

Livmoderinflammation hos mjölkkor efter kalvning



Fanny Anderholm

Livmoderinflammation hos mjölkkor efter kalvning

Postpartum uterine disease in dairy cattle

Fanny Anderholm

Handledare: Elisabeth Persson, SLU, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Examinator: Sara Wernersson, SLU, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Kandidatarbete i husdjursvetenskap

Kurskod: EX0553

Program: Agronomprogrammet - Husdjur

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2018

Omslagsbild: Fanny Anderholm

Nyckelord: Hormonförändring, immunförsvar, livmoderinflammation, mjölkkor, negativ energibalans, NEFA, postpartum.

Key words: Dairy cattle, hormone, immune defense, negative energy balance, NEFA, postpartum, uterine disease.

Sammanfattning

Produktionstrycket i dagens mjölkindustri är mycket högt, vilket innebär stora påfrestningar på de högproducerande mjölkorna. Avel för specifika produktionsegenskaper har gjort att dagens mjölkproducerande kor har svårt att bli dräktiga samt de löper en ökad risk för att drabbas av livmoderinflammation, negativ energibalans och olika störningar i postpartum-perioden. Detta ger en minskad mjölmängd samtidigt som behandlingskostnaderna ökar. Omställningen från dräktighet till att börja syntetisera mjölk är en påfrestning för kon som gör att många kor hamnar i negativ energibalans, då de inte hinner ställa om och omfördela energireserverna. Denna litteratursammanställning fokuserar på förändringarna i reproduktionsorganen i samband med kalvning. Samt vilka faktorer som påverkar risken för att en mjölkko ska utveckla livmoderinflammation. Immunförsvaret spelar då en stor roll i hur motståndskraftig kon är mot patogener efter kalvning när kroppen är ur balans. För att kon ska återhämta sig och återgå till östralcyklen krävs det tillbakabildning av livmodern och dess slemhinna samt att bakterier som kontaminerat livmodern under kalvning och postpartum elimineras. Denna process kallas för involution. Blir det störningar i involutionen finns det risk för utveckling av livmoderinflammation, vars allvarlighetsgrad kan variera. En obehandlad livmoderinflammation innebär risk för infertilitet, för tidig utslagning ur produktionen och stora ekonomiska förluster. Livmoderinflammation är således ett vanligt förekommande problem i dagens mjölkindustri. Ökade kunskaper om riskfaktorerna och förebyggande åtgärder är av stort intresse.

Abstract

The production pressure in today's dairy industry is very high which means great stress on the highly producing dairy cows. Breeding on specific production traits have led to weak signs for estrus, limiting their chance to get pregnant, in addition to risk for uterine infection, negative energy balance and other disturbances during the postpartum period. This leads to a decreased milk yield and increase in treatment costs. The change from being pregnant to start synthesising milk leads to negative energy balance, due to the short period to reallocate the energy reserves. This literature summation focus on the changes in the genitals associated with calving. As well as the factors increasing the risk for dairy cattle to develop uterine disease. The immune defence plays a major role in fighting the pathogens that contaminate the uterus after parturition, especially if the cow is affected by negative energy balance or other disorders postpartum. It is very important that the uterus of the cow undergoes involution, a process including degeneration of uterine tissue as well as elimination of the pathogens that may invade the uterus during parturition and postpartum. Disturbance in the involution means risk for uterine infections and untreated uterine infection can lead to infertility, early culling and great economic losses. Greater knowledge about the factors causing uterine disease and how to prevent it is of great interest.

Introduktion

Idag bygger mjölkindustrin bland annat på att mjölkorna blir dräktiga snabbt efter kalvningen för att laktationsnivån ska upprätthållas eftersom den är som högst den första perioden efter kalvning. Avel på vissa specifika produktionsrelaterade egenskaper har gjort att andra, till exempel brunstvisningsegenskaper har försämrats. En konsekvens av detta är att det är svårt att få vissa kor dräktiga så snabbt som önskvärt, då det finns en risk att inseminering sker på fel tillfälle. Detta är ett mycket stort produktionsmässigt problem. God reproduktionsförmåga inklusive god brunstvisningsförmåga är därför mycket eftertraktade egenskaper hos en högproducerade mjölkko (Sheldon *et al.*, 2006).

En kalvning och därpå följande igångsättning av hög mjölkproduktion innebär en mycket stor påfrestning för en mjölkproducerande ko. Efter kalvningen finns det stor risk att kon drabbas av negativ energibalans och andra störningar såsom livmoderinflammation under postpartumperioden. På senare tid har det hittats ett samband mellan negativ energibalans och fria fettsyror (NEFA) (Chapinal *et al.*, 2012). Dessa är mobiliserade från kroppsreserver och kan ge upphov till en störd reproduktion. För att kon ska återställa sig och komma i reproduktionsform efter kalvning krävs det tillbakabildning av livmodern sker samt en naturlig eliminering av de bakterier som kommit in i livmodern i samband med kalvningen. Ibland kan kor få problem med den sist nämnda processen och då kan livmoderinflammation uppstå som följd (Sheldon *et al.*, 2008). Livmoderinflammationen påverkar inte enbart kons hälsa och reproduktionsförmåga utan leder också till en minskad mjölmängd, ökade behandlingskostnader samt risk för tidig utslagning (Bartlett *et al.*, 1986).

Denna litteraturgenomgång fokuserar på förändringar i reproduktionsorganen i samband med kalvning och vilka faktorer som påverkar risken för en mjölkko att utveckla livmoderinflammation.

