

Metritis en vacas lecheras: Factores de riesgo y eficiencia reproductiva

Giuliodori M.J.⁽¹⁾, Magnasco, R.P.⁽²⁾, Becu-Villalobos, D.⁽³⁾, Lacau-Mengido I.M.⁽³⁾, Risco C.A.⁽⁴⁾ y de la Sota R.L.^(5,6,7)

Resumen

Los objetivos del presente trabajo fueron evaluar los factores de riesgo de metritis, los efectos productivos y reproductivos de la metritis y la eficiencia de la terapia con Ceftiofur en vacas lecheras (n=303). Vacas con metritis (clínica y puerperal) recibieron aleatoriamente 2,2 mg de Ceftiofur/kg x 3 d consecutivos o permanecieron como controles sin tratar. Se determinaron las concentraciones de metabolitos y hormonas metabólicas en sangre. Los datos se analizaron con los procedimientos MIXED, GENMOD, PHREG y LIFETEST de SAS. El riesgo de metritis aumentó con los problemas al parto (RP= 2,58) y con los AGNE (RP= 1,001) y disminuyó con los IGF-1 (RP= 0,650). La tasa de curación fue similar para los grupos tratado y control (~70%, P>0,10) pero incrementó en aquellas vacas con CC $\geq 2,75$, B-hidroxibutirato <2,75 mg/dl e insulina $\geq 1,90$ ng/ml. Las vacas con metritis produjeron menos leche acumulada a los 90 d y tardaron unos 50 d más en quedar preñadas. En conclusión, los partos anormales y el balance energético negativo (BEN) incrementan el riesgo de metritis. A su vez, el BEN también reduce la chance de curación. Finalmente, la terapia con Ceftiofur durante 3 d no es efectiva para tratar la metritis.

Palabras clave: vaca lechera; metritis puerperal; factores de riesgo; eficiencia reproductiva.

Metritis in dairy cows: Risk factors and reproductive performance

Summary

The objectives of this study were to assess the risk factors for metritis, its effects on milk yield and on reproductive performance, and the efficacy of ceftiofur therapy in Holstein dairy cows (n=303). Cows having clinical metritis (CM) and puerperal metritis (PM) were randomly assigned to control (no treatment) or ceftiofur group (2.2 mg/kg x 3 consecutive days). Blood samples were analyzed for metabolites and metabolic hormones. Data were analyzed with PROC MIXED, GENMOD, PHREG and LIFETEST from SAS. The risk for metritis increased with calving problems (OR [odds ratio] = 2.58), and with NEFA levels (OR= 1.001), and decreased with IGF-1 (OR= 0.65). Cure rates were similar for control and treated cows (~70%, P>0.10), and increased in those cows having BCS ≥ 2.75 , B-hydroxybutyrate <2.75 mg/dl and insulin ≥ 1.90 ng/ml. Cows with metritis produced less milk by 90 days than healthy cows. Cows with PM took 51 days longer to get pregnant than healthy cows. In conclusion, abnormal calving and negative energy balance (NEB) are associated with increased risk for metritis. In addition, NEB also impairs cure rate. Ceftiofur therapy for 3 days is not effective for the treatment of metritis.

Key Words: dairy cow; puerperal metritis; risk factor; reproductive performance.

(1) Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP), La Plata, B1900AVW, Argentina.

(2) Estudio Magnasco, Canals, Córdoba, X2650BXC, Argentina.

(3) Instituto de Biología y Medicina Experimental - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (IByME-CONICET), Buenos Aires, C1428ADN, Argentina.

(4) Large Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine - University of Florida, Gainesville, FL 32611, USA.

(5) Cátedra y Servicio de Reproducción Animal, FCV-UNLP, La Plata, B1900AVW, Argentina.

(6) CONICET, Buenos Aires, C1033AAJ, Argentina.

(7) E-mail: luzbel@fcv.unlp.edu.ar

Recibido: 4 de septiembre de 2013.

Aceptado: 21 de noviembre de 2013.

Taurus Año 15 N° 60: 12-21

Introducción

La metritis es un trastorno importante en las vacas lecheras postparto que puede afectar hasta un 40% de los animales y que además, genera importantes pérdidas productivas y reproductivas^(16, 17). Si bien existe una vasta bibliografía sobre el tema, los criterios de definición de la enfermedad varían entre estudios, lo que dificulta la comparación entre trabajos. Afortunadamente, en años recientes se estandarizó la definición de la metritis. De modo que, la presencia de un útero agrandado con descarga vaginal (DV) fétida, acompañada de fiebre y otros signos sistémicos de enfermedad dentro de los 21 días postparto (dpp) se considera como metritis puerperal (MP); mientras que cuando la presencia del útero agrandado y de la DV fétida no se acompaña de fiebre y ningún otro signo sistémico de enfermedad se considera que la vaca presenta metritis clínica⁽³⁹⁾.

Entre los factores de riesgo se han descripto a los problemas al parto tales como la distocia, la retención de placenta y los natimortos^(9, 19), y más recientemente, se han identificado al bajo consumo de materia seca^(24, 46) y a los altos niveles preparto de ácidos grasos no esterificados (AGNE)^(14, 35). Por otra parte, existe un acuerdo generalizado en que es necesario tratar a las vacas afectadas debido al riesgo de muerte que representa la enfermedad, pero los criterios empleados para evaluar el éxito terapéutico han sido muy poco consistentes entre los diferentes autores⁽²⁸⁾. Como tratamiento de elección se sugieren al Ceftiofur (1-2 mg/kg IM en una aplicación diaria) y a la penicilina procaínica (21.000 IU/kg IM en dos aplicaciones diarias) durante 3-5 d^(9, 12, 40). Con el Ceftiofur se ha logrado una remisión de la fiebre de cerca del 70% pero no así de la DV fétida que se ha reducido a aproximadamente el 40%^(8, 12). Además, la mayoría de los estudios han usado controles positivos, es decir, han comparado la eficacia de los antibióticos entre sí, por lo que faltaría información sobre la tasa de auto-curación de los animales que no reciben terapia antibiótica (controles negativos). En estos trabajos tampoco se ha analizado la eficiencia productiva y reproductiva de los animales tratados, por tanto, se desconoce el efecto del tratamiento sobre estos aspectos y sobre la presentación de otras enfer-

medades relacionadas, como ser la endometritis⁽²⁸⁾. Los objetivos del presente trabajo son: 1- evaluar los factores de riesgo de la metritis, 2- estimar el valor predictivo, a nivel individual, de los indicadores de balance energético (BE) para la metritis, 3- determinar los efectos de la metritis sobre la producción de leche y la eficiencia reproductiva, 4- medir la eficacia de la terapéutica con Ceftiofur en la curación clínica y en la productividad de los animales, 5- analizar la tasa de auto-curación postparto, y finalmente, 6- cuantificar los efectos de la metritis sobre los indicadores del BE.

