

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA TIERRA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA



PROYECTO DE INVESTIGACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN
DEL TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO.

**Diagnóstico de endometritis subclínica mediante citobrush en vacas post-
parto en el hato del CIPCA.**

AUTOR:

VÍCTOR MAURICIO VILLACRÉS BARRIONUEVO

DIRECTOR:

Ing. Zoo. JUAN CARLOS MOYANO TAPIA

PUYO – PASTAZA – ECUADOR

-2016-

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO.

Yo, Víctor Mauricio Villacrés Barrionuevo con número de cédula 1600543233 declaro que el presente proyecto sobre el tema **“Diagnóstico de endometritis subclínica mediante citobrush en vacas post-parto en el ható del CIPCA”**, previo a la obtención del Título de Ingeniero Agropecuario, es auténtica y original y que los derechos de Autores le Corresponde a la Universidad Estatal Amazónica “UEA”.

Puyo, 07 de junio del 2016

Víctor Mauricio Villacrés Barrionuevo

C.I. 1600543233

CERTIFICACIÓN

El suscrito, **Ing. Zoo. Juan Carlos Moyano M. Sc.**, Docente de la Universidad Estatal Amazónica, certifica que el **Egresado Víctor Mauricio Villacrés Barrionuevo**, realizó el proyecto de investigación y desarrollo previo a la obtención de Ingeniero Agropecuario titulado “**Diagnóstico de endometritis subclínica mediante citobrush en vacas post-parto en el hato del CIPCA**”, bajo mi tutoría y dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Ing. Zoo. Juan Carlos Moyano M. Sc.

DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
UNIDAD DE LA TECNOLOGÍA DE LA INFORMACIÓN



Copias

Oficio No. 123-UTI-UEA-2016
Puyo, 09 de Junio de 2016

Señores
Secretaría Académica U.E.A.
Presente.-

572
YS
15:15

Por medio de presente CERTIFICO que:

El proyecto de titulación, investigación y desarrollo correspondiente a **VICTOR MAURICIO VILLACRES BARRIONUEVO**, con el Tema: **"DIAGNOSTICO DE ENDOMETRITIS SUBCLINICA CITOBUSH EN VACAS POST-PARTO EN EL HATO DEL CIPCA"**, de la Carrera de Ing. Agropecuaria, Director de proyecto. Ing. Zoo. Juan Carlos moyano MsC., ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 09%. Informe generado con fecha 07 de junio de 2016 por parte del Director conforme archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,



Ing. Elias Jachero Robalino MsC.
UNIDAD DE TECNOLOGÍAS DE LA INFORMACIÓN DE LA UEA
ADMINISTRADOR DEL SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND – UEA - .

NOTA: Adjunto Informe generado el 07 de junio de 2016 por parte del Director.

Puyo, 7 de junio del 2016

Ing.

Eliás Jachero.

ADMINISTRADOR DEL SISTEMA ANTIPLAGIO

Presente.

De mi consideración:

Estimado Ing. Eliás Jachero reciba un cordial saludo, me dirijo a usted, para solicitar la emisión del certificado correspondiente del proyecto de Investigación y Desarrollo, titulado: "Diagnóstico de endometritis subclínica mediante citobrush en vacas post-parto en el hato del Cipea" del egresado Víctor Mauricio Villacrés Barrionuevo, de la carrera de ingeniería Agropecuaria.

En el reporte Urkund Analysis Result, de fecha 07-06-2016, hora 15:18:00, aparece con el 9% de coincidencia.

Por la atención al presente anticipo mis agradecimientos.

Atentamente;



Ing. Zoo. Juan Carlos Moyano M. Sc.

DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICADO ANTIPLAGIO



Urkund Analysis Result

Analysed Document: PROYECTO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO MAURICIO.doc
(D20761674)
Submitted: 2016-06-07 15:18:00
Submitted By: jmoyano@uea.edu.ec
Significance: 9 %

Sources included in the report:

TESIS COMPLETA JOFFRE MASAQUIZA.docx (D14809088)
Informe sobre Inseminacion Artificial.docx (D15378520)
http://revistataurus.com.ar/uploads/productos/20150707161707_6_trabajos_originales.pdf
<http://www.scielo.org.co/pdf/rmv/n27/n27a10.pdf>

Instances where selected sources appear:

16

**CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR TRIBUNAL DE
SUSTENTACIÓN**

EL TRIBUNAL DE DEFENSA DEL PROYECTO CERTIFICA QUE:

El presente trabajo fue titulado: **Diagnóstico de endometritis subclínica mediante citobrush en vacas post-parto en el hato del CIPCA**, bajo la responsabilidad del estudiante egresado **VÍCTOR MAURICIO VILLACRÉS BARRIONUEVO**, ha sido meticulosamente revisada, autorizada su presentación.

Dr. David Sancho Aguilera. PhD.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dr. Francisco V. Lam Romero. PhD.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dra. María Isabel Viamonte. PhD.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

A DIOS, ser maravilloso que me brinda la paciencia, sabiduría y fortaleza en los momentos más difíciles de mi vida, tú quién eres mi luz, mi soporte y mi guía para salir de todas las adversidades, por enseñarme a tener fé en todo lo que uno se propone y así convertirme en un ser humano de bien.