Kon

Anatomi och histologi

Anatomiskt består de yttre genitalierna av vulva och klitoris, och de inre av vagina, livmoderhals (*cervix*), livmoder, äggledare och äggstockar. Äggstockarna kan anatomiskt delas in i bark och märg. Barken är uppbyggd av ett lager med kubiska epitelceller och under finns det en hinna av bindväv med bindvävsstråk in i äggstocken (Sjaastad *et al.*, 2016). Äggstockens märg består av rikligt med blodkärl. I bindväven i barken finns det en mängd folliklar av olika mognadsgrad; primordialfolliklar, växande folliklar och mogna folliklar. De minsta vilande folliklarna är belägna längst ut i barken, de består av en stor rund äggcell (oocyt) vilken omges av ett enkelskiktat follikelepitel som vilar på en basallamina. Längre in finns de större växande folliklarna. Hos de växande folliklarna har det bildats en tunn hinna mellan äggcellen och follikelepitelet, denna kallas för *zona pellucida*. Follikelepitelet som omger den växande follikeln kallas nu för *granulosa* och kommer att bli mer oregelbundet i formen. I granulosa bildas det vätskefyllda håligheter som flyter samman till ett vätskefyllt hålrum. Den mogna follikeln kallas nu för Graafsk follikel, i denna har hålrummet med vätska vuxit till sig och utgör nästan

hela follikelvolymen. Hålrummet är fortfarande omgivet av granulosaaceller, men nu består det av flera lager granulosaaceller. Det lager som är närmast *zona pellucida* kallas *corona radiata*. Utanför basalmembranet som granulosaacellerna vilar på har det nu bildats två lager av den omgivande bindväven, *theca interna* som omvandlats till hormonproducerande celler och ett bindvävsskikt, *theca externa*. Granulosaacellerna är också endokrint aktiva och omvandlar könshormoner från *theca interna* till östrogener som dels finns lagrade i follikelvätskan, dels utsöndras till *theca interna* där de når omgivande kapillärer. Äggstockarna hos reproduktionsaktiva honddjur innehåller ofta också en eller flera gulkroppar (*corpus luteum*). De bildas från de mogna folliklarna efter ägglossning, då äggcellerna lämnar follikeln och fångas upp av äggledarna. *Corpus luteum* består av *theca* och granulosa luteinceller med kapillärer runt om cellerna. *Corpus luteum* utgör en endokrin körtel vars könshormoner är av betydelse under brunstcykelns diöstrusperiod och vid dräktighet (Ridderstråle och Holm, 2003). De könshormoner som bildas i äggstocken är östrogen, progesteron, inhibin och relaxin (Sjaastad *et al.*, 2016).

Livmoderns främsta uppgifter är att slussa spermier till äggledarna, förse fostret med näring och göra sig av med dess avfall, skydda fostret samt förse de övriga delarna av reproduktionsorganen med information om dräktigheten. Histologiskt består livmoderns slemhinna av tre lager, innerst endometrium, därefter myometrium och ytterst perimetrium (Ridderstråle och Holm, 2003). Endometriet består av ett enkelt cylinderepitel mot lumen och ett mucosalager med exokrina körtlar vars aktivitet regleras av hormoner producerade i äggstockarna (Sjaastad, 2016). Myometriet består av glatt muskulatur, ett cirkulärt muskellager innerst och ytterst ett längsgående skikt (Ridderstråle & Holm, 2003) som också regleras av äggstockens hormoner samt av oxytocin (Sjaastad *et al.*, 2016). Perimetrium är en mycket tunn seröshinna, mot bukhålan (Ridderstråle & Holm, 2003). I livmoderns endometrium finns det små upphöjda strukturer, dessa kallas för karunkler. Hos kor och andra idisslare är det av karunklerna som moderns del av moderkakan utgörs. Mot karunklerna fäster det sedan strukturbildningar som kallas för kotyledoner i fosterhinnorna.

Cervix är förbindelsen mellan livmodern och vaginan. Den består främst av elastiska fibrer som påverkas starkt av östrogen och progesteron vilket betyder att dess struktur och konsistens förändras under östralcykeln (Sjaastad *et al.*, 2016). Strukturen i slemhinnan i cervix är veckad och består av mucin-producerande epitelceller.

Vaginan är kanalen från cervix ut till vulvan, bestående av ett flerskiktat plattepitel, med kubiska epitelceller mot basallaminan och platta överst, mot lumen (Sjaastad *et al.*, 2016). Vaginas vägg består av bland annat elastiska fibrer vars struktur styrs av progesteron och östrogen. Bakterierna som finns på epitelcellernas yta producerar mjölksyra från glykogen som finns i epitelcellerna. Detta medför att pH-värdet i vaginan sänks vilket ökar epitelcellernas motståndskraft mot bakterier. Detta är framförallt viktigt kring estrus när östrogenkoncentrationerna är höga.

Östralcykeln

När kvigan nått könsmognad börjar östralcykeln (Sjaastad *et al.*, 2016), eller brunstcykeln som den också kallas. Den pågår hela det vuxna livet med avbrott för dräktighet och anöstrus efter

kalvning. Cykelns längd utgörs av tiden från en östrus till nästa. Den startar med proöstrus, följt av östrus, metöstrus och diöstrus. En annan uppdelning av cykeln utgörs av begreppen follikelfas- och lutealfas. Proöstrus och östrus hamnar i follikelfasen medan metöstrus och diöstrus ingår i lutealfasen.

Redan under fosterutvecklingen bildas det antal ägg i äggstockarna som kommer att finnas tillgängliga under honans livstid. Dessa ägg omges av ett follikelepitelcellager som tillsammans med ägget bildar en follikel. Ägg som inte omges av detta epitelcellager bryts ner under apoptos. Folliklar utvecklas under hela cykeln och endast de som är mogna nog när de rätta hormonförhållandena råder, får lov att släppa sitt ägg. Signaler till hypotalamus gör att gonadotropin frisättande hormon (GnRH) utsöndras till adenohipofysen som i sin tur utsöndrar luteiniserande hormon (LH) och follikelstimulerande hormon (FSH). LH skickar signaler till theca internaceller att producera androgener och FSH signalerar till granulosaaceller att konvertera androgenerna till östrogen. Den höga östrogenkoncentrationen som uppnås under östrus resulterar i en ägglossning.

Efter follikelfasen övergår cykeln till lutealfasen. När ägglossningen är över omvandlas follikelvävnaden till en gulkropp. Gulkroppen producerar framförallt progesteron men också låga nivåer östrogen. Progesteronet bidrar till att slemhinnan, endometriet byggs upp i livmodern för att vara redo att ta hand om det befruktade ägget. Stigande progesteronivåerna gör att produktionen av FSH och LH hämmas. I slutet av lutealfasen, när gulkroppen bryts ner, sjunker koncentrationen av progesteron. Detta resulterar i att hämningen av GnRH, FSH och LH släpper och cykeln övergår till follikelfasen igen.