Materiales y métodos

Animales y tratamientos

El estudio se realizó en un tambo comercial ubicado en Ordoñez, provincia de Córdoba, Argentina (32°49' Sur, 62°52' Oeste) en el que se evaluaron vacas Holando Argentino (n=303) de parición otoñal. Durante el preparto (tres semanas anteriores a la de la fecha probable de parto), los animales se mantuvieron en corrales en los que se los monitoreaban los signos de parto. En los primeros tres dpp se alojaron en el corral de vacas recién paridas; el cuarto dpp, si estaban saludables, se trasladaron al rodeo en lactancia. Allí, se las alimentaba cuatro veces por día con raciones totalmente mezcladas y formuladas para cubrir los requerimientos establecidos por el NRC⁽³³⁾. Se realizaron tres ordeñes diarios (04:00, 12:00 y 20:00 h). La producción de leche ajustada a 305 d era de 8488±104 kg. Después de un período de espera voluntario de 40 d, las vacas que tenían el alta reproductiva postparto recibieron una inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) con el siguiente protocolo: el d 41±3 se les insertó un dispositivo intravaginal con 1g de progesterona (DIB®, Syntex SA) y se les administraron 50 µg de lecirilina (GnRH, Gonasyn®, Syntex SA); el d 48±3 se les removió el dispositivo y se les suministraron 150 µg de cloprostenol (PGF, Ciclase®, Syntex SA); el d 50±3 se les administraron 50 µg de GnRH, y el d 51±3 se les inseminó (+16 h). El diagnóstico de gestación se realizó mediante palpación rectal aproximadamente 35 d después de la IATF. La historia productiva y reproductiva de todas las vacas involucradas en el estudio se obtuvo de los registros del establecimiento.

Muestreo

Se determinó un tamaño de muestra de 151 animales por grupo de tratamiento (control vs. tratado) para lograr detectar una diferencia de 15 puntos de porcentaje en las prevalencias de metritis de los grupos control y tratado (40% vs. 25%), con un nivel de confianza del 95% y un poder del 80% mediante el uso del programa WinEpiscope 2.0⁽⁴⁵⁾. Las vacas se muestrearon durante los d -14±3, 5, 6, 7, 21, 31, 41 y 50 en relación al parto (d = 0). En todas esas evaluaciones se midió la condición corporal (CC) con una escala de 5 puntos⁽¹⁵⁾ y se obtuvo una muestra de sangre por punción coccígea con agujas 16G x 1 ½ y jeringas de 10 ml. Las muestras se colectaron en tubos de 10 ml que contenían EDTA-Na₂ al 10% y se mantuvieron en baño helado durante el muestreo. Dentro de las 4 h de obtenidas, se separaron los plasmas por centrifugación y se almacenaron en tubos Eppendorf de 1,5 ml (2/muestra) a -20°C hasta el momento de su análisis. Se evaluó, mediante inspección directa, la DV obtenida con mano enguantada con el procedimiento descrito por Sheldon y col.⁽³⁹⁾ durante los dpp 5, 6, 7, 21, 31 y 41. La DV se categorizó de la siguiente manera: DV0= normal, clara y translúcida; DV1= con flóculos de pus; DV2= moco purulento sin olor fétido; y DV3= moco marrón-rojizo acuoso o purulento con olor fétido (Adaptada de 8). Además, durante los dpp 5-7 se registró la temperatura rectal con termómetro clínico de vidrio y se usó un valor >39,2°C como indicativo de fiebre⁽⁴¹⁾.

Criterios de diagnóstico

Se consideraron casos de MP a las vacas que presentaron DV3 y >39,2°C 5-7 dpp y de MC a las que con DV3 tuvieron <39,2°C. Se diagnosticó endometritis clínica (EC) en las vacas que mostraron DV1, 2 y 3 de los 21 dpp en adelante⁽³⁹⁾.

Ensayo de Ceftiofur

Las vacas diagnosticadas con MP y MC en los 5-7 dpp se asignaron, con un diseño completamente aleatorizado, al grupo tratado (n=60) donde recibieron Ceftiofur durante 3 d consecutivos (2,2 mg/kg PV, Ceobiotic[®], Tecnofarm SRL) o al grupo control (n=59) donde actuaron como control negativo (sin tratamiento). La curación se estimó mediante la evaluación directa de la DV 21 dpp

como se describió anteriormente. La curación se declaró cuando se observaba DV0-2 (no fétidas).

Análisis de laboratorio

Se seleccionaron al azar las muestras de plasma sanguíneo de 110 vacas para determinar su concentración de metabolitos y a su vez, dentro de esas se eligió aleatoriamente una sub-muestra de 50 vacas para determinar concentración de hormonas metabólicas. Se determinaron los siguientes metabolitos con reactivos comerciales: los AGNE con el kit NEFA-HR^{(2)®} (Wako Chemicals, Richmond, VA 23237, USA), el β-hidroxi-butilato (BHB) con el kit Ranbut RB 1007[®] (Randox Laboratories Ltd, UK) y el nitrógeno ureico en plasma (NUP) con el kit Urea Color-2[®] (Wiener Lab, Rosario, Argentina). Los coeficientes de variación intra-ensayo fueron de 5,7, 6,3 y 6,5%, respectivamente. Los coeficientes de variación inter-ensayo fueron de 7,1, 7,6 y 7,8%, respectivamente. La concentración de metabolitos se expresa en μM para AGNE y BHB, y en mg/dL para el NUP. Se determinaron las siguientes hormonas (péptido similar a la insulina tipo 1 [IGF-1], insulina y leptina) mediante RIAs validados previamente descriptos^(2, 11, 27). Brevemente, el RIA de IGF-1 se realizó, previa extracción en etanol-ácido y crio-precipitación, con anticuerpo para IGF-1 (UB2-495, Hormone Distribution Program of the NIDDK). Los coeficientes de variación intra- e inter-ensayo fueron de 7,2, y 8,8%, respectivamente. El RIA de insulina se realizó con anticuerpo anti-insulina bovina (Laboratorios Beta, Buenos Aires, Argentina). Los coeficientes de variación intra- e inter-ensayo fueron de 6,8, y 8,9%, respectivamente. Por último, el RIA de leptina se realizó con el método del doble anticuerpo, con antisuero específico ovino⁽¹⁰⁾ y leptina recombinante bovina (DS Labs, Webster, Texas, USA,³). Los coeficientes de variación intra- e inter-ensayo fueron de 6,7, y 9,0%, respectivamente. La concentración de las hormonas metabólicas se expresa en ng/mL.