A mis padres Luis y Carmen, por ser aquellas personas que me brindaron el ejemplo latente de sacrificio y superación, forjadores de mi niñez e impulsores en mi juventud quienes me dieron el don más apreciado la VIDA.

A mi prestigiosa Universidad Estatal Amazónica y al Centro de Investigación, Postgrado y Conservación Amazónica (CIPCA) donde he pasado más horas durante todos estos años de preparación profesional, a todos mis profesores que me han impartido sus enseñanzas.

A mi Director de Tesis Ing. Zoo. Juan Carlos Moyano M. Sc. y al Dr. M.V. Roberto Quinteros, quienes supieron guiarme con sus conocimientos y capacidad profesional, para que el presente proyecto llegue a un feliz término.

A mis compañeros de clase, quienes sin esperar nada a cambio compartieron su conocimiento, alegrías y tristezas.

DEDICATORIA

Este proyecto de investigación se la dedico a mi Dios quien supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A mis padres Luis y Carmen, por su apoyo incondicional, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles y por ayudarme con los recursos necesarios para realizar mis estudios universitarios.

A mis hermanos, Ximena y Leonardo, por su apoyo, cariño y por estar en los momentos más importantes de mi vida.

A mi querido Abuelito, Vicente y a mi sobrino Mateo, quienes de una u otra manera han sido la inspiración para poder alcanzar las metas en mi vida.

RESUMEN

La presente investigación tiene por objetivo diagnosticar endometritis subclínica en 20 vacas mediante la técnica de citobrush. Se seleccionaron los 20 animales entre 30 a 90 días post-parto las cuales fueron sometidas al método de citobrush (citología endometrial) las muestras fueron llevadas al laboratorio de microbiología para realizar en conteo de células polimorfonucleares (neutrófilos) y su respectivo cultivo de los microorganismos capturados en las muestras, luego de 15 días se repitió el proceso en el 40% de animales procesados inicialmente previa selección de los animales que no manifiestan alteración alguna según el diagnóstico, para verificación y validación de los datos obtenidos en el primer proceso. En la primera toma de muestras por Cytobrush la presencia de endometritis es 60% corresponden a endometritis subclínica, el 15% corresponden a endometritis clínica y el 25% a vacas sanas. Y en el segundo proceso de validación del 40% es decir fueron intervenidos 8 animales de los cuales el 25% se diagnosticó endometritis subclínica, el 12,50 endometritis clínica y el 62,50 a vacas sanas. Determinando, que el grado de inflamación va en función del número de Polimorfonucleares (neutrófilos) sobre las células epiteliales presentes en el endometrio, el punto de corte que se utilizó fue $\geq 5\%$ de PMN N como rango mínimo y $< 18\%$ de PMN N como rango máximo. En cuanto al análisis del cultivo realizado encontramos el aislamiento de 5 microorganismos en las dos tomas de muestras como predominantes: *Staphylococcus*, *Streptococcus* (gama hemolíticos) y el *E. coli*, mientras que el *Streptococcus agalactiae* y *coliformes* fue menos encontrado en relación de todo el muestreo, según los resultados de antibiograma se recomienda utilizar el antibiótico (E)Eritromicina y (G)Gentamicina para controlar la infección causada por los microorganismos.

Palabras clave: Vacas post-parto, Endometritis, Citología endometrial, Microorganismos, Tratamiento.

ABSTRACT

This research aims to diagnose subclinical endometritis in 20 vacas by cytobrush technique. 20 animals 30 were selected at 90 days postpartum which were subjected to the method of cytobrush (endometrial cytology) samples were taken to the microbiology laboratory for in count polymorphonuclear cells (neutrophils) and their cultivation of microorganisms captured in samples, after 15 days, the process was repeated in 40% of animals initially processed prior selection of animals that do not show any alteration by diagnosis for verification and validation of the data obtained in the first process. In the first sampling by Cytobrush the presence of endometritis is 60% relate to subclinical endometritis, 15% correspond to clinical endometritis and 25% of healthy cows. And in the second validation process 40% were operated 8 animals of which 25% were diagnosed with subclinical endometritis, clinical endometritis 12.50 and 62.50 to healthy cows. Determining that the degree of inflammation is based on the number of polymorphonuclear (neutrophils) on epithelial cells in the endometrium, the fucking cut used was $\geq 5\%$ PMN N minimum range and $<18\%$ of PMN N maximum range. For analysis of culture performed found isolation of 5 microorganisms in the two sampling as predominant: Staphylococcus, Streptococcus (hemolytic range) and E. coli, whereas Streptococcus agalactiae and coliforms was less found in relation around the sampling, according to the results of susceptibility testing it is recommended antibiotic (E) and Erythromycin (G) Gentamicin for controlling infection caused by microorganisms.

Keywords: postpartum cows, endometritis, endometrial cytology, Microorganisms, Treatment.

ABREVIATURAS

UEA: Universidad Estatal Amazónica

CIPCA: Centro de Investigación, Postgrado y Conservación Amazónica

ES: Endometritis subclínica

EC: Endometritis clínica

CB: Citobrush

PMN: Polimorfonucleares

PMN n: polimorfonucleares neutrófilos

% PMN n: porcentaje de polimorfonucleares neutrófilos.