Immunförsvaret

Reproduktionsorganen har både en inre och en yttre barriär som omfattas av kroppens immunförsvaret. Slemhinnans epitellager i reproduktionsorganen utgör ett fysiskt skydd mot bakterieinvasion genom vävnaden. Epitellagrets tjocklek och karaktär varierar mycket beroende på den anatomiska platsen i reproduktionsorganen och beroende på behov av försvar. I förgården och vaginan finns ett tjockt flerskiktat lager av epitelceller, detta är av stor betydelse då dessa är de första ställena som bakterier från avföring, livmoder och från omgivningen hamnar (Blazquez *et al.*, 1987). Ett veckat epitellager i cervix, bidrar med ännu en barriär, där det under dräktigheten och lutealfasen även bildas en plugg av sekret för att skydda foster och livmoder från bakterier (Sjaastad *et al.*, 2016).

Dock består det veckade cellagret i cervix av endast ett cellskikt precis som i livmoder och äggledare. Livmoderns och äggledarnas epitel är täckta av ett glykokalyxlager, ett skikt av kolhydrater som finns på utsidan av alla eukaryota celler. Detta utgör en extra barriär (Wordinger & Amsler, 1980).

Precis som kroppens immunförsvarsceller har epitelcellerna i genitalorganen också förmåga att känna av patogener med hjälp av "pathogen-associated molecular pattern molecules" (PAMPs) och "damage associated molecular patterns" (DAMPs) genom olika receptorer, bland annat "pattern recognition receptors" (PRRs) (Dadarwal *et al.*, 2017). Epitelcellerna i endometriet

kan uttrycka Toll-like receptorer (TRLs) (Davies *et al.*, 2008). Epitelcellerna fungerar som ”immune effector”-celler för patogener genom att utsöndra olika proteiner och peptider som innehåller icke-specifika antimikrobiella egenskaper och därmed kan reglera en inflammationsprocess (Kolls *et al.*, 2008). Bortsett från att verka som sensorer och effektorer reglerar endometriets epitelceller även immunförsvarsceller genom att utsöndra cytokiner (MacKintosh *et al.*, 2013). Neutrofiler är den celltyp i immunförsvaret som är den mest välstuderade delen av det medfödda immunförsvaret i genitalorganen.

Dadarwal *et al.* (2017) har sammanfattat kunskapsläget om immunförsvaret i kons könsorgan under postpartum-perioden. I tidigt skede utsöndras DAMP och PAMP från patogener som kontaminerar livmodern, de känns igen av PRRs belägna i livmoderns epitelceller. Det är genom en aktivering av epitelcell-PRRs som det resulterar i utsöndring av pro-inflammatoriska cytokiner och kemokiner. Denna frisättning stimulerar rekryteringen av neutrofiler och makrofager till livmoderslemhinnan. Från livmoderepitelet frisätts makrofag-stimulerande faktorer som aktiverar inaktiva makrofager, vilka frisätter pro-inflammatoriska cytokiner som sedan hjälper neutrofilerna vid fagocytos. Under postpartumperioden när epitelcellerna är skadade, tillåts PAMP och DAMP att verka i den sub-epiteliala vävnaden, det sker då en direkt aktivering av dendritiska celler (DC), neutrofiler och inaktiva makrofager. De dendritiska cellerna aktiverar T-celler som utsöndrar cytokiner. De inflammatoriska processerna i livmodern involverar epitelceller, makrofager, T-celler, NK-celler och förmodligen bakterier. Epitelcellerna reglerar inflammationen genom att utsöndra peptider och proteiner. B-celler svarar på antigen från bakterier genom att utsöndra immunoglobuliner som transporteras till ytan på endometriet, där nedbrytning av bakterier sker med hjälp av neutrofiler och makrofager.

Mikroflora

Miljön och förutsättningarna i kons livmoder efter kalvning har betydelse för vilka bakterier som kan växa till, dessa bakterier tar kroppens försvarsmekanismer senare hand om (Sheldon *et al.*, 2008). Livmoderinflammation sker på grund av att de fysiska barriärerna och immunförsvaret som vanligtvis bekämpar bakterier misslyckas med att bekämpa dem (Dadarwal *et al.*, review 2017). En mängd bakterier förekommer i livmodern postpartum (Sheldon & Dobson, 2004) och närvaro av bakterier visades vara mycket vanligt förekommande 10-14 dagar efter kalvning. I så många som 90 % av alla kor påvisades bakterier, oavsett om det fanns några tecken på livmoderinflammation eller ej. Efter kalvningen är cervix fortsatt öppen, detta skapar möjligheter för bakterier att ta sig in igenom vaginan till livmodern och infektera endometriet vilket leder till en livmoderinflammation.

Mjölksyrabildande bakterier (LAB) tillhör majoriteten av livmoderns mikroflora (Wang *et al.*, 2013). *Lactobacillus fermentum* (*L. fermentum*) är en vanligt förekommande mjölksyrabildande bakterie. Studier har gjorts där det har visat sig att närvaron av *L. fermentum* har en inhiberande effekt på *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (Otero & Nader-Macías, 2006a) och *Arcanobacterium pyogenes* (*A. pyogenes*) (Otero & Nader-Macías, 2006b). Detta orsakades av produktion av organiska syror från mjölksyrabildande bakterier som gör att pH-värdet hålls lågt, då skapas en otrevlig och sur miljö för patogena bakterier vilket hämmar deras tillväxt (Reid, 2002). *Lactobacillus sakei* (*L. sakei*) och *Peridocuccis acidilactici* (*P. acidilactici*) har

påträffats i den vaginala mikrofloran hos mjölkkor och har visat sig minska förekomsten av livmoderinflammation (Ametaj *et al.*, 2014).

De första tio dagarna efter kalvning har arter av *Streptococcus*, *Staphylococcus* och *Bacillus* påvisats i friska kor (Wang *et al.*, 2013). Livmoderinflammation orsakas av både grampositiva och gramnegativa bakterier (Santos *et al.*, 2011). Dobson och Sheldon (2004) har visat att inflammationen oftast beror på en ospecifik bakterie som antingen påträffas själv eller i kombination med olika bakterier, som skapar livmoderinflammationen. Bakteriekontamineringen kan anses bero på en obalans mellan de patogena bakterierna och kons immunförsvar. I en studie av Hussain *et al.* (1990) drogs slutsatserna att det snarare beror på att de normala försvarsmekanismerna i immunförsvaret inte fungerar som de ska, än att en specifik bakterieart orsakar livmoderinflammationen.