Análisis estadístico

Los datos se muestran como medias cuadradas mínimas ± error estándar (MMC±ES). La significación estadística se fijó en P<0,05 y la tendencia en P<0,10. Se utilizó una combinación de dos diseños, el completamente aleatorio y el de medi-

ciones repetidas en el tiempo, donde se consideró a la vaca como la unidad experimental.

Los riesgos de metritis, de curación y la eficiencia reproductiva se analizaron con el procedimiento GENMOD de SAS 9.1⁽³⁷⁾ con una distribución binomial y un enlace logit. Los modelos logísticos incluyeron los efectos fijos del número de partos (primíparas vs. múltiparas), del tipo de parto (normal vs. anormal [parto anormal incluyó distocia, retención de placenta y natimorto]), de la metritis (sin metritis vs. MP vs. MC), del Ceftiofur (si vs. no) donde es apropiado y de las interacciones de segundo orden. El modelo que evaluó el riesgo clínico de metritis incluyó sólo los efectos fijos del número de partos y del tipo de parto, mientras que el usado para evaluar el riesgo metabólico involucró los efectos de la CC, de los metabolitos (AGNE, BHB y NUP) y de las hormonas metabólicas (IGF-1, insulina y leptina) 14 ± 3 d preparto. Por último, los modelos logísticos que estudiaron el efecto de la metritis sobre la eficiencia reproductiva también fueron controlados por el efecto de la EC. Todas las modelizaciones se realizaron mediante el método de eliminación manual de variables con un criterio de exclusión fijado en $P > 0,2$. El efecto de las variables predictivas continuas (i.e.: tiempo) se corrigió con la siguiente fórmula: $\beta * \pi_i(1-\pi_i)$, donde β es el coeficiente de regresión para la variable predictiva y π_i es la probabilidad de la variable respuesta (i.e.: curación,¹).

Los análisis de las curvas características operativa del receptor (COR) se realizaron con el Sigmaplot 10.0⁽⁴⁴⁾. La curva COR analiza sensibilidad vs. 1-especificidad. La sensibilidad es la proporción de vacas con metritis que tuvieron valores superiores al nivel de corte, mientras que la especificidad es la proporción de vacas sin metritis que tuvieron valores inferiores al nivel de corte⁽¹⁸⁾. Como valor de corte se utilizó el punto en el que se alcanza la mayor sensibilidad y especificidad conjuntas⁽⁴³⁾.

Los intervalos parto - concepción (IPC) y parto - rechazo hasta los 300 dpp se analizaron con el procedimiento PHREG de SAS 0.1⁽³⁷⁾. Los modelos de riesgos proporcionales de Cox incluyeron los efectos fijos previamente descriptos para los modelos logísticos. La modelización se efectuó con el método de eliminación de variables ya descripto para esos modelos. Los valores (mediana \pm

IC 95%) se obtuvieron con el procedimiento LIFETEST de SAS 9.1⁽³⁷⁾.

La producción de leche, la CC, los metabolitos y las hormonas metabólicas se analizaron con el procedimiento MIXED de SAS 9.1⁽³⁷⁾ como medidas repetidas. El modelo incluyó los efectos aleatorios de la vaca y los efectos fijos previamente descriptos. Se utilizó la estructura de covarianza que produjo el menor criterio de información de Akaike⁽²⁹⁾. Se empleó un contraste polinomial para evaluar los efectos lineales y cuadráticos del tiempo sobre las variables de respuesta, y además, se usó otro contraste para comparar los valores preparto con los postparto. Por último, en el modelo usado para evaluar la producción lechera acumulada a los 90 dpp se removió el efecto fijo del tiempo.

Resultados

Prevalencia

La prevalencia de MC fue del 9,6% (29/303) y la de MP del 29,7% (90/303). Por tanto, la prevalencia total de metritis fue del 39,3% (119/303).

Factores de riesgo

Las vacas múltiparas tendieron a tener menores chances de metritis que las primíparas (RP=0,646, IC 95%=0,371-1,125, Tabla 1), mientras que las que experimentaron partos anormales tuvieron mayores chances de metritis que

Tabla 1. Modelo logístico de los factores de riesgo para metritis en vacas Holando Argentino.

Factores de riesgo ⁽²⁾	Incidencia		Metritis ⁽¹⁾		
	%	N	RP ⁽³⁾	IC 95% ⁽⁴⁾	P
Parición:					0,085
Primípara	48,9	44/90	Referente	Referente	
Múltipara	35,2	75/213	0,646	0,371-1,125	
					0,008
Normal	34,6	90/260	Referente	Referente	
Anormal	65,1	28/43	2,576	1,189-5,559	
AGNE⁽⁵⁾	-	110	1,001	0,999-1,002	0,177
IGF-1⁽⁶⁾	-	50	0,652	0,349-1,219	0,144

⁽¹⁾ Metritis: Vacas con descarga vaginal acuosa, purulenta o marrón-rojiza y de olor fétido 5-7 dpp;

⁽²⁾ Factores de riesgo (i.e.: indicadores metabólicos) con $P > 0,2$ fueron excluidos de la tabla;

⁽³⁾ RP: razón de probabilidad (del inglés: odds ratio);

⁽⁴⁾ IC 95%: Intervalo de confianza del 95%;

⁽⁵⁾ AGNE: Ácidos grasos no esterificados (μM) 14 ± 3 días preparto;

⁽⁶⁾ IGF-1: Factor 1 de crecimiento similar a la insulina (ng/ml) 14 ± 3 días preparto.

La interacción parición por parto no tuvo efecto ($P > 0,10$).

sus compañeras de partos normales (RP=2,576, IC 95%=1,189-5,559, Tabla 1). Además, las concentraciones preparto de AGNE aumentaron el riesgo de metritis (RP=1,001, IC 95%=0,999-1,002, Tabla 1), mientras que, por el contrario, los niveles preparto de IGF-1 lo redujeron (RP=0,652, IC 95%=0,349-1,219, Tabla 1).