IA: Inseminación artificial.

CT: Células totales

DEL: Días de lactancia

TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Problema	2
1.2 Hipótesis general.....	2
1.3 Objetivo General.....	2
1.4 Objetivos Específicos.	2
CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN. ..	4
2.1 Aparato reproductor femenino bovino.....	4
2.2 Genital externo.....	4
2.2.1 Vulva	4
2.3 Genitales internos	4
2.3.1 Vagina.....	4
2.3.2 Cérvix.	5
2.3.3 Útero.	5
2.4 Endometrio.....	6
2.5 Miometrio	6
2.6 Perimetrio.....	7
2.7 Ciclo estral.	7
2.7.1 Fisiología del ciclo estral.....	7
2.7.2 Modificaciones histológicas durante el ciclo estral.	8
2.7.3 Modificaciones histológicas durante el ciclo sexual	9
2.8 Endometritis.....	9
2.8.1 Definición.	9
2.8.2 Clasificación:	9
2.9 Citobrush.....	13
2.9.1 Definición.	13
2.10 Antibiograma.	14
CAPITULO III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.	16
3.1 Ubicación del ensayo.	16
3.2 Tipo de investigación.....	17
3.3 Metodología.	17
3.3.1 Metodología estadística	17
3.3.2 Unidad de estudio.	17

3.3.3	Manejo del ensayo	18
3.4	Recursos humanos y materiales:.....	20
3.4.1	Humanos.....	20
3.4.2	Insumos.....	20
3.4.3	Equipos.....	20
3.4.4	Materiales de oficina.....	21
	CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
4.1	Resultados del conteo de células polimorfonucleares neutrófilos (PMN n) y células epiteliales (CE), en la primera toma de muestras por Cytobrush (CB).....	23
4.2	Resultados del conteo de células polimorfonucleares neutrófilos (PMN n) y células epiteliales (CE), en la segunda toma de muestras por Cytobrush (CB).....	24
4.3	Resultados de incidencia de endometritis subclínica en las dos tomas de muestras por cytobrush (CB).....	25
4.4	Interpretación de microorganismos encontrados.....	28
4.5	Resultados del antibiograma realizado a partir del citobrush.....	29
	CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	30
5.1	Conclusiones.....	30
5.2	Recomendaciones.....	30
	CAPITULO VI. REFRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31
	CAPITULO VII. ANEXOS.....	35

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Vista lateral del sistema reproductor de la vaca.....	4
Gráfico 2 Vista lateral del útero bovino	5
Gráfico 3 Ejemplo de descargas uterinas.	10
Gráfico 4 Antibiograma disco- placa.....	15
Gráfico 5 Porcentaje del diagnóstico de endometritis subclínica en el primer muestreo...	24
Gráfico 6 Porcentaje del diagnóstico de endometritis subclínica en el segundo muestreo.	25
Gráfico 7 Incidencia de endometritis subclínica en las dos tomas de muestra por citobrush.	26

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 RESULTADOS DEL CONTEO DE CÉLULAS POLIMORFONUCLEARES NEUTRÓFILOS (PMN N).....	22
Tabla 2 Tabla de frecuencia con la incidencia de la endometritis por muestreo.....	26
Tabla 3 Tabla de porcentajes con la incidencia de la endometritis por muestreo.	26
Tabla 4 Tabla de frecuencia de endometritis por genotipo en el primer grupo.....	27
Tabla 5 Tabla de frecuencia de endometritis por genotipo en el segundo grupo.	27
Tabla 6 Tabla de porcentajes con la incidencia de la endometritis por genotipo.....	28
Tabla 7 Microorganismos encontrados en muestras de citobrush.....	28
Tabla 8 Resultados de antibiograma.....	29

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1 Selección de animales para el trabajo de investigación.....	35
Ilustración 2 Preparación de las brochas y la pistola para iniciar el Cepillado endometrial (Cytobrush).....	35
Ilustración 3 Chequeo ginecológico.	36
Ilustración 4 Desarrollo del método Citobrush	36
Ilustración 5 Frotis en las respectivas placas con identificación del animal, bajo la supervisión del Dr. Roberto Quinteros, responsable Programa Bovino del Cipca.	36
Ilustración 6 Realizando un enjuague de la brocha para su respectivo cultivo de microorganismos.	37
Ilustración 7 Realizando la tinción de placas, obtenidos por la técnica de Cytobrush. Tinción 15 (Biopur).....	37
Ilustración 8 Preparando agar para el antibiograma	38
Ilustración 9 Conteo de PMN n, de placas obtenidas por el frotis y ya tincionadas	38
Ilustración 10 Microfotografía óptica. 100x. Tinción 15. Frotis obtenido por Cytobrush. Se observan células Polimorfonucleares Neutrófilos (PMN n).....	39
Ilustración 11 Presencia de microorganismos en él cultivo. Se puede apreciar más en animales con presencia de endometritis subclínica	39
Ilustración 12 Antibiograma para observar la inhibición de crecimiento de los microorganismos obtenidos en la siembra.....	40
Ilustración 13 Equipo de trabajo.....	41

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

En bovinos lecheros la búsqueda de mayor eficiencia, tanto biológica como económica, depende de la mayor producción de leche por lactancia y de un conjunto de componentes de la producción, entre ellos, la eficiencia reproductiva (Marini *et al.*, 2002). Cuanto más frecuentemente una vaca lechera tenga un ternero, mayor será la cantidad de leche producida durante su vida. La baja eficiencia reproductiva tiene como resultado sobre los sistemas de producción de leche importantes pérdidas económicas por menor producción y menor número de nacimientos de terneros por año (Marini *et al.*, 2002).