Den dräktiga kon och kalvning

Efter ägglossning ökar koncentrationen av progesteron, tillväxten av endometrium och myometrium har då redan stimulerats av höga östrogennivåer under follikelfasen (Sjaastad *et al.*, 2016). Den ökade progesteronhalten stimulerar ännu en ökad tillväxt och sekretorisk aktivitet, för att det ska bli en gynnsam miljö för det fertiliserade ägget. Progesteronet inhiberar GnRH som därmed inte stimulerar frisättningen av FSH och LH vilket också motverkar follikeltillväxt och en ägglossning. När livmodern tagit emot det fertiliserade ägget måste embryot signalera till modern att det existerar för att det ska kunna fästa till livmoderväggen. Hos nötkreatur är den embryonala substansen interferon tau. Den behövs för att progesteron ska fortsätta att produceras men också för att motverka en ny brunstcykel.

Under dräktighetens gång expanderar livmodern på grund av den växande kalven, livmoderns muskler blir därför utsträckta (Sjaastad *et al.*, 2016). För att kalven inte ska födas för tidigt inhiberas kontraktioner i livmodern tack vare den höga progesteronkoncentrationen. Stimulans från livmoderslemhinnans körtlar och progesteronsekretionen bidrar till en bevarad dräktighet. Progesteronet bildas främst i gulkroppen under den tidiga dräktigheten, och senare även i moderkakan. Progesteronets uppgift är även att bidra till fostertillväxt och att stimulera juvertillväxten hos kon. Relaxin bildas i moderkakan och äggstockarna under hela dräktigheten och tillsammans med progesteron inhiberar det livmoderkontraktioner. Ligament och cervix mjukas upp av relaxin inför förlossningen. Relaxinets verkan utövas under inverkan av progesteron.

Inför förlossningen är det viktigt att fostret ligger i rätt position för att det ska bli en okomplicerad förlossning (Sjaastad *et al.*, 2016). Kalvens rörelser och kontraktionerna i livmodern gör att kalven kommer i rätt position i förlossningskanalen. Förlossningen börjar på grund av den ökade kortisolkoncentration från kalven. Kortisolet kommer från kalvens binjure som induceras av förhöjda koncentrationer av adrenokortikotropiskt hormon (ACTH) på grund av stress från kalven, på grund av det minskande utrymmet i livmodern. Kortisolet stimulerar omvandlingen av progesteron till östrogen. Progesteronkoncentrationerna minskar när förlossningen närmar sig och östrogenet dominerar under förlossningen. Den ökade koncentrationen av östrogen stimulerar upplösning av proppen som bildats i cervix och gör även att cervixväggen blir mjukare och kan utvidgas under påverkan av relaxin. Själva förlossningen sker i olika steg, de kan delas in i utvidgning av cervix, förlösning av fostret och utstötning av fosterhinnor.

På grund av kontraktionerna i myometriet ökar trycket i fostervattnet som sedan gör att cervix gradvis utvidgar sig till max (Sjaastad *et al.*, 2016). I cervix finns det sensoriska celler som känner av kontraktionerna, de stimulerar frisättning av oxytocin från neurohypofysen. Oxytosen frisläpps sedan ut i blodet och når muskulaturen där effekten blir en ökad frekvens och styrka på kontraktionerna, vilket får kalven att flyttas längre upp i förlossningskanalen. Detta stärker sedan kontraktionerna ännu mer. När kalven befinner sig långt fram i förlossningskanalen hjälper muskulaturen i bukväggen till med att förlösa kalven.

Postpartum

Involution

Det normala händelseförloppet efter kalvning består av flera moment, bland annat tillbakabildning av livmodern och kroppsegen eliminering av bakterier från kalvningen, som tidigare nämnt kallas detta för involution (Sheldon *et al.*, 2008). Att involution sker är en förutsättning för att äggstocksaktiviteten som leder till ovulation ska komma igång så att kon kan bli dräktig igen. För att livmodern ska minska till dess normala, icke-dräktiga, storlek krävs det nekros av vävnaden i livmodern inklusive att viss vävnad från karunklerna bryts ner. De ytligaste epitelcellskikten i livmodern är återställda efter ca 25 dagar medan de djupaste delarna kan behöva upp till sex till åtta veckor för att bli helt återställda. Nedbrytningen av vävnad från karunklerna tar ca 12 dagar, en process som är mycket viktig för viktminskningen av livmodern. Oxytocinet har en betydande roll i involutionen. Vid varje mjölkningstillfälle sker utsöndring av oxytocin, dels för mjölknedsläppets skull men det bidrar också till kontraktion av den glatta muskulaturen i livmodern. Kontraktionen hjälper till med involutionsprocessen genom att eliminera patogener, stöta ur efterbörd och minska storleken på livmodern.

Under involutionen pågår något som kallas för postpartum-anöstrus (Sjaastad *et al.*, 2016). Detta är en period där hypotalamus-, hypofys- och gonad-axeln ska återhämta sig från dräktigheten. De två första veckorna är speciellt viktiga för att involutionen ska börja, för att LH från hypofysframloben ska börja syntetiseras samt att follikeltillväxt ska ske. För mjölkkor har postpartum-anöstrus visats vara ca 14–25 dagar (Rajamahendran & Taylor, 1990). Om en livmoderinflammation utvecklas kan det fördröja återhämtningen av endometriet och således även återupptagandet av östralcykeln. Kommer kon inte igång med östralcyklen resulterar det i en senare inseminering vilket leder till ett längre intervall till nästa kalvning, vilket sänker kons kalvningsfrekvens (Hussain & Daniel, review:1991). Cykliciteten brukar börja igen 21 till 30 dagar efter kalvning hos friska kor (Sakaguchi, *et al.*, 2004). Kor som har haft livmoderinflammation kan få en fördröjd cyklicitet på upp till tio dagar (Zain *et al.*, 1995).

