínica (ES), sólo en el primer caso el animal muestra signos de enfermedad y según éstos se la divide en cuatro grados según las características que presenta el contenido uterino (F0, F1, F2 y F3) que varían desde mucoso (normal-F0), a mucoso levemente purulento, francamente purulento y purulento con olor desagradable (F1-F3) (Domínguez *et al.*, 2006; Sheldon *et al.*, 2006). Dentro de las enfermedades del postparto de las vacas lecheras, las endometritis ocupan un papel preponderante por las pérdidas económicas y productivas que ocasionan.

A diferencia de la EC, en la ES no se evidencian signos clínicos, sólo se detecta la presencia de neutrófilos (PMN) en la luz uterina sin estar acompañada de descargas uterinas anormales o

purulentas (Sheldon *et al.*, 2006). Debido a que la ES se presenta en vacas clínicamente sanas, es decir animales con flujo vaginal normal y sin signos clínicos evidentes (F0), no es normalmente diagnosticada. Esto significa que aquellas vacas que no muestran ningún indicio de enfermedad reproductiva pueden igualmente estar padeciendo ES y como consecuencia su fertilidad puede no ser la óptima.

## Metodología Diagnóstica

Distintas técnicas han sido aplicadas para el diagnóstico de ES: lavaje uterino (Gilbert *et al.*, 1998; Gilbert *et al.*, 2005a), cepillado endometrial o cytobrush (Kasimanickam *et al.*, 2004, 2005a; Lenz *et al.*, 2007), biopsia uterina (Bonnet *et al.*, 1991; Madoz *et al.*, 2014), hisopado endometrial (Studer and Morrow, 1978), histeroscopia (Madoz *et al.*, 2010) y ultrasonografía uterina (Barlund *et al.*, 2008; Kasimanickam *et al.*, 2004). De todas ellas, la mejor técnica para obtener las muestras ha demostrado ser el cepillado del endometrio (cytobrush) (Kasimanickam *et al.*, 2005a).

El diagnóstico de ES se basa en el conteo de PMN en muestras de citología endometrial, siendo positivo cuando el porcentaje encontrado de dichas células, es mayor al punto de corte utilizado para el diagnóstico (Sheldon *et al.*, 2006). El dispositivo originalmente utilizado para obtener estas muestras presenta un inconveniente para su aplicación a campo debido a que requiere la esterilización de sus partes metálicas entre cada muestra (Kasimanickam *et al.*, 2004) lo que hace muy engorroso su uso en la práctica diaria. Debido a esta desventaja, nuestro grupo de trabajo modificó el dispositivo para permitir obtener muestras endometriales en vacas de una manera más rápida y económica para el diagnóstico de ES a campo (Madoz *et al.*, 2013). Se utilizó un nuevo modelo de pistola de acero inoxidable, cuya superioridad técnica, reside en que no requiere la esterilización de las piezas entre muestreos. Utiliza cepillos ginecológicos cérvico-uterinos para Papanicolaou (Medibrush XL, Argentina) y vainas sanitarias de inseminación artificial (IMV, Francia), ambos descartables. Cambiando el cepillo y la vaina, se puede muestrear

varias vacas sin contaminación cruzada, minimizando el tiempo y los costos requeridos.

La técnica consiste en que una vez enhebrado el cérvix mediante una maniobra similar a la de IA, se dirige la pistola a un cuerno, se expone el cepillo a la superficie endometrial y se gira dos vueltas; una vez realizada dicha maniobra, el cepillo es retraído dentro de la vaina sanitaria. Inmediatamente se procede a desmontar el cepillo de la pistola, rotarlo sobre un portaobjetos y rociar sobre el mismo un fijador para la preservación de la morfología celular. Una vez en el laboratorio, se tiñen las muestras con tinción comercial diferencial rápida (Tinción 15, Biopur, Argentina). La evaluación de las muestras se realiza con microscopio óptico a 400 aumentos; se cuentan y diferencian 200 células por preparado para así obtener el porcentaje de PMN sobre células totales.