Se ha determinado que alrededor del 90% de las vacas adquieren infección uterina durante las dos primeras semanas posparto (Blanch, 1994), debido a que luego del parto ocurre una invasión de microorganismos provenientes del cérvix, vagina, vestíbulo y región perianal. Este período es muy importante en la vida reproductiva de la vaca debido a su influencia sobre la eficiencia reproductiva futura de la hembra. Las enfermedades uterinas posparto, infecciones uterinas inespecíficas, son la causa más común de infertilidad y contribuyen en forma significativa a las pérdidas económicas de la industria bovina. Las infecciones uterinas retrasan la involución posparto del útero, prolongan el tiempo necesario para el reinicio de la actividad ovárica cíclica, aumentan el número de servicios por concepción y consecuentemente prolongan el intervalo entre partos. Además estas infecciones aumentan los costos del manejo sanitario del rodeo, reducen el consumo de alimento y causan una importante disminución en la producción de leche (Patszynska, 2002).

Luego del servicio, también puede observarse una invasión bacteriana inespecífica, que frecuentemente es superada naturalmente. Pero si el sistema de defensa falla se desencadena la endometritis (Blanch, 1994), y al no ser tratadas obligan al productor a descartar vacas, potencial fuente de producción de leche y vaquillonas de reposición. La metritis ocasiona pérdidas económicas debido a los costos del tratamiento, el descarte de leche, la reducción en la eficiencia reproductiva y el descarte prematuro (Dohoo y *et al.*, 1984; Bartlett y *et al.*, 1986; Marini y *et al.*, 2005) en un tambo de la provincia de Santa Fe en el que durante dos años se produjeron 362 partos, 69 vacas (19%) presentaron endometritis en diferentes grados. Porcentaje coincidente con el encontrado por (Madoz y *et al.*, 2007) y sustancialmente menor al reportado por (Gilbert, 2006) quien encontró una incidencia del

61,6% de endometritis en toda la lactancia en cinco establecimientos del estado de Nueva York.

Finalmente, se ha documentado, que las vacas con infecciones uterinas durante el posparto tienden a incrementar los días al primer celo, al primer servicio y a presentar menores tasa de concepción (Madoz *et al.*, 2007 y Domínguez *et al.*, 2007). Esto también incide sobre la producción repercutiendo en forma directa sobre los ingresos económicos.

En los últimos años se han realizado importantes esfuerzos para el control de la endometritis subclínica, sin embargo su prevalencia es elevada. Existe una asociación entre la endometritis subclínica y la disminución en la tasa de concepción. La endometritis bovina es una enfermedad que afecta hasta en un 90% de las vacas en el periodo posparto temprano, sean estas de carne o leche (Foldi, 2006); pero debido a los poderosos mecanismos de defensa localizados en el endometrio que son secretados con los loquios que tienen alto contenido de leucocitos fagocitan a los microorganismos patógenos (Alves, 2004) y ayudan de alguna forma a controlar este mal, pero aun así su incidencia es elevada y contribuyen un alto índice de infertilidad en vacas produciendo pérdidas significables en las ganaderías bovinas.

1.1 Problema

En la actualidad la endometritis subclínica en vacas post-parto, es uno de los principales factores de repetición y aumento en el número de servicios en la explotación bovina por el alto grado de infertilidad que causa; sin diagnóstico aparente, es por eso que se realiza este trabajo con el objetivo de implementarlo como una práctica rutinaria para diagnosticar esta alteración fisiológica del útero y realizar las medidas correctivas previo a I.A.

1.2 Hipótesis general.

Es posible a través de la metodología diagnóstica del citobrush, identificar vacas con endometritis subclínica entre los 30 y 90 días post-parto.

1.3 Objetivo General.

- Cuantificar el número de vacas mestizas entre 30 y 90 días post parto, con presencia de endometritis subclínica, diagnosticadas mediante el método de citobrush.

1.4 Objetivos Específicos.

- Determinar el porcentaje de células polimorfonucleares (neutrófilos) presentes en las vacas muestreadas mediante el método de citobrush.
- Establecer el grado de inflamación mediante la cantidad de células polimorfonucleares (neutrófilos), presentes en cada una de las muestras obtenidas a través del citobrush.