Störningar av postpartumperioden

Negativ energibalans

Under omställningsperioden, som räknas från tre veckor innan kalvning till tre veckor efter kalvning, sker det stora förändringar i kons energimetabolism (Grummer, 1995). Dessa förändringar sker främst på grund av den växande kalven i slutet av dräktigheten men också på grund av omställningen för kon till att vara lakterande. Inför laktationen omfördelas energi för att juvret ska förbereda sig för mjölksyntes (Bauman & Currie, 1980). Klarar kon inte av att ställa om tillräckligt fort hamnar hon i en negativ energibalans. De inlagrade fettreserverna mobiliseras då som fria fettsyror (NEFA) i form av ketonkroppar. Samband mellan ketonkroppsmetaboliter i blodet och mjölkavkastning har visats genom att ökad andel ketonkroppar i blodet hade en negativ inverkan på mjölkavkastningen (Dohoo & Martin, 1984). Den negativa energibalansen har också en viss betydelse för follikeltillväxten i äggstocken, då det har visat sig att negativ energibalans reducerar follikeltillväxten vilket också minskar östrogenproduktionen (Butler, 2003). Andra studier har visat att kor som hade förhöjda koncentrationer av NEFA tredje dagen postpartum hade sämre chans att bli dräktig på första inseminationen (Chapinal *et al.*, 2012). Förhöjda koncentrationer av NEFA har även visats ge negativa effekter på embryon i ett tidigt utvecklingsstadium (Ribero *et al.*, 2016). I en studie av Ospina *et al.* (2010) undersöktes om det fanns ett samband mellan höga koncentrationer av NEFA och risk för bland annat livmoderinflammation, vilket de kunde bekräfta.

Livmoderinflammation

Efter kalvning genomgår de honliga reproduktionsorganen en inflammatorisk process för att rensa ut de vävnader som uppstått genom tillväxt under dräktigheten, samt bakterier som potentiellt kan kontaminera vävnaderna i reproduktionsorganen. En viss typ av inflammation är således en naturlig del efter kalvning. Hos friska kor upphör inflammationen efter ungefär 6–8 veckor, när återhämtningsprocessen är klar. Vissa kor kan dock förbli i en förlängd livmoderinflammation av varierande karaktär (Sheldon *et al.*, 2008). Vid involutionen avlägsnas ett epitelcellager vid karunklerna efter ca 12 dagar, under denna tid saknas den skyddande epitelbarriären då vävnaderna håller på att läka. Detta faktum kan vara en bidragande faktor till ökad risk för utveckling av livmoderinflammation. Återuppbyggnaden av epitelcellerna över karunklerna börjar i kanterna och läker inåt, vilket tar upp till 30 dagar (Wagner & Hansel, 1969). I en preliminär studie av Dadarwal *et al.*, (2017) har de undersökt skillnaden i cytokinutsöndringen mellan kor som genomgår normal involution och kor med livmoderinflammation. Efter att ha jämfört celler från friska kor och kor med livmoderinflammation, kom de fram till att det skiljer sig i utsöndringen av IL10, ”transforming growth factors” (TGF) och ”colony stimulating factors” (CSF)-3.

Kliniska definitioner

Akut metrit (*metritis puerperalis*), är en akut form av livmoderinflammation, som kan utvecklas hos korna ca tio dagar efter kalvning. Ungefär 20 % av alla mjölkkor drabbas någon gång under sin livstid av akut metrit och i vissa besättningar kan upp till ca 40 % av korna drabbas (Galvão *et al.*, 2009). Akut livmoderinflammation märks genom en röd-brun illaluktande flytning och feber. I några fall minskar även mjölmängden och kon visar minskad aptit, trötthet samt ökad hjärtfrekvens. Vissa drabbas även av uttorkning. Ofullständigt avlägsnande av fosterhinnorna, en mycket svår kalvning, död- och tvillingfödelse är tillstånd som ofta är förknippade med akut livmoderinflammation (Markusfeld, 1984; Dillich *et al.*, 2001).

Klinisk endometrit karaktäriseras av förekomsten av var eller varlikt slem i livmodern eller var som utsöndras till vaginan, ökat intervall mellan kalvning och en inseminering som kan leda till en befruktning, samt en cervixdiameter upp till 7,5 cm ca 21 dagar eller senare efter kalvning (LeBlanc *et al.*, 2002). Dessa tre signifikanta faktorer lägger grunden för kvalificering och diagnostisering av klinisk endometrit. Ungefär 20 % av alla mjölkkor utvecklar klinisk endometrit, med 5 till 30 % prevalens (Galvao *et al.*, 2009).

Subklinisk endometrit klassificeras som livmoderinflammation med närvaro av varfylld vävnad i vaginan men utan synliga symptom. Denna typ av livmoderinflammation bestäms vanligtvis genom cytologi, dvs. på cellnivå, då det är en subklinisk sjukdom som är svår att upptäcka. En diagnos ställs genom sköljning av livmodern och mätning av mängden närvarande neutrofiler. Diagnostisering kan också göras genom att borsta med en cytoborste på slemhinnan, för att på så sätt få fram ett prov på neutrofilnivåerna. (Sheldon *et al.*, 2006). Subklinisk endometrit är den vanligaste typen av inflammation och drabbar i genomsnitt 30 % av alla kor. Prevalensen i besättningarna hamnar från 11 till 70 % (Gilbert *et al.*, 2005).

Stängd pyometra är en form av livmoderinflammation som innebär ansamling av var i livmodern, som sker under närvaro av en aktiv gulkropp (*corpus luteum*) och en stängd cervix (Sheldon *et al.*, 2006).

Vilka grupper av kor drabbas främst av livmoderinflammation?

Utifrån den forskningen jag har tagit del av finns det inte så många studier om skillnader mellan första- och andrakalvande mjölkkor, mellan mjölkkoraser eller mellan mjölk- och köttraser. I en studie med Reisen *et al.* (1968) fann de att involutionen gick snabbare hos kor vars kalvar diar.

I en studie av Ntallaris *et al.* (2017) gjordes det försök med Holstein- och SRB-kor där de var indelade i fyra grupper, två grupper inom respektive ras, som utfodrades med två olika foderstater, en hög- och en lågenergirik foderstat. De kom fram till att ras eller diet inte hade någon generell betydelse för koncentrationen av NEFA. De kunde se att SRB-kor hade högre andel NEFA innan kalvning, vilket indikerar att de har en högre andel mobiliserat fett i form av NEFA innan kalvning, medan för Holstein-kor var koncentrationen av NEFA högre i blodet efter kalvning. Den negativa energibalansen har visat sig kunna påverka follikeltillväxten negativt som leder till en minskad östrogenproduktion (Butler, 2003). Vilket således innebär att koncentrationen av NEFA i blodet har en negativ inverkan på reproduktionsorganen.