#### *Variación del diagnóstico a lo largo del ciclo estral*

Conociendo que el cepillado endometrial es la mejor técnica para la obtención de citologías uterinas y que refleja en forma práctica los cambios a nivel endometrial, se planteó la necesidad de estudiar las variaciones del porcentaje de PMN durante el ciclo estral con el objeto de validar la técnica diagnóstica y poder descartar la posibilidad de resultados falsos positivos debidos a variaciones fisiológicas de PMN. Para esto, se seleccionaron y sincronizaron vacas Holstein (n=30) mediante un protocolo de Ovsynch. Se tomaron muestras de citología endometrial de todos los animales sincronizados (n=17) los días 0 (estro), 4 (metaestro), 11 (diestro) y 18 (proestro) del ciclo estral, junto con éstas se obtuvo sangre para la medición de progesterona sérica.

Las concentraciones séricas de progesterona halladas en las vacas sincronizadas, demostraron claramente la efectividad del protocolo utilizado (d0,  $0,42 \pm 0,42$ ; d4,  $1,16 \pm 0,43$ ; d11,  $4,69 \pm 0,44$ ; d18,  $2,85 \pm 0,46$  ng/ml;  $P < 0,01$ ). Todas las vacas muestreadas resultaron negativas a ES y no se encontraron diferencias significativas en el % PMN entre los diferentes días del ciclo estral ( $1,51 \pm 0,50$ ,  $P > 0,64$ ). El porcentaje de PMN nunca superó el 2%, demostrando que el porcentaje de PMN no

varía a lo largo del ciclo estral en vacas normales sin EC, y que por lo tanto el diagnóstico de ES por la técnica de cytobrush refleja los cambios inflamatorios que ocurren en el endometrio.

#### **Determinación de los puntos de corte para el diagnóstico**

El principal problema que se presentaba para el diagnóstico de ES estaba relacionado con una falta de consenso general entre investigadores en los puntos de corte para diferenciar entre vacas sanas y vacas con ES.

Según gran parte de las publicaciones, se podría considerar que en ausencia de EC una vaca debe ser diagnosticada positiva a ES cuando la citología endometrial presenta  $\geq 18\%$  PMN para muestras tomadas entre los 21-33 dpp, o  $\geq 10\%$  PMN para muestras entre 34-47 dpp; (Kasimanickam *et al.*, 2004; Sheldon *et al.*, 2006). A pesar de que esto, no existe un consenso total, variando los valores de corte entre 4 y 25% PMN (Galvão *et al.*, 2009 ; Hammon *et al.*, 2006). Para seleccionar dicho valor umbral, algunos estudios usaron curvas ROC para su determinación (Galvão *et al.*, 2009 ; Kasimanickam *et al.*, 2004), mientras que otros utilizaron cuartiles (McDougall *et al.*, 2011) y otros, valores arbitrarios (Gilbert *et al.*, 2005b; Hammon *et al.*, 2006; Plontzke *et al.*, 2010). Cabe destacar que el uso de una curva ROC (acrónimo de Receiver Operating Characteristic, o Característica Operativa del Receptor) es probablemente el método más adecuado para el cálculo de dichos valores de corte debido a que, por un lado permite buscar el punto de máxima sensibilidad y especificidad, y por el otro permite correlacionar el porcentaje de PMN con el intervalo parto concepción (IPC). Sumado a estas diferencias, los estudios existentes presentaban variaciones en los momentos de muestreo (dpp) y en la técnica diagnóstica utilizada, todo esto en conjunto hacía que los resultados obtenidos en estudios de ES sean de muy difícil comparación. Esto se complicaba más aún, al extrapolar datos reproductivos relacionados con ES de animales bajo sistemas de explotación estabulados a nuestro sistema de producción pastoril ya que la prevalencia de ES en Argentina, -al igual de lo que

sucede con la EC, es más baja que en Europa y en Norteamérica, muy probablemente debido a las diferencias en los sistemas de producción.