Efectos reproductivos

El Cefotiofur (tratado vs. control) no afectó significativamente las chances de concepción a la IATF (23,8% vs. 10,0%, RP=2,117, IC 95%=0,589-7,608, P=0,142), de P100 (19,6 vs. 25,0%, P=0,350) ni de no preñarse a los 200 dpp (NP200, 31,4 vs. 25,0%, P=0,206). Las vacas con MP tuvieron menores chances de preñez a los 100 dpp (P100) que las que no presentaron metritis (RP=0,219, IC 95%=0,095-0,502), mientras que las que padecieron MC tuvieron una chance similar de preñez que las vacas sanas (RP=0,984, IC 95%=0,376-2,577, Tabla 2). Las vacas con MP tuvieron mayores chances de no preñarse a los 200 dpp que las que no presentaron metritis (RP=2,096, IC 95%=0,968-4,537), mientras que las que padecieron MC tuvieron una chance similar a la de sus compañeras sanas (RP=0,599, IC 95%=0,129-2,779, Tabla 2). Las vacas que sufrieron de MP mostraron un menor riesgo instantáneo de preñez que sus compañeras normales e incluso que las afectadas con MC (TRI=0,611, IC 95%=0,405-0,921, P=0,019). El IPC (Mediana, IC 95%) fue mayor para las vacas con

MP (165, 128-187) que para las que tuvieron MC (121, 90-145) o que para las normales (114, 99-130, Log-Rank test=6,34, grados de libertad=2, P=0,042, Figura 1). Por último, los valores de rechazo reproductivo observados fueron de 1,8% (1/56) y 13,6% (6/44) para los grupos Cefotiofur y control, respectivamente. Por lo que los animales tratados mostraron una tendencia a padecer menores chances de rechazo que los controles (RP=0,121, IC 95%=0,015-1,066, P=0,057).

Figura 1. Análisis de supervivencia para el efecto de la metritis sobre el intervalo parto-concepción hasta los 300 días postparto en vacas Holando Argentino (n=303). La metritis clínica se diagnosticó en vacas con descarga vaginal acuosa, purulenta o marrón-rojiza y de olor fétido (DV3) y <39,2°C 5 a 7 días postparto (dpp), mientras que la metritis puerperal se consideró en vacas con DV-3 y ≥39,2°C 5 a 7 dpp. El intervalo parto concepción (Mediana) fue de 114 vs. 121 vs. 165 para las vacas sin metritis, con metritis clínica y con metritis puerperal (P=0,042)

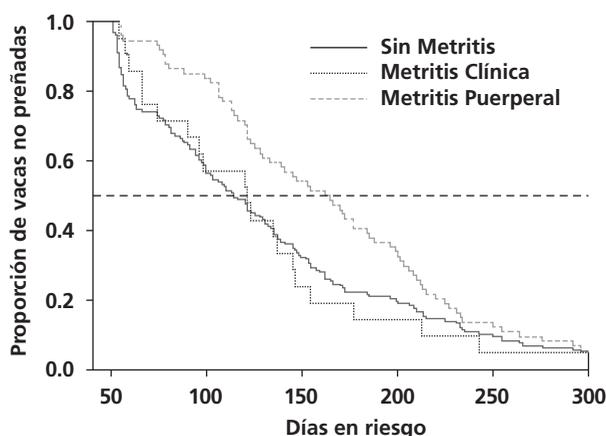


Tabla 2. Modelo logístico del efecto de la metritis sobre las tasas de preñez a los 100 y de no preñez a los 200 días postparto en vacas Holando Argentino (n=303).

	%	N	RP ⁽¹⁾	IC 95% ⁽²⁾	P
Tasa de preñez 100 días postparto					
Metritis:					0,003
Sin metritis	37,5	69/184	Referente	Referente	
Clínica ⁽³⁾	31,0	9/29	0,849	0,288-2,504	0,586
Puerperal ⁽⁴⁾	13,3	12/90	0,189	0,070-0,479	0,001
Tasa de no preñez 200 días postparto					
Metritis:					0,144
Sin metritis	16,3	30/184	Referente	Referente	
Clínica ⁽³⁾	10,3	3/29	0,569	0,120-2,700	0,477
Puerperal ⁽⁴⁾	25,6	23/90	1,929	0,907-4,101	0,088

⁽¹⁾ RP: Razón de probabilidad;

⁽²⁾ IC 95%: Intervalo de confianza del 95%;

⁽³⁾ Metritis clínica: Vacas con descarga vaginal acuosa, purulenta o marrón-rojiza y de olor fétido (DV3) y <39,2°C en los 5-7 días postparto (dpp);

⁽⁴⁾ Metritis puerperal: Vacas con DV-3 y ≥39,2°C fiebre 5-7 dpp;

Las interacciones no tuvieron efecto (P>0,10).

Efectos sobre la curación

La tasa de curación 21 dpp (DV0-2) fue de 70 (31/44) vs. 68% (38/56) para los grupos control y tratado, respectivamente, por lo que el Cefotiofur no afectó el riesgo de curación (RP=0,710, IC 95%=0,291-1,729, P=0,450). Se observó que vacas preparto (14±3 d) con CC ≥2,75 tenían 10 veces más chances de curarse que las compañeras con CC <2,75 (RP=10,000, IC 95%=1,179-83,333, P=0,035) y que aquellas con BHB <2,75 mg/dl tenían 7 veces más chances de curarse que sus compañeras con BHB ≥2,75 mg/dl (RP=7,000, IC 95%=0,808-60,641, P=0,076). Además, las vacas 6 dpp con insulina ≥ 1,90 ng/ml tenían 20 veces más chances de curarse que las compañeras con < 1,90 ng/ml (RP=20,000, IC 95%=1.587-250,000, P=0,022).