Förebyggande åtgärder

Beroende på vilken typ av livmoderinflammation en ko drabbas av skiljer det sig märkbart åt hur allvarlig den blir för kons hälsa och produktion (Sheldon *et al.* 2006). Genom att diagnostisera en livmoderinflammation tidigt går det att behandla den på optimalt sätt, vilket gör att chanserna att kon blir frisk och förblir fertil ökar. Därför är det generellt viktigt med noggrann observation av en nykalvad ko. Faktorer såsom död-, tvillingfödsel med flera komplikationer vid förlossningen ökar risken för att kon ska utveckla en allvarlig livmoderinflammation. Detta

är viktigt att beakta så att kor som är i riskzonen på grund av dessa faktorer kan observeras extra noga för att en eventuell infektion ska upptäckas så snabbt som möjligt (Markusfeld, 1984). I allvarliga fall krävs antibiotikabehandling men utöver observation av symtom hos kon finns det en del förebyggande åtgärder som är möjliga.

I en studie av Noakes *et al.* (1991) jämfördes två besättningar, en med sämre och en med bättre stallhygien. Resultaten från den studien visade att det inte var några större skillnader och att samma bakterier påträffades vaginalt i de båda besättningarna hos kor med livmoderinflammation. En annan, lite större studie av Cheong *et al.* (2011) jämförde kor med olika strömaterial (halm, spån, papper och sand) i kalvningsboxarna och där de stod kort tid efter kalvningen. Studien visade att korna som stod på halm hade något lägre risk att utveckla subklinisk endometrit än de kor som stod på något av de andra strömedlen. Studien visade också att kor som fick gå i lösdrift med liggplats och spalt hade lägre risk att utveckla subklinisk endometrit än de som fick gå i lösdrift på djupströbädd. Hygien har således en viss betydelse på hur mikrofloran i vaginan är och hur stor risken är för utveckling av livmoderinflammation (Noakes *et al.*, 1991).

I en studie av Machado *et al.* från 2014 testades fem olika vaccin mot bakterier som orsakar livmoderinflammation, där tre injicerades subkutant och två administrerades intravaginalt. Av de tre vaccin som injicerades subkutant innehöll ett vaccin inaktiverade bakterieceller och protein, det andra innehöll protein och det tredje endast inaktiverade bakterier. De två vaccinen som administrerades intravaginalt innehöll inaktiverade bakterieceller och protein respektive en kombination av prolysin och leukotoxin. Studien visade att vaccinen inducerade en ökad produktion av immunoglobuliner mot alla antigener, där de tre subkutana vaccinen var de mest effektiva. De kom också fram till att de subkutana vaccinen som innehöll inaktiverade bakteriekomponenter från *E. coli*, *F. necrophorum* och *T. pyrogenes* i olika kombinationer kunde förebygga akut metrit hos mjölkkor, vilket ledde till en förbättrad reproduktionsförmåga.

Diskussion

Syftet med denna litteraturgenomgång var att redogöra för förändringar i reproduktionsorganen i samband med kalvning och vilka faktorer som påverkar risken för en mjölkko att utveckla livmoderinflammation. Involutionen av livmodern har visat sig vara väldigt viktig för den framtida reproduktionsförmågan, för att kon ska kunna återhämta sig och återgå till cykliciteten igen. En låg grad av inflammation har visat sig förekomma under läkningsprocessen och får den inte ske ostört påverkas fertiliteten negativt. Utveckling av allvarlig livmoderinflammation medför stora problem, som tidigare nämnts sämre fertilitet men också lägre mjölkavkastning och höga behandlingskostnader som innebär stora ekonomiska förluster för lantbrukaren.

Efter kalvningen, när cervix fortfarande är öppen, har immunförsvaret i livmodern en betydande roll, inte minst för att involutionen ska kunna fortlöpa utan störningar. Bristande förutsättningar i immunförsvaret skapar möjligheter för kontaminering av patogener, vilket kan leda till utveckling av livmoderinflammation. Det bekräftades i en studie av Hussain *et al.* 1990 att variationen av vilka patogena bakterier som kontaminerar livmodern är stor och att det är snarare är

de bristande mekanismerna i livmoderns immunförsvar som orsakar en utvecklad inflammation. Detta gör det extra svårt att förutse vilka mjölkkor som kommer att drabbas då varje mjölkkos immunförsvar är individuellt. Enligt sammanställningen ovan kan mikrofloran i genitalorganen ha en positiv effekt som minskar risken att en livmoderinflammation ska utvecklas. Eftersom närvaron av mjölksyraproducerande bakterier i könsorganen kan förebygga risken för livmoderinflammation, kan en tanke vara att exempelvis tillföra dessa mjölksyrabildande bakterierna i cervix under tiden som cervix är öppet. Någon forskning om detta har jag inte träffat på, det skulle därför vara av stort intresse att ta del av framtida forskning på detta område.

Hygien i omgivningen har visats ha en väldigt liten påverkan på risken för utveckling av livmoderinflammation och bedömdes därför inte vara någon avgörande orsak. I båda studierna av Noakes *et al.*, (1991) och Cheong *et al.*, (2011) omfattade dock relativt få djur vilket gör det olämpligt att dra några generella slutsatser. Däremot anser jag att en så god hygien som möjligt är viktig vid hantering av djur då bakterier kan orsaka andra smittor och sjukdomar.

Den negativa energibalans som uppkommer efter kalvning hos en högproducerande mjölkko skapar stora problem, inte minst för kons välmående men också produktionsmässigt. Att det påvisats finnas ett negativt samband mellan höga koncentrationer av NEFA och fertilitet är ännu ett produktionsmässigt bekymmer, inte minst ekonomiskt. Att balansera utfodringen så optimalt som möjligt är därför en viktig faktor för att minska risken för mobilisering av kroppsreserverna och således minska risken för negativ påverkan på fertiliteten.

Forskning om vaccin för att förebyggande uppkomsten av livmoderinflammation är ett relativt nytt område, och relativt lite forskning har gjorts. Det är därför svårt att säga hur effektivt och säkert vaccin mot livmoderinflammation är, och hur många kor som skulle slippa bli för tidigt utslagna ur produktionen genom den typen av insats. Vaccinets pris är också en viktig parameter vid övervägning av användning, skulle vaccinering bli billigare än behandlingskostnader och produktionsförlust vid livmoderinflammation skulle det finnas en lönsamhet. Vid vaccinering mot vissa patogena bakterier skapas möjligheter för andra patogena bakterier att träda fram och få utrymme. Det är därför viktigt att forska på vilka patogena bakterier det är av störst värde att vaccinera mot.