Debido a esto, llevamos a cabo un estudio con 487 vacas clínicamente sanas que se encontraban entre los 21 y 62 dpp. Se tomaron y evaluaron muestras de citología endometrial mediante la técnica descripta. Con los datos obtenidos, se determinaron los puntos de corte mediante la utilización de curvas ROC. Se identificaron como puntos de cortes a  $\geq 8\%$  PMN para el intervalo 21-33 dpp,  $\geq 6\%$  PMN para 34-47 dpp,  $\geq 4\%$  para 48-62 dpp y  $5\%$  para 21-62 dpp. Por lo tanto, vacas clínicamente sanas que presenten porcentajes de PMN superiores a estos umbrales, comienzan a manifestar una disminución de su eficiencia reproductiva. Los valores de corte calculados en este trabajo fueron inferiores a los calculados en Canadá,  $18\%$  y  $10\%$  (Kasimanickam *et al.*, 2004) pero muy similares a los usados en USA por Gilbert,  $5\%$  (Gilbert *et al.*, 2005a), Galvão  $8.5$ ,  $6.5$  y  $4.0\%$  (Galvão *et al.*, 2009) y en Alemania por Raab,  $5\%$  (Raab *et al.*, 2004).

#### *Prevalencia e impacto sobre la eficiencia reproductiva*

El porcentaje de vacas positivas a ES dentro de un grupo de vacas clínicamente sanas (prevalencia) encontrada en distintos estudios varía ampliamente desde  $12\%$  (Barlund *et al.*, 2008) hasta un  $50\%$  (Galvão *et al.*, 2009; Gilbert *et al.*, 2005b; Hammon *et al.*, 2006). Según datos obtenidos por nuestro grupo de trabajo, en tambos de Argentina bajo condiciones de pastoreo, la prevalencia de ES en vacas clínicamente sanas es de  $17\%$  (21-62 días postparto, Madoz *et al.*, 2013).

En estas vacas positivas a ES, se encontró una reducción significativa en el porcentaje de preñez a la primera inseminación ( $16,2\%$ ), del porcentaje de preñez a los 100 dpp ( $16,8\%$ ) comparado con las vacas normales ( $P < 0,02$ ,  $P < 0,01$ ; respectivamente) y un aumento del  $7\%$  del porcentaje de vacas vacías a los 200 dpp ( $P < 0,10$ ). Además las vacas sanas tendieron a preñarse más precozmente que las vacas con ES (mediana de días de vacía =  $94$  vs  $123,5$  d,  $P = 0,006$ ) y por lo tanto a utilizar un menor número de servicios por concepción, demostrando

que las vacas sin ES se preñan antes que las vacas con ES ( $P < 0,01$ ; Madoz *et al.*, 2013). Este aumento en los días de vaca vacía representaría una pérdida económica de U\$44.3 a U\$82.6 por vaca/lactancia; que llevado al rodeo nacional en ordeño, representaría un costo de 11 a 20.5 millones de dólares anuales.

El efecto negativo de la ES encontrado en vacas en Argentina, coincide con muchos de los estudios llevados a cabo bajo sistemas estabulados. Dentro de éstos, dos estudios (que utilizaron curva ROC para la determinación de los puntos de corte) informaron aumentos de entre 30 a 60 días en el IPC para aquellas vacas que presentaban ES (Galvão *et al.*, 2009 ; Kasimanickam *et al.*, 2004).

#### *Diagnóstico Bacteriológico*

Los mecanismos por los cuales la ES disminuye la fertilidad no están completamente comprendidos, así como tampoco quien/es la producen. Hill and Gilbert (2008), postularon que la ES podría alterar la calidad del embrión y favorecer de esta forma las muertes embrionarias tempranas. Otros autores sugieren que las bacterias presentes en la endometritis clínicapodrían participar en la ES (Kasimanickam *et al.*, 2005b). Contrariamente a esto, en un estudio bacteriológico preliminar de casos de ES realizado por nuestro grupo de trabajo no se obtuvieron aislamientos de bacterias aerobias ni anaerobias de vacas con ES.

Una explicación posible podría ser que para el momento en que la ES fue diagnosticada, las bacterias ya hayan sido eliminadas del útero por los mecanismos de defensa mientras que la respuesta inflamatoria del útero se encontraba aún en proceso de retroceso hacia la normalidad. Esta postura está de acuerdo con Baranski *et al.* (2012) quien postuló que el porcentaje de PMN por encima del punto de corte de ES se encuentra más relacionado con la involución uterina que con una infección bacteriana. Sumado a esto, en otro estudio llevado a cabo por McDougall *et al.* (2011) también se encontró poco grado de acuerdo entre la presencia de patógenos uterinos y presencia de PMN.