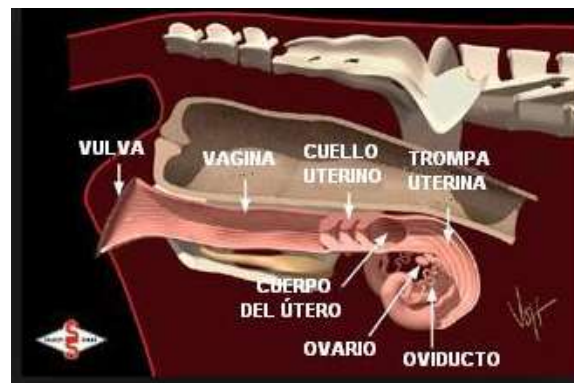
- Determinar la inhibición de crecimiento de los microorganismos presentes en las vacas muestreadas, utilizando como método de diagnóstico el antibiograma con seis antibióticos comunes: (Eritromicina), (Gentamicina), (Ketoconazol), (Nitrofuramicina), (Fluconazol) y (Ampicilina).

2 CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN.

2.1 Aparato reproductor femenino bovino.

El aparato genital femenino es el órgano de reproducción de las hembras, es muy complejo; no solo produce el óvulo o célula sexual femenina, sino que también facilita el crecimiento y alimentación del feto en desarrollo, para luego, durante el parto expulsar el feto completamente desarrollado. Los órganos reproductores femeninos, como los del macho, están controlados por un complicado sistema endocrino. (Gázquez y Blanco, 2004).

Gráfico 1 Vista lateral del sistema reproductor de la vaca.



FUENTE: DEJARNETTE Y NEBEL (2004).

2.2 Genital externo

2.2.1 Vulva

La vulva es la apertura externa del aparato reproductor; ella tiene dos funciones principales: abrirse para permitir la cópula y sirve como parte del canal de parto. Incluidos en la estructura vulvar están los labios y el clítoris.

Los labios de la vulva están ubicados a los lados de la apertura vulvar, y tienen aspecto seco y arrugado cuando la vaca no está en celo. En la medida que el animal se acerque al celo, la vulva empezará a hincharse y tomará una apariencia rojiza y húmeda (Quintela *et al.*, 2006)

2.3 Genitales internos

2.3.1 Vagina.

La vagina se extiende desde la apertura uretral hasta el cérvix. Durante la monta natural, el eyaculado es depositado en la porción anterior de la vagina. La vagina también sirve como parte del canal de parto (Sisson *et al.*, 2005).

2.3.2 Cérvix.

Es un órgano de paredes gruesas, que establece la conexión entre la vagina y el útero. Es un órgano fibroso formado predominantemente por tejido conectivo con pequeñas cantidades de tejido muscular liso. El cérvix o cuello uterino se caracteriza por una pared gruesa y una luz estrecha. (Quintela *et al.*, 2006).

Presenta varias prominencias que tiene la forma de bordes transversales alternados en espiral que se conocen como anillos cervicales (Quintela *et al.*, 2006).

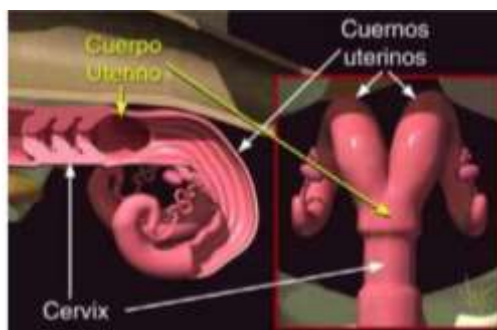
2.3.3 Útero.

El útero de la vaca es bicornual, es decir tiene un pequeño cuerpo del útero que mide alrededor de 4 a 6 centímetros siendo la parte común a las dos mitades del útero (derecha e izquierda). El cuerpo del útero se continúa con dos cuernos uterinos (30 a 45 centímetros), los cuales se doblan hacia caudoventral para posteriormente doblarse hacia dorsal siendo continuados con los oviductos. (Grossman, 2016).

Entre las funciones que se desempeña el útero se pueden mencionar las siguientes:

- a) Sirve como sitio de transporte para los espermatozoides hacia el sitio de fecundación.
- b) Regula la vida del cuerpo lúteo a través de la producción de prostaglandina.
- c) Tiene un tejido secretor que produce la “leche uterina” que sirve de nutriente para el embrión durante las primeras etapas de la gestación.
- d) En el útero se pueden encontrar alrededor de 100 a 120 carúnculas, estas carúnculas sirven de punto de conexión para la placenta durante la preñez (Caruncula + Cotiledon = Placetoma)
- e) La pared uterina tiene una fuerte masa muscular que ayuda en la expulsión del feto al momento del parto y de las membranas fetales poco tiempo después del parto.

GRÁFICO 2 VISTA LATERAL DEL ÚTERO BOVINO



FUENTE: DEJARNETTE Y NEBEL (2004).

2.3.3.1 Tejidos del útero.

El útero es el lugar de implantación del óvulo cuando es fecundado y donde se desarrolla la placenta y el feto. En la mayoría de las especies presenta dos cuernos, un cuerpo y un cuello o cérvix. Su pared consta de tres capas: endometrio (mucosa y submucosa), miometrio (muscular) y perimetrio (serosa). (Hafez, 2005).

2.4 Endometrio.

Representa la mucosa uterina y está constituida por un revestimiento epitelial cúbico puesto que la altura de las células epiteliales está influida por el estado hormonal de la hembra a lo largo del ciclo ovárico. El endometrio está sometido a cambios estructurales durante el ciclo sexual, de tal manera que en los rumiantes se edematiza al llenarse los espacios alveolares conectivos de fluido plasmático proveniente de la abundante vascularización. (Gázquez *et al.*, 2004).