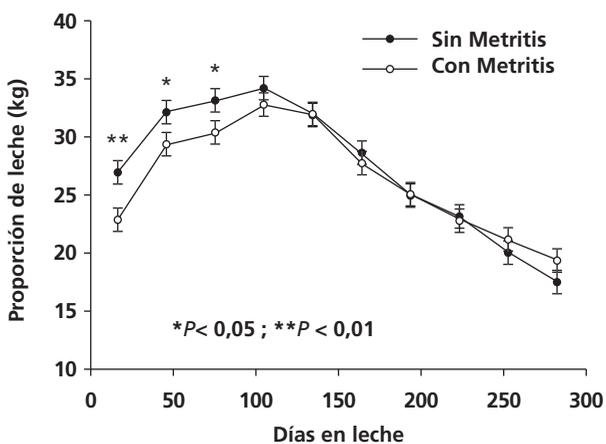
Efecto sobre la producción de leche

El tiempo tuvo un efecto cuadrático sobre la producción de leche ($P < 0,001$). Las multíparas produjeron más leche que las primíparas ($26,76 \pm 0,71$ vs. $25,60 \pm 0,87$ kg/d, $P = 0,025$). Hubo interacción significativa entre tiempo y metritis ($P < 0,001$) debido a que las vacas con metritis produjeron menos leche (~ 4 kg/d, $P < 0,01$) que sus compañeras al inicio de la lactancia, mientras que produjeron más (~ 1 kg/d) al final de la lactación (Figura 2). La interacción entre el tiempo y el número de partos también fue significativa ($P < 0,001$) dado que las multíparas dieron más leche al principio (~ 5 kg/d, $P < 0,01$) y menos al final de la lactancia (~ 3 kg/d, $P < 0,01$) que las primíparas. El resto de las interacciones no tuvo ningún efecto ($P > 0,10$).

Figura 2. Efecto de la metritis sobre la producción de leche en vacas Holando Argentino ($n=303$).

La metritis se diagnosticó en vacas con descarga vaginal acuosa, purulenta o marrón-rojiza y de olor fétido 5-7 días postparto.

El modelo lineal de mediciones repetidas detectó una interacción entre tiempo y metritis ($P < 0,001$) sobre la cantidad de leche producida.



Las vacas sin metritis produjeron entre 280 y 411 kg más de leche acumulada a los 90 d que las que sufrieron MC y MP ($2646,56 \pm 82,10$ vs. $2235,62 \pm 172,11$ vs. $2367,20 \pm 77,45$, respectivamente, $P = 0,009$). El Ceftiofur no tuvo efecto sobre la producción a los 90 d ($P = 0,148$). Finalmente, las vacas multíparas produjeron más que las primíparas ($2640,97 \pm 77,36$ vs. $2191,94 \pm 88,19$, $P < 0,001$).

La metritis se diagnosticó en vacas con descarga vaginal acuosa, purulenta o marrón-rojiza y de olor fétido 5-7 días postparto.

El modelo lineal de mediciones repetidas detectó una interacción entre tiempo y metritis ($P < 0,001$) sobre la cantidad de leche producida.

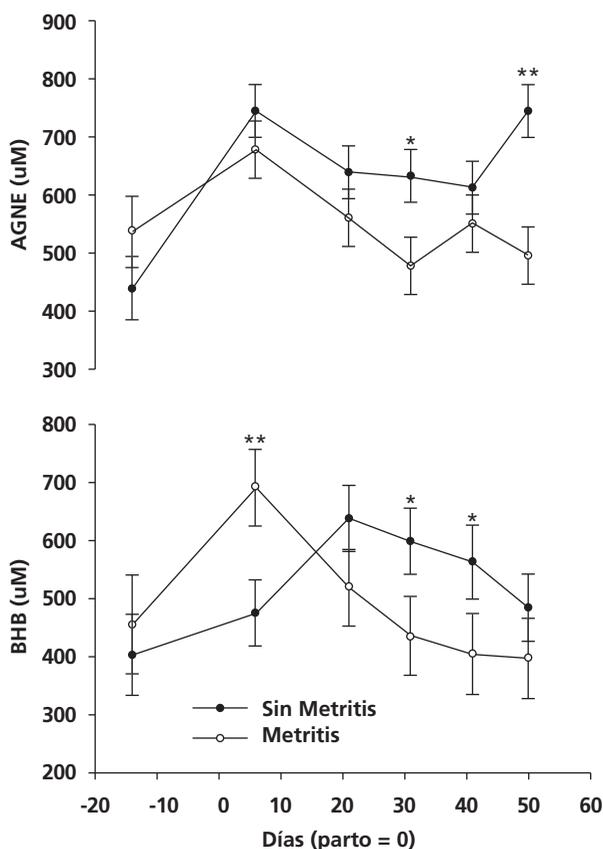
Efecto sobre el balance energético

Las vacas con metritis tuvieron menores CC que las sanas ($2,58 \pm 0,02$ vs. $2,67 \pm 0,02$, $P = 0,004$). La interacción tiempo por metritis tuvo efecto sobre las concentraciones de AGNE y BHB ($P = 0,022$ y $0,009$, respectivamente, Figura 3).

Figura 3. Efecto de la metritis sobre la concentración de ácidos grasos no esterificados (AGNE) y de b-hidroxibutirato (BHB) en vacas Holando Argentino ($n=110$).

La metritis se diagnosticó en vacas con descarga vaginal acuosa, purulenta o marrón-rojiza y de olor fétido 5-7 días postparto.

El modelo lineal de mediciones repetidas detectó una interacción entre tiempo y metritis para AGNE y BHB ($P = 0,022$ y $0,009$, respectivamente). * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$.



Discusión

Los objetivos del estudio fueron evaluar los factores de riesgo de metritis, los efectos de la metritis sobre la producción de leche y la eficiencia reproductiva, y por último, la eficacia del Ceftiofur sobre la tasa de curación y sobre la productividad

de los animales. La prevalencia de metritis estuvo dentro del rango de valores previamente reportados ^(16, 17), pero fue bastante más alta que la encontrada en animales en pastoreo ⁽³²⁾.

Factores de riesgo

Según nuestros hallazgos, el riesgo de metritis es mayor en las vacas primíparas, en las que tienen problemas al parto y en las que poseen un BEN más pronunciado (i.e.: altos niveles de AGNE y bajos de IGF-1 en el parto). El efecto de los partos anormales (i.e.: distocia y retención de placenta) sobre la metritis que encontramos en nuestro estudio coincide plenamente con otros trabajos previos ^(9, 13, 19, 25) y la explicación de esta asociación sería que los partos anormales requieren de asistencia humana, lo que incrementa las posibilidades de lesión uterina y de contaminación bacteriana, y por tanto, de desarrollar metritis ^(25, 38). Del mismo modo, se ha descrito que los animales primíparos tienen más riesgo de metritis por su mayor probabilidad de sufrir lesiones uterinas y de necesitar asistencia al momento del parto ^(3, 6, 22). Por otra parte, la relación que hemos encontrado entre los indicadores del BEN y la metritis concuerda plenamente con los resultados hallados en estudios muy recientes, dado que altas concentraciones de AGNE y de BHB incrementan el riesgo, mientras que contrariamente, altos valores de IGF-1 y de CC, lo reducen ^(13, 35). De hecho, estos autores han propuesto valores de corte de AGNE preparto de 300 μM ⁽³⁵⁾ y de 600 μM ⁽¹³⁾ para predecir la metritis. Estas altas concentraciones de AGNE y de BHB junto con los bajos niveles de CC serían indicativos de un BEN marcado, y posiblemente, reflejen un consumo de materia seca disminuido ^(3, 233), así como también se ha descrito que ese BEN tendría efectos deletéreos sobre la función de los neutrófilos lo que perjudicaría la salud uterina ^(3, 23).