Si bien se han probado distintos tratamientos para la ES, lamentablemente en la actualidad no existe un tratamiento con efectividad demostrada para tratar estas vacas y disminuir el impacto negativo que causa la ES sobre la reproducción. La falta de aislamientos obtenidos en nuestro estudio indicaría que el tratamiento con antibióticos no debería ser el de elección. Es necesario que nuevos estudios se lleven a cabo con miras a desarrollar un tratamiento o manejo efectivo. Por ello hoy la prevención es la herramienta más eficaz para evitar este problema del tambo.

#### *Endometritis subclínica en vacas repetidoras*

Las vacas repetidoras (VR) son un grupo heterogéneo de vacas subfértiles que al examen clínico no poseen anormalidades anatómicas macroscópicas o evidencia de infecciones del tracto reproductivo (Casida, 1961; Perez-Marín and Espana, 2007). En la práctica diaria, en la mayoría de los casos es muy difícil llegar a un diagnóstico certero de la causa de subfertilidad y generalmente las VR terminan siendo refugadas del rodeo luego de repetidas inseminaciones e infructuosos tratamientos con un alto costo para el productor.

La etiología de la VR incluye una gran combinación de factores, entre ellos, un ambiente uterino subóptimo contribuye a la infertilidad debido a que favorece las muertes embrionarias tempranas (Hill and Gilbert, 2008; Walsh *et al.*, 2011). En la VR luego de descartar las causas conocidas de infertilidad infecciosa y no infecciosa, sólo quedarían las enfermedades subclínicas como causantes de la baja eficiencia reproductiva de estos vientres. Según datos preliminares de nuestro grupo, la prevalencia de ES es notablemente mayor en VR (25%,  $\geq 5\%$  PMN) (Jaureguiberry *et al.*, 2013) que lo encontrado en vacas al fin del puerperio clínico (17%) (Madoz *et al.*, 2013). Este hallazgo fue sorprendente, ya que se pensaba que la ES era sólo un problema del puerperio. En otro estudio, el cual fue llevado a cabo en condiciones de estabulación, la prevalencia de ES encontrada fue de 52,7% ( $\geq 3\%$  PMN) y se encontró una marcada reducción en la tasa de concepción en la siguiente IA (47% vacas sin ES vs. 5% para vacas con ES) (Salasel *et al.*, 2010), notablemente mayor

que lo encontrado por Jaureguiberry *et al.* (2013) en Argentina bajo condiciones pastoriles (30% vacas sin ES vs 23% vacas con ES).

## AGRADECIMIENTOS

A la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria de la República Argentina por haber galardonado el presente trabajo con el 1ra Mención del Premio Biogénesis Bagó Versión 2013.

## REFERENCIAS

- Baranski, W., Podhalez-Dziegielewska, M., Zdunczyk, S., Janowski, T. The diagnosis and prevalence of subclinical endometritis in cows evaluated by different cytologic thresholds. *Theriogenology*, 2012; 78, 1939-1947.
- Barlund, C.S., Carruthers, T.D., Waldner, C.L., Palmer, C.W. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology* 2008; 69, 714-723.
- Bonnet, B., Miller R, R., Etherington, W., Martin, S., Johnson, W. Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows I. *Can J Vet* 1991; 55, 155-161.
- Casida, L. Present status of the repeat breeder cow problem. *J Dairy Sci* 1961; 44, 2323-2329.
- Galvão, K., Frajblat, M., Brittin, S., Butler, W., Guard, C., Gilbert, R. Effect of prostaglandin F2 $\alpha$  on subclinical endometritis and fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2009; 92, 4906-4913.
- Gilbert, R.O., Shin, S.T., Guard, C.L., Erb, H. Incidence of endometritis and effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 1998; 49, 1.
- Gilbert, R.O., Shin, S.T., Guard, C.L., Erb, H.N., Frajblat, M. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 2005; 64, 1879-1888.
- Gilbert, R.O., Shin, S.T., Guard, C.L., Erb, H.N., Frajblat, M. Prevalence of endometritis