Presenta dos zonas que difieren en su estructura y función:

- a. **Zona superficial o funcional:** Degenera total o parcialmente durante un ciclo reproductor y puede perderse en alguna especie, regenerándose a partir de la zona basal. Está revestida por un epitelio que en rumiantes puede ser simple cilíndrico y/o pseudoestratificado. La altura de las células epiteliales está relacionada con el estado hormonal de la hembra a lo largo del ciclo estral. Bajo el epitelio, aparece un tejido conectivo altamente vascularizado con macrófagos y mastocitos, un número variable de neutrófilos y linfocitos según la fase del ciclo estral y melanocitos en la oveja. En los rumiantes, en esta zona y especialmente en el estro, hay un aumento del fluido intercelular constituyendo un edema endometrial.

- b. **Zona profunda o basal:** se presenta durante todo el ciclo y está constituida por un tejido conectivo laxo menos celular.

En ambas zonas aparecen glándulas tubulares ramificadas arrolladas revestidas por un epitelio simple cilíndrico con células ciliadas y no ciliadas. (Salazar *et al.*, 2012)

2.5 Miometrio

Está constituido por dos capas de músculo liso, una circular interna muy gruesa y otra longitudinal externa más fina. Ambas aumentan de grosor durante la gestación. Entre ambas o en profundidad a la interna se desarrolla una zona con gran cantidad de vasos sanguíneos. (Hafez, 2005)

2.6 Perimetrio.

Es llamado también túnica serosa está formado por tejido conectivo laxo, recubierto por un mesotelio, que alberga fibras musculares lisas y gran cantidad de vasos sanguíneos, vasos linfáticos y nervios, cuyas funciones principales radican el facilitar contracciones al momento del parto, así como contener el sistema de irrigación para dotar de nutrientes a los diferentes tejidos (Pérez y Romano, 1996).

2.7 Ciclo estral.

Todas las hembras pertenecientes a los mamíferos, desde el inicio de la pubertad se caracterizan por presentar ciclos estruales, llamados así debido a que la parte del ciclo que se puede detectar visualmente es el estro o celo. En la vaca el ciclo dura entre 17 y 24 días, sin embargo, 20 y 21 días es lo más común.

La actividad sexual tiene lugar en la pubertad o madurez sexual que en la novilla comienza aproximadamente a los 12 meses de edad, y está estrechamente correlacionada con la actividad funcional endocrina de los ovarios. (Gázquez, 2004).

El ciclo estrual se caracteriza por tener dos fases, estas son denominadas de acuerdo a las estructuras anatómicas responsables de los diferentes periodos que componen el ciclo; de este modo hay una fase folicular durante la cual ocurren dos periodos del ciclo; el proestro y el estro. La segunda fase se le denomina fase luteal, ya que esta estructura es en parte la responsable de la presentación de otros dos periodos en el ciclo, el metaestro y el diestro. (Gázquez, 2004).

La sucesión de eventos que ocurren durante el ciclo estral, así como los eventos subsecuentes que siguen a cada ciclo, dependen del resultado de la intervención en el manejo de los animales. En otras palabras si la vaca es inseminada o servida por el macho resultara en una gestación. Por otro lado, si no ocurre la gestación o existen factores que impiden la concepción los pasos subsecuentes y los tiempos en que estos ocurren varían considerablemente. (Quintella *et al.*, 2016).

2.7.1 Fisiología del ciclo estral.

Una vez que se logra la pubertad, los ciclos estrales se presentan a intervalos regulares y sin interrupción, a menos que se inicie una gestación o que las condiciones nutricionales sean muy malas. No se ha demostrado un efecto de la estación del año sobre la actividad cíclica en bovinos. Por estas razones se clasifica a la hembra bovina como poliéstrica típica. El ciclo

estral en la hembra bovina tiene una duración de aproximadamente 21 días, pero normalmente puede variar de 17 a 25 días. El periodo de estro varía de 2 a 50 horas, pero promedia 12 a 18 horas en la mayoría de las condiciones. En vacas lecheras en manejo intensivo, se describe una duración promedio del celo de aproximadamente 7 horas. (Hafez, 2002)

La temperatura ambiental alta no parece alterar la duración del ciclo estral, pero puede reducir la duración e intensidad del celo, y reducir el flujo de sangre al tracto reproductivo y alterando las concentraciones de algunas hormonas reproductivas. (Hafez, 2002)

El ciclo estral se divide tradicionalmente en 4 fases:

- a. Estro (día 0)
- b. Metaestro (días 1 a 3)
- c. Diestro o fase luteal (días 4 a 8)
- d. Proestro o fase folicular (día 19 hasta el inicio del siguiente celo)

El estro o celo se caracteriza por la receptividad sexual de la hembra (se deja montar) a un toro o a la actividad de monta de otras hembras, además del crecimiento de un folículo y su preparación para la ovulación.