Aunque la interacción global entre el sistema nervioso, el endócrino y el inmune ha sido revisada recientemente en los animales domésticos ⁽⁵⁾, este trabajo sería, el primer estudio que evalúa la relación específica entre el IGF-1 y el riesgo de metritis. El IGF-1 podría estimular la respuesta inmune no sólo por su acción directa ⁽²¹⁾ sino también de modo indirecto mediante sus efectos anabólicos ⁽²⁰⁾. A su vez, las citoquinas pro-inflamatorias regularían la actividad del IGF-1 ⁽³⁴⁾. Por

tanto, podría especularse que el IGF-1 desempeña un rol importante en el desarrollo de la metritis.

Efectos reproductivos

La metritis, especialmente la MP, tiene efectos negativos sobre la eficiencia reproductiva puesto que reduce la P100 e incrementa unos 50 d el IPC. Estos hallazgos concuerdan con trabajos previos que sugieren esa relación negativa entre la metritis y la reproducción ⁽¹⁶⁾. Esos efectos nocivos podrían explicarse, primero, por medio del retraso en el retorno a la ciclicidad postparto que experimentan las vacas afectadas con metritis ^(30, 40); segundo, mediante la disrupción del ambiente intrauterino que provoca esta enfermedad en las vacas ^(4, 38); y tercero, porque la metritis también perjudica el desarrollo del embrión en el útero ⁽⁴²⁾.

Efecto sobre la producción de leche

La metritis posee efectos negativos sobre la producción al inicio de la lactación. Esto último coincide con lo encontrado recientemente por otros autores quienes observaron que las vacas que presentan metritis producen menos leche hasta el momento de pico de lactancia y que luego, compensan parcialmente ese menor rendimiento al producir un poco más en el final de la lactación ^(3, 13, 36, 49). Una explicación posible para estos efectos sería que la metritis se asocia con un menor consumo de materia seca ^(3, 49), que, de hecho, ha sido detectado ya incluso previo al momento del parto ^(24, 46) lo que reduciría la disponibilidad de energía para la lactogénesis. Además, se sabe que los tejidos afectados liberan grandes cantidades de agentes pro-inflamatorios como las citoquinas, que podrían causar un desvío en el flujo de los compuestos energéticos desde los tejidos productivos como la glándula mamaria hacia los sistemas de defensa del organismo como son los leucocitos ^(5, 47). Por tanto, las vacas con metritis producirían menos leche en un intento por conservar energía para poder afrontar las enormes demandas del sistema inmune que lucha contra las infecciones uterinas.

Efectos del Ceftiofur

La terapia con Ceftiofur durante 3 días no tiene efecto sobre la curación de la metritis, sobre la eficiencia reproductiva, ni sobre la producción de leche. El único efecto detectado es el de redu-

cir los rechazos por causas reproductivas. En este sentido, existen algunos trabajos que evalúan la utilidad de la terapia con Ceftiofur ^(8, 12, 31, 41, 50), pero uno de los inconvenientes que presentan es que han usado diferentes diseños, puesto que unos incluyen controles positivos ([animales tratados con diferentes antibióticos] ^{12, 41}) y otros controles negativos ([animales enfermos sin tratar] ^{8, 31, 50}). El otro problema es que la mayoría fijó como criterio de curación una temperatura $<39,5^{\circ}\text{C}$ ^(12, 41, 50). Es decir, estos autores informaban que la terapia había sido exitosa si remitía la fiebre, a pesar de que advertían que muchas vacas continuaban teniendo DV fétida ⁽¹²⁾. En otras palabras, la temperatura rectal sobreestimaría la respuesta al tratamiento ⁽⁸⁾ puesto que se ha demostrado vacas con metritis y sin recibir tratamiento alguno retornan su temperatura a valores normales dentro de los 5 días después de haber sido diagnosticadas con la enfermedad ⁽⁴⁸⁾. Además, la alta tasa de autocuración de metritis que presentan las vacas postparto (70% en nuestras vacas, 62% ⁽⁸⁾ y 55% ⁽³¹⁾) reduciría el margen de acción para la terapia antibiótica. Cabe mencionar que la terapia con Ceftiofur (2,2 mg/kg) durante 5 días sí incrementó la curación 15 puntos de porcentaje ⁽⁸⁾ y que el tratamiento con 2 dosis de 6,6 mg/kg de Ceftiofur cristalino libre de ácido cada 72 hs también aumentó la cura en 19 puntos de porcentaje ⁽³¹⁾. Por lo que parecería que la terapia de 3 d es demasiado corta y sería recomendable extenderla a 5 d. El otro aspecto que no se ha tenido en cuenta en estos trabajos es el de las variables de interés productivo: la eficiencia reproductiva y la producción de leche. Sólo un estudio, que usó control positivo, reporta que el Ceftiofur no tiene efectos sobre la tasa de preñez a primo-inseminación ni en el IPC ⁽¹²⁾. Por último, en nuestro trabajo, el único efecto detectado del Ceftiofur es el de reducir los rechazos. La explicación de este hallazgo podría deberse al hecho de que como el Ceftiofur es usado para tratar afecciones respiratorias, mastitis y laminitis ⁽⁵¹⁾, esto probablemente reduciría el impacto negativo de estas otras enfermedades sobre la eficiencia reproductiva, lo que redundaría en menores chances de refugo. Nuestra investigación sería la única que informa los efectos del Ceftiofur sobre variables de interés productivo, habiéndolos contrastado con un control negativo.