- and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 2005; 64, 1879-1888.
- Hammon, D.S., Evjen, I.M., Dhiman, T.R., Goff, J.P., Walters, J.L. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Vet Immunol Immunopathol* 2006; 113, 21-29.
  - Hill, J., Gilbert, R. Reduced quality of bovine embryos cultured in media conditioned by exposure to an inflamed endometrium. *Australian veterinary journal* 2008; 86, 312-316.
  - Jaureguiberry, M., Mang, A., Madoz, L., Álvarez, E., Chiabone, R., Díaz Pernía, T.h., Díaz Pernía T, Pecoraro, M., Drillich, M., De la Sota, R. 2013. Diagnóstico y tratamiento de vacas repetidoras con y sin endometritis subclínica en tambos de la cuenca abasto sur. In: *IX Simposio Internacional de Reproducción Animal. IRAC., Córdoba, 2013*; 349.
  - Kasimanickam, R., Duffield, T.F., Foster, R.A., Gartley, C.J., Leslie, K.E., Walton, J.S., Johnson, W.H. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 2004; 62, 9-23.
  - Kasimanickam, R., Duffield, T.F., Foster, R.A., Gartley, C.J., Leslie, K.E., Walton, J.S., Johnson, W.H. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *The Canadian veterinary journal. La revue veterinaire canadienne* 2005a; 46, 255-259.
  - Kasimanickam, R., Duffield, T.F., Foster, R.A., Gartley, C.J., Leslie, K.E., Walton, J.S., Johnson, W.H. The effect of a single administration of cephapirin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. *Theriogenology* 2005b; 63, 818-830.
  - Lenz, M., Drillich, M., Heuwieser, W. [Evaluation of the diagnosis of subclinical endometritis in dairy cattle using ultrasound]. *Berliner und Munchener tierärztliche Wochenschrift* 2007; 120, 237-244.
  - Madoz, L.V., De la Sota, R.L., Suzuki, K., Heuwieser, W., Drillich, M. Use of hysteroscopy for the diagnosis of postpartum clinical endometritis in dairy cows. *The Veterinary record* 2010; 167, 142-143.
  - Madoz, L.V., Giuliadori, M.J., Jaureguiberry, M., Plontzke, J., Drillich, M., de la Sota, R.L., The relationship between endometrial cytology during estrous cycle and cutoff points for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *J Dairy Sci* 2013; 96, 4333-4339.
  - Madoz, L.V., Giuliadori, M.J., Migliorisi, A.L., Jaureguiberry, M., de la Sota, R.L. Endometrial cytology, biopsy, and bacteriology for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *J Dairy Sci* 2014; 97, 195-201.
  - McDougall, S., Hussein, H., Aberdein, D., Buckle, K., Roche, J., Burke, C., Mitchell, M., Meier, S. Relationships between cytology, bacteriology and vaginal discharge scores and reproductive performance in dairy cattle. *Theriogenology* 2011; 76, 229-240.
  - Perez-Marin, C.C., Espana, F. Oestrus expression and ovarian function in repeat breeder cows, monitored by ultrasonography and progesterone assay. *Reproduction in domestic animals = Zuchtthygiene* 2007; 42, 449-456.
  - Plontzke, J., Madoz, L.V., De la Sota, R.L., Drillich, M., Heuwieser, W. Subclinical endometritis and its impact on reproductive performance in grazing dairy cattle in Argentina. *Anim Reprod Sci* 2010; 122, 52-57.
  - Raab, D., Drillich, M., Heuwieser, W. Diagnosis of subclinical endometritis and its effects on reproductive performance. In: *36th Annual Conference of the AABP*, Columbus, Ohio. USA. , 2004;166.
  - Salasel, B., Mokhtari, A., Taktaz, T. Prevalence, risk factors for and impact of subclinical endometritis in repeat breeder dairy cows. *Theriogenology* 2010; 74, 1271-1278.
  - Sheldon, I.M., Lewis, G.S., LeBlanc, S., Gilbert, R.O. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 2006; 65, 1516-1530.
  - Studer, E., Morrow, D.A. Postpartum evaluation of bovine reproductive potential: comparison of findings from genital tract examination per rectum, uterine culture, and endometrial biopsy. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1978; 172, 489-494.

- Walsh, S.W., Williams, E.J., Evans, A.C. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2011; 123, 127-138.