El metaestro comprende las fases finales de la maduración folicular y la ovulación, la formación del cuerpo lúteo y el inicio de la secreción de progesterona. Una vez que se observan concentraciones significativas de progesterona ($\geq 1 \text{ ng mL}^{-1}$) en la sangre, es el comienzo de la **fase luteal o diestro**, la que continúa hasta que el cuerpo lúteo comienza a regresar al inicio de la luteolisis. En la medida que las concentraciones de progesterona en sangre comienzan a declinar rápidamente producto de la lisis luteal, se inicia el proestro o fase folicular, llevando al crecimiento de una onda folicular y la selección de un folículo ovulatorio. (Duchens, 2010).

2.7.2 Modificaciones histológicas durante el ciclo estral.

Durante el anestro, el epitelio vaginal está constituido por dos o tres capas de células cúbicas. Durante el proestro, debido a las concentraciones crecientes de estrógenos, el epitelio comienza a dividirse, constituyendo un epitelio estratificado plano con unas 16 capas de células. En las más basales se observa hiperplasia, hipertrofia y mitosis, mientras que las más superficiales se queratinizan. Conforme desciende la concentración de estrógenos, en el

epitelio se incrementa el número de células queratinizadas que mueren y se desprenden, disminuyendo el número de células nucleadas. Durante el estro, el epitelio está constituido por unas 12-20 capas, de las cuales, las más superficiales están queratinizadas y se descaman. Hacia el final del estro y durante el metaestro, el epitelio y la propia-submucosa son infiltrados por gran **cantidad de neutrófilos** y el grosor disminuye hasta unas 3-6 capas. Hacia la mitad del metaestro, el epitelio se queda con tan sólo dos capas y disminuye el infiltrado de neutrófilos. (Salazar *et al.*, 2012)

2.7.3 Modificaciones histológicas durante el ciclo sexual

Pueden diferenciarse tres fases:

- a. **Fase proliferativa:** coincide con el crecimiento de los folículos ováricos y la secreción de estrógenos y se caracteriza por un aumento de grosor en el endometrio debido a la hipertrofia e hiperplasia de las glándulas y al alargamiento de las arterias helicineas.
- b. **Fase secretora:** coincide con el periodo en el que el cuerpo lúteo es funcional y hay secreción de progesterona y se caracteriza porque el endometrio alcanza su máximo grosor y hay un desarrollo máximo de las glándulas y un alargamiento máximo de las arterias. En esta fase es en la que aparece el edema endometrial. Esta es la situación óptima para recibir al óvulo fecundado. Si eso no ocurre, se pasa a la siguiente fase.
- c. **Fase de involución:** coincide con la desaparición de los estímulos hormonales y se caracteriza porque hay una disminución en el grosor del endometrio por una involución de glándulas y arterias, volviendo a la fase de reposo o pre proliferativa.(Salazar et al, 2012).

2.8 Endometritis.

2.8.1 Definición.

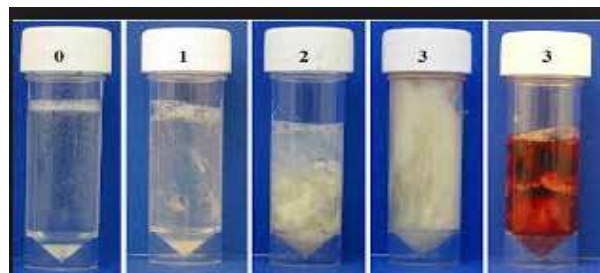
Es un método general que se usa para designar a las infecciones uterinas post-parto del endometrio o de las capas más profundas que pueden o no producir signos septicémicos pero que pueden tener implicaciones en la aptitud reproductora futura. (Sheldon, 2004).

2.8.2 Clasificación:

- **Clínica.-** Se caracteriza por presentar descarga mucopurulenta desde el útero hacia la vagina e incluso al exterior después de los 21 a 26 días postparto.
- **Subclínica.-** Se caracteriza por la presencia de células polimorfonucleares en más de un 18% en pruebas citológicas realizadas después de los 28 a 33 días postparto, mayor al 10% después de los 34 a 47 días postparto y **un mayor de 5% en los 40 a 60 días después del parto.** Las vacas con endometritis subclínica no tienen descarga uterina, sin embargo la enfermedad provoca daños severos para el rendimiento reproductivo de la vaca (Rinaudo *et al.*, 2012).

La endometritis clínica es aquella en la que pueden ser detectados signos visibles de enfermedad, mientras que la endometritis subclínica ha sido definida como la presencia de neutrófilos en el lumen uterino sin descargas (Sheldon, 2004).

Gráfico 3 Ejemplo de descargas uterinas.



Sin endometritis= 0-2 y endometritis 3

FUENTE: WILLIAMS *ET AL.*, 2007

Otros autores clasifican a las endometritis de acuerdo al tipo de secreción uterina y gravedad de la enfermedad en:

- Subclínica.-** El moco uterino puede o no presentar pequeños flóculos blanquecinos, al ultrasonido se puede observar una raya blanquecina en la mitad del cuerno uterino (franja de plata), los celos son repetidos a intervalos normales, pero no se altera el ciclo.
- Catarral.-** Existe secreción mucosa turbia, flóculos de pus y secreción vulvar.
- Mucopurulenta.-** Hay secreción viscosa con pus y estrías de sangre, existe secreción vulvar.
- Purulenta.-** Presenta anillo de Burdi, es decir hay eversión manifiesta de los pliegues cervicouterinos y gran contenido de pus en el lumen uterino.