Det finns vissa skillnader i risken för att utveckla livmoderinflammation mellan kött- och mjölk-koraser, men även mellan olika mjölkkraser. Förmågan att mobilisera NEFA i form av keton-kroppar ut i blodet har visat sig skilja mellan Holstein- och SRB-kor (Ntallaris *et al.*, 2017). Denna skillnad påverkar också deras reproduktionsförmåga, då det finns ett negativt samband mellan NEFA och reproduktionsfunktioner. Mellan mjölk- och köttkoraser beror skillnaderna troligen till stor del på att de har olika produktionskrav och olika förutsättningar, så som att di-kornas kalvar får dia vilket har en positiv effekt på involutionen. Eftersom det inte finns så mycket forskning som jämför olika rasers risk för att utveckla livmoderinflammation kan det vara av intresse med framtida studier om det.

Slutsats

Störningar under involutionen som negativ energibalans och livmoderinflammation leder till förändringar i reproduktionsorganen. Den negativa energibalansen har visat sig ha ett negativt samband med reproduktionsförmåga, som leder till störningar på den embryonala tillväxten och östrogenproduktionen. Bristande förmåga i livmoderns immunförsvar gör att patogena bakterier kan orsaka livmoderinflammation. Livmoderinflammation är ett vanligt problem i dagens mjölkindustri som kan leda till nersatt djurhälsa, infertilitet och lägre avkastning vilket därmed innebär stora ekonomiska förluster. Ökade kunskaper om vad som påverkar risken för att en mjölkko att drabbas av livmoderinflammation och vilka förebyggande åtgärder som är effektiva är därför av stort intresse.

Referenser

- Ametaj, B.N., Iqbal, S., Selami, F., Odhiambo, J.F., Wang, Y., Gänzle, M.G., Dunn, S.M., Zebeli, Q. (2014). Intravaginal administration of lactic acid bacteria modulated the incidence of purulent vaginal discharges, plasma haptoglobin concentrations, and milk production in dairy cows. *Research in Veterinary Science*. Vol 96, ss. 365-370. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2014.02.007>
- Bartlett, P.C., Kirk, J.H., Wilke, M.A., Kaneene, J.B., Mather, E.C. (1986). Metritis complex in Michigan Holstein-Friesian cattle: Incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact. *Preventive Veterinary Medicine*. Vol, 4, ss. 235-248. [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(86\)90026-7](https://doi.org/10.1016/0167-5877(86)90026-7)
- Bauman, D.E., Currie, W.B. (1980). Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science*. Vol 9, ss. 1514-1529. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)83111-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)83111-0)
- Blazques, N.B., Batten, E.H., Long, S.E., Perry, G.C. (1987). Histology and histochemistry of the bovine reproductive tract caudal to the cervix part I. The vestibule and associated glands. *British Veterinary Journal*, vol 143. 4. [https://doi.org/10.1016/0007-1935\(87\)90066-2](https://doi.org/10.1016/0007-1935(87)90066-2)
- Butler, W.R. (2003). Energy balance relationship with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Reproductive Science*. Vol 83, ss. 211-218. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(03\)00112-X](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(03)00112-X)
- Chapinal, N., Carson, M.E., LeBlanc, S.J., Leslie, K.E., Godden, S., Capel, M., Santos, J.E.P., Overton, M.W., Duffield, T.F. (2012). The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *Journal of Dairy Science*. Vol 95, ss. 1301-1309. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4724>
- Cheong S.H., Nydam, D.V., Galvão, K.N., Crosier, B.M., Gilbert, R.O. (2011). Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. Vol 94, ss. 762-770. DOI: 10.3168/jds.2010-3439
- Dadarwal, D., Palmer, C., Griebel, P. (2017). Mucosal immunity of the postpartum bovine genital tract. *Theriogenology*, vol 104, ss. 62-71. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2017.08.010
- Davies, D., Meade, K.G., Herath, S., Eckersall, P.D., Gonzales, D., White, J.O., Conlan, R.S., O'Farrelly, C., Sheldon, M. (2008). Toll-like receptor and antimicrobial peptide expression in the bovine endometrium. *Reproductive Biology and Endocrinology*. Vol 6, ss. 1-12. <http://www.rbej.com/content/6/1/53>
- Dillich, M., Beetz, O., Pfützner, Sabin, M., Sabin, H-J., Kutzer, P., Nattermann, H., Heuwieser, W. (2001). Evaluation of systematic antibiotic treatment of toxic puerperal metritis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. Vol 84, ss. 2012-2017. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(01)74644-9
- Dohoo, I.R., Martin, S.W. (1984). Subclinical ketosis: prevalence and associations with production and disease. *Comparative Medicine*. Vol 48, ss. 1-5. PMID: 6713247.