Efectos del BEN en la curación

Un hallazgo interesante de nuestro estudio es que los altos niveles de insulina y de CC y los bajos de BHB incrementan la tasa de curación. Hasta donde sabemos, éste es el primer reporte de un efecto positivo de la insulina sobre la cura de metritis. Se sabe que existe un equilibrio entre las hormonas como la somatotrofina, los glucocorticoides y la insulina y los agentes pro-inflamatorios como las citoquinas, que también involucra a los sistemas nervioso, endócrino e inmune y a los tejidos como el muscular y el adiposo ⁽⁵⁾. Además, este balance puede influenciar la respuesta inmune y por tanto, la severidad de la enfermedad durante los procesos inflamatorios ⁽⁵⁾. En ausencia de inflamación, el balance entre las hormonas y los pro-inflamatorios es óptimo, puesto que los glucocorticoides inhiben la síntesis de las citoquinas. Por el contrario, cuando hay procesos inflamatorios, este balance se rompe porque los tejidos dañados producen enormes cantidades de citoquinas que inducen resistencia a los glucocorticoides, a la somatotrofina - IGF-1 y a la insulina. De este modo, se establece un estado catabólico caracterizado por lipólisis, proteólisis y gluconeogénesis ⁽²⁶⁾ y, a su vez, el organismo responde frente a la refractariedad hormonal inducida por las citoquinas produciendo mayor cantidad de estas hormonas. Así, intenta aumentar la razón entre las hormonas y las citoquinas para poder superar, al menos parcialmente, esos efectos nocivos de los pro-inflamatorios ⁽²⁶⁾. Ante el escenario descrito previamente parece razonable pensar que las altas concentraciones de insulina se relacionen con mayores chances de curación en nuestras vacas.

En resumen, el BEN podría estar involucrado no sólo en el desarrollo de la metritis sino también en el riesgo de curación de la enfermedad. Es decir, un BEN más marcado predispondría a las vacas a la metritis y reduciría las chances de éxito de la terapia antibiótica contra la enfermedad.

Efectos metabólicos

Las vacas con metritis tienen menores CC que sus compañeras y existe una interacción entre el tiempo y la metritis sobre las concentraciones de AGNE y de BHB, puesto que los animales con metritis presentan niveles más altos alrededor del parto y luego más bajos a medida que avanza la lactancia. Por tanto, esto estaría reflejando que las

vacas con metritis poseen un BEN más marcado periparto a causa, posiblemente, del menor consumo de alimento. Por otro lado, ese patrón se revierte luego, durante la lactancia, como consecuencia de un incremento en la demanda de energía para sostener la mayor producción láctea detectada en las vacas sanas.

Conclusiones

En conclusión, los problemas al parto y el BEN incrementan el riesgo de metritis. La terapia de 3 días con Ceftiofur no es efectiva para tratar la metritis pero disminuye los rechazos por causas reproductivas. La tasa de autocuración de metritis es del 70%. Finalmente, las vacas con CC <2,75, con BHB >2,75 mg/dl y con insulina <1,90 ng/ml tienen menos chance de curarse, por lo que el BEN también disminuye la tasa de curación de metritis. La metritis disminuye la producción al inicio de la lactancia (entre 280 y 411 kg menos hasta los 90 d) y la tasa de preñez con lo que alarga (unos 50 d) el intervalo a la concepción.

Bibliografía

- Allison, P. D. Logistic regression using SAS: Theory and application. SAS Institute Inc. Cary, NC, 1999 pp 29-30.
- Becú-Villalobos, D., I. García-Tornadú, G. Shroeder, E. E. Salado, G. Gagliostro, C. Delavaud, Y. Chilliard, and I. M. Lacau-Mengido. 2007. Effect of fat supplementation on leptin, insulin-like growth factor I, growth hormone, and insulin in cattle. *Can. J. Vet. Res.* 71:218-22.
- Bell, M. J., and D. J. Roberts. 2007. The impact of uterine infection on a dairy cow's performance. *Theriogenology* 68:1074-1079.
- BonDurant, R. H. 1999. Inflammation in the bovine female reproductive tract. *J. Anim. Sci.* 77:101-110.
- Borghetti P, Saleri R, Mocchegiani E, Corradi A, Martelli P. Infection, immunity and the neuroendocrine response. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2009; 130:141-162.
- Bruun, J., A. K. Ersbøll, and L. Alban. 2002. Risk factors for metritis in Danish dairy cows. *Prev. Vet. Med.* 54:179-190.
- Burfeind, O., M. A. G. von Keyserlingk, D. M. Weary, D. M. Veira, and W. Heuwieser. 2010. Short communication: Repeatability of measures of rectal temperature in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:624-627.
- Chenault, J. R., J. F. McAllister, S. T. Chester, K. J. Dame, F. M. Kausche, and E. J. Robb. 2001. Efficacy of ceftiofur hydrochloride sterile suspension administered parenterally for the treatment of acute postpartum metritis in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 224:1634-1639.
- Correa, M. T., H. Erb, and J. Scarlett. 1993. Path analysis for seven postpartum disorders of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 76:1305-1312.
- Delavaud, C., A. Ferlay, Y. Faulconnier, F. Bocquier, G. Kann, and Y. Chilliard. 2002. Plasma leptin concentration in adult cattle: Effects of breed, adiposity, feeding level, and meal intake. *J. Anim. Sci.* 80:1317-1328.
- Díaz-Torga, G. S., M. E. Mejía, A. González-Iglesias, N. Formía, D. Becú-Villalobos, and I. M. Lacau-Mengido. 2001. Metabolic cues for puberty onset in free grazing Holstein heifers naturally infected with nematodes. *Theriogenology* 56:111-122.
- Drillich, M., O. Beetz, A. Pfutzner, M. Sabin, H. J. Sabin, P. Kutzer. 2001. Evaluation of a systemic antibiotic treatment of toxic puerperal metritis in dairy reproductive cows. *J. Dairy Sci.* 84:2010-2017.
- Dubuc, J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, J. S. Walton, and S. J. LeBlanc. 2011. Effects of postpartum uterine diseases on milk production and culling in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94:1339-1346.
- Dubuc, J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, J. S. Walton, and S. J. LeBlanc. 2010. Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:5764-5771.
- Ferguson, J. D., D. T. Galligan, and N. Thomsen. 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77:2695-2703.
- Fourichon, C., H. Seegers, and X. Malher. 2000. Effect of disease on reproduction in the dairy cow: a meta-analysis. *Theriogenology* 53:1729-1759.
- Fourichon, C., H. Seegers, N. Bareille, F. Beaudeau. 1999. Effects of disease on milk production in the dairy cow: A review. *Prev. Vet. Med.* 41:1-35.
- Greiner, M., D. Pfeiffer, and R. D. Smith. 2000. Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. *Prev. Vet. Med.* 45, 23-41.
- Gröhn, Y. T., H. N. Erb, C. E. McCulloch, and H. S. Saloniemi. 1990. Epidemiology of reproductive disorders in dairy cattle: Associations among host characteristics, disease and production. *Prev. Vet. Med.* 8:25-39.
- Hadley JS, Hinds CJ. Anabolic strategies in critical illness. *Curr Opin Pharmacol.* 2002; 2:700-707.
- Heng TS, Chidgey AP, Boyd RL. Getting back at nature: understanding thymic development and overcoming its atrophy. *Curr Opin Pharmacol.* 2010; 10:425-433.
- Hosseini-Zadeh, N. G., and M. Ardalán. 2011. Cow-specific risk factors for retained placenta, Metritis and clinical mastitis in Holstein cows. *Vet. Res. Commun.* 35:345-354.
- Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA, Buxton DR. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 1997; 80:1269-1280.