- e. **Crónica.**- Hay secreción de moco y estrías de pus por la vulva, que persiste a los tratamientos (Cristina, 2012)

2.8.2.1 Endometritis subclínica.

Es la inflamación superficial del endometrio, la cual se extiende solo hasta el estrato esponjoso. Histológicamente, la endometritis está caracterizada por algunas zonas de pérdida de la superficie epitelial, infiltración sub-epitelial de células inflamatorias, congestión vascular y edema del estroma y varios grados de acumulación de linfocitos y células plasmáticas en las capas superficiales de la lámina propia (McEntee, 1983)

Esta una diferencia marcada con la metritis séptica. Algunos animales con endometritis pueden presentar un exudado purulento (Rebhun, 1995). Sin embargo, en la endometritis subclínica no se observa exudado purulento en la vulva, lo que hace muy difícil su diagnóstico a nivel de campo.

2.8.2.2 Etiología.

La mayor parte de las infecciones uterinas conocidas afectan a las vacas lecheras y de las diversas bacterias que interfieren en esta enfermedad está el *Actinomyces pyogenes* que es la más frecuente en este animal. En el periodo posparto de las vacas se libera PGF2a ya sea en el puerperio normal o en presencia de infecciones uterinas, pero este caso persisten concentraciones más elevadas por más tiempo.

Al parecer estas infecciones bacterianas y sus toxinas hacen que se secreten concentraciones anormalmente más elevadas de prostaglandina, lo que demora el inicio del ciclo hasta que la infección cede y aquellas infecciones son bajas (Hafez, 2002).

Existen varios géneros de bacterias causantes de esta infección y pueden estar solas o en combinación, entre algunas están la *Archaeobacterium pyogenes* y *Escherichiacoli* que usualmente actúan ambas (Seals, 2002). En otras ocasiones el *A. pyogenes* también se encuentra asociado a gérmenes anaerobios como *Fusobacterium necrophorum* y *Bacteroides spp.* (Nicolás *et al.*, 2001).

2.8.2.3 Patogenia.

Después del parto el útero de las vacas sufre una contaminación bacteriana en un 90% de los casos (Foldi, 2006). Existe diferencia entre contaminación e infección uterina; la contaminación en vacas posparto por determinadas bacterias no implica el desarrollo de la enfermedad, en cambio la infección uterina por microorganismos patógenos que se adhieren

a la mucosa endometrial colonizándola y penetrando en el epitelio, siendo peor aún por las descargas de toxinas generadas por las bacterias complicando la enfermedad (Sheldon, 2004).

El proceso se caracteriza porque superficialmente existen cambios y degeneración del endometrio, congestión vascular y edema, además hay migración de neutrófilos y otras células presentes en la inflamación (linfocitos y células del plasma) (Hafez, 1999).

Factores predisponentes para la aparición de la endometritis:

Manejo y medio ambiente: incluye los factores relacionados con el estrés, la alta producción y las enfermedades metabólicas y carenciales.

Condiciones alrededor del parto: tiene en consideración la higiene, distocias, traumatismos y la poca relajación del canal del parto.

Condiciones uterinas: considera la disminución de la inmunidad local, el tono uterino, la capacidad fagocitaria de los leucocitos y la aparición del primer celo posparto. (Hafez, 1999).

2.8.2.4 Signos clínicos.

La endometritis generalmente se asocia a la retención de placenta, la presencia de distocia y al nacimiento de fetos muertos o al parto gemelar (Drillich M, 2001), esta enfermedad puerperal se caracteriza por descarga uterina de líquidos de olor fétido y color rojo oscuro de consistencia acuosa, pero en casos más graves puede haber disminución considerable de la producción láctea, letargo, anorexia, elevación de la cola con pujos, fiebre $>40^{\circ}\text{C}$, toxemia y deshidratación leve o marcada (Sheldon, 2004).

2.8.2.5 Diagnóstico.

La endometritis subclínica normalmente se diagnostica con un examen citológico del útero (cytobrush), la cual estudia la población celular en el útero. La endometritis subclínica se caracteriza por la presencia de $> 18\%$ de células polimorfonucleares (PMN, particularmente neutrófilos) (Rinaudo *et al.*, 2012).

El examen citológico endometrial se utilizó principalmente para el diagnóstico en mujeres, yeguas y luego en vacas; estos métodos comprenden:

- a. La biopsia y/o el cultivo bacteriológico uterinos han sido considerados los exámenes diagnósticos de referencia para endometritis. Ninguna de estas técnicas son ampliamente utilizadas; sin embargo, la biopsia uterina ha sido asociada con una

disminución de la tasa de concepción al primer servicio e infecciones de cierta importancia más allá de las tres semanas postparto son invariablemente asociadas con una única bacteria *Arcanobacterium pyogenes* (Nicolás *et al.*, 2001).

- b. Lavado uterino que consiste en hacer una infusión de suero fisiológico dentro del útero con un catéter por fijación manual recto-cervical y se masajea para realizar un lavado, luego se aspira el líquido que será examinado en