- Galvão, K., Frajblat, M., Brittin, S.B., Butler, W.R., Guard, C.L., Gilbert, R.O. (2009). Effects of prostaglandin F_{2α} on subclinical endometritis and fertility in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. Vol 92, ss. 4906-4913. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1984>
- Gilbert, R.O., Shin, S.T., Guard, C.L., Erb, H.N., Frajblat, M. (2005). Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*. Vol 64, ss. 1879-1888. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.04.022>
- Grummer, R.R. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Animal Science*. Vol 75, ss. 2820-2833. PMID: 8582873
- Hussain, A.M., Daniel, R.C.W., O'boyle, D. (1990). Postpartum uterine flora following normal and abnormal puerperium in cows. *Theriogenology*. Vol 34, ss. 291-302. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(90\)90522-U](https://doi.org/10.1016/0093-691X(90)90522-U)
- Hussain, A.M., Daniel, R.C.W. (1991). Bovine Normal and Abnormal Reproductive and Endocrine Functions during the Postpartum Period: A Review. *Reproduction in Domestic Animals*. Vol 26, ss. 101-111. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.1991.tb01526.x>
- Kolls, J.K., McCray P.B., Chan, Y.R. (2008). Cytokine-mediated regulation of antimicrobial proteins. *Nature Reviews Immunology*. Vol 8, ss. 829- 835. DOI: 10.1038/nri2433
- LeBlanc, S.J., Duffield, T.F., Leslie, K.E., Bateman, K.G., Keefe, G.P., Walton, J.S., Johnson, W.H. (2002). Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. Vol 85, ss. 2223-2236. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74302-6
- Machado, V.S., De Souza Bicalho, M.L., De Souza Miera junior, E.B., Rossi, R., Ribeiro, B.L., Lima, S., Santos, T., Kussler, A., Foditsch, C., Ganda, E.K., Oikonomou, G., Cheong, S.H., Gilbert, R.O., Bichalho, R.C. (2014). Subcutaneous immunization with inactivated bacterial components and purified protein of *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum* and *Trueperella pyogenes* prevents puerperal metritis in Holstein dairy cows. *Plos one*. Vol 9, ss. 1-11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091734>
- MacKintosh, S.B., Schuberth, H.J., Healy, L.L., Sheldon, I.M. (2013). Polarised bovine endometrial epithelial cells vectorially secrete prostaglandins and chemotactic factors under physiological and pathological conditions. *Reproduction*. Vol 145, ss. 57-72. DOI: 10.1530/REP-12-0253
- Markusfeld, O. (1984). Factors responsible or post parturient metritis in dairy cattle. *Veterinary Record*. Vol. 114, ss. 539-542. DOI: 10.1136/vr.114.22.539
- Noakes, D.E., Wallace, L., Smith G.R. (1991). Bacterial flora of the uterus of cows after calving on two hygienically contrasting farms. *Veterinary Record*. Vol 19, ss. 440-442. DOI: 10.1136/vr.128.19.440
- Ntallaris, T., Humblot, P., Båge, R., Sjunnesson, Y., Dupont, J., Berglund, B. (2017). Effect of energy balance profiles on metabolic and reproductive response in Holstein and Swedish red cows. *Theriogenology*. Vol 90, ss. 276-283. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.12.012>

- Ospina, P.A., Nydam, D.V., Stokol, T., Overton, T.R. (2010). Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: critical thresholds for prediction of clinical diseases. *Journal of Dairy Science*. Vol 93, ss. 546-554. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2852>
- Otero, M.C., Nader- Macías, M.E. (2006a). Inhibition of *Staphylococcus aureus* by H₂O₂-producing *Lactobacillus gasseri* isolated from the vaginal tract of cattle. *Animal Reproduction Science*. Vol 96, ss. 35-46. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.11.004>
- Otero, M.C., Nader- Macías, M.E. (2006b). Probiotic properties of vaginal lactic acid bacteria to prevent metritis in cattle. *Letters in Applied Microbiology*. ISSN 0266-8254.
- Rajmahendran, R., Taylor, C. (1990). Characterization of ovarian activity in postpartum dairy cows using ultrasound imaging and progesterone profiles. *Animal Reproductive Science*. Vol 22, ss. 171-180. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(90\)90058-N](https://doi.org/10.1016/0378-4320(90)90058-N)
- Reid, G. (2002). Probiotics of urogenital health. *Nutrition in Clinical Care*. Vol 5, ss. 3-8. <https://doi.org/10.1046/j.1523-5408.2002.00512.x>
- Ribero, E.S., Gomes, G., Greco, L.F., Cerri, R.L.A., Vieira-Neto, A., Montiero, P.L.J.Jr., Lima, F.S., Bisonotto, R.S., Thatcher, W.W., Santos, J.E.P. (2016). Carryover effect of postpartum inflammatory diseases on developmental biology and fertility in lactating dairy cows. *American Dairy Science Association*. Vol 99, ss. 2201-2220. DOI: 10.3168/jds.2015-10337
- Ridderstråle, Y., Holm, L. (2003). Kompendium i histologi. [Kurslitteratur i Husdjurens anatomi och fysiologi]. Sveriges lantbruksuniversitet.
- Santos, T.M.A., Gilbert, R.O., Bicalho, R.C. (2011). Metagenomic analysis of the uterine bacterial microbiota in healthy and metritic postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science*. Vol 94, ss. 291-302. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3668>
- Riesen, J.W., Saiduddin, S., Tyler W.J., Casida L.E. (1968). Relation of post-partum interval to corpus luteum development, pituitary prolactin activity, and uterine involution in dairy cows. (Effect of suckling). Studies on the post-partum cow. *Research Bulletin*. Vol 270, ss. 15-22. University of Wisconsin.
- Sakaguchi, M., Sasamoto, Y., Suzuki, T., Takahashi, T., Yamada, Y. (2004). Postpartum resumption of ovarian activity and uterine involution monitored by ultrasonography in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. Vol 87, ss. 2114- 2121. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)70030-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70030-2)
- Sheldon, I.M, Dobson, H. (2004). Postpartum uterine health in cattle. *Animal Reproduction Science*. Vol 82-83, ss. 295-306. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.006>
- Sheldon, I.M., Lewis, G.S., LeBlanc, S., Gilbert, R.O. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, vol 65, ss. 1516-1530. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.08.021>

- Sheldon, I.M., Williams, E.J., Miller, A.N.A., Nash, D.M., Herath, S. (2008). Uterine diseases in cattle after parturition. *The Veterinary Journal*, vol 176, ss. 115-121. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.031>
- Sjaastad, Ø.V., Olav, S., Hove, K. (2016). *Physiology of domestic animals*. 3. uppl. Ames: Scandinavian veterinary press.
- Wagner, W.C., Hansel, W. (1969). Reproductive physiology of the postpartum cow. I. Clinical and histological findings. *Journal of Reproduction and Fertility* Vol 18, ss. 493-500. <http://www.reproduction-online.org/content/18/3/493.full.pdf+html>
- Wang, Y., Ametaj, B.N., Ambrose, D.J., Gänzle, M.G. (2013). Characterisation of the bacterial microbiota of the vagina of dairy cows and isolation of pediocin-producing *Pediococcus acidilactici*. *BMC Microbiology*. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-13-19>
- Wordinger, R.J., Amsel, K.R. (1980). Histochemical identification of the glycocalyx layer in the bovine oviduct and endometrium. *Animal Reproduction Science*. Vol 3, ss. 189-193. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(80\)90015-9](https://doi.org/10.1016/0378-4320(80)90015-9)
- Zain, A.E.D., Nakao, T., Raouf, M.A., Moriyoshi, M., Kawara, K., Moritsu, Y. (1995). Factors in the resumption of ovarian activity and uterine involution in postpartum dairy cows. *Animal Reproduction Science*. Vol 38, ss. 203-214. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(94\)01359-T](https://doi.org/10.1016/0378-4320(94)01359-T)