24. Huzzey, J. M., D.M. Veira, D. M. Weary, and M. A. G. v. Keyserlingk. 2007. Parturition behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. *J. Dairy Sci.* 90:3220-3233.
25. Kaneene, J. B., and R. Miller. 1995. Risk factors for metritis in Michigan dairy cattle using herd- and cow-based modelling approaches. *Prev. Vet. Med.* 23:183-200.
26. Kelley KW, Weigent DA, Kooijmann R. Protein hormones and immunity. *Brain Behav. Immun.* 2007; 21:384-392.
27. Lacau-Mengido, I. M., M. E. Mejia, G. S. Diaz-Torga, A. Gonzalez-Iglesias, N. Formia, C. Libertun, and D. Becu-Villalobos. 2000. Endocrine studies in ivermectin-treated heifers from birth to puberty. *J. Anim. Sci.* 78:817-824.
28. LeBlanc, S. 2008. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *Vet. J.* 176:102-114.
29. Littell, R. C., W. W. Stroup, and R. J. Freund. 2002. SAS for Linear Models. 4th ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.
30. Mateus, L., L. L. da Costa, F. Bernardo, and J. R. Silva. 2002. Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. *Reprod. Domest. Anim.* 37:31-35.
31. McLaughlin CL, Stanisiewski E, Lucas MJ, Cornell CP, Watkins J, Bryson L, Tena JK, Hallberg J, Chenault JR. 2012. Evaluation of two doses of ceftiofur crystalline free acid sterile suspension for treatment of metritis in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 95:4363-71.
32. Mejía, M. E., and I. M. Lacau-Mengido. 2004. Endometritis treatment with a PGF_{2a} analog does not improve reproductive performance in a large dairy herd in Argentina. *Theriogenology* 63:1266-1276,
33. National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
34. O'Connor JC, McCusker RH, Strle K, Johnson RW, Dantzer R, Kelley KW. Regulation of IGF-I Function by Proinflammatory Cytokines: At the Interface of Immunology and Endocrinology. *Cell Immunol.* 2008; 252: 91-110.
35. Ospina, P. A., D. V. Nysdam, T. Stokol, and T. R. Overton. 2010. Evaluation of nonesterified fatty acids and β -Hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeast United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *J. Dairy Sci.* 93:546-554.
36. Rajala, P. J., and Y. T. Grohn. 1998. Effects of dystocia, retained placenta, and metritis on milk yield in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:3172-3181.
37. SAS. 2003. SAS/STAT Software for Windows 9.1. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
38. Sheldon, I. M., and H. Dobson. 2004. Postpartum uterine health in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83:295-306.
39. Sheldon, I. M., G. S. Lewis, S. LeBlanc, and R. O. Gilbert. 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65:1516-1530.
40. Sheldon, I. M., D. E. Noakes, A. N. Rycroft, D. U. Pfeiffer, and H. Dobson. 2002. Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction* 123:837-845.
41. Smith, B. I., G. A. Donovan, C. A. Risco, R. Littell, C. Young, and L. H. Stanker. 1998. Comparison of various antibiotic treatments for cows diagnosed with toxic puerperal metritis. *J. Dairy Sci.* 81:1555-1562.
42. Soto, P., R. P. Natzke, and P. J. Hansen. 2003. Actions of tumor necrosis factor- α on oocyte maturation and embryonic development in cattle. *Am. J. Reprod. Immunol.* 50:380-388.
43. Swets, J. A. 1988. Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science* 240:1285-1293.
44. Systat. 2006. Sigmaplot User's Guide, version 10.0. Systat Software, Inc., Chicago, IL.
45. Thrusfield, M., C. Ortega, I. de Blas, J. P. Noordhuizen, and K. Frankena. 2001. Win EPISCOPE 2.0: Improved epidemiological software for veterinary medicine. *Vet. Rec.* 148:567-572.
46. Urton, G., M. A. G. v. Keyserlingk, and D. M. Weary. 2005. Feeding behavior identifies dairy cows at risk for metritis. *J. Dairy Sci.* 88:2843-2849.
47. Waldron MR. Periparturient immunosuppression - what we know and what we don't. 21st Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium 2011. pp. 1-15. Tampa, FL, USA.
48. Wenz, J. R., D. A. Moore, and R. Kasimanickam. 2011. Factors associated with the rectal temperature of Holstein dairy cows during the first 10 days in milk. *J. Dairy Sci.* 94:1864-1872.
49. Wittrock, J. M., K. L. Proudfoot, D. M. Weary, and M. A. G. von Keyserlingk. 2011. Metritis affects milk production and cull rate of Holstein multiparous and primiparous dairy cows differently. *J. Dairy Sci.* 94:2408-2412.
50. Zhou, C., J. F. Boucher, K. J. Dame, M. Moreira, R. Graham, J. Nantel, S. Zuidorf, L. Arfi, R. Flores, G. Neubauer, and J. Olson. 2001. Multilocation trial of ceftiofur for treatment of postpartum cows with fever. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 219:805-808.
51. Zwald, A. G., P. L. Rugg, J. B. Kaneene, L. D. Warnick, S. J. Wells, C. Fossler, and L. W. Halbert. 2004. Management Practices and Reported Antimicrobial Usage on Conventional and Organic Dairy Farms. *J. Dairy Sci.* 87:191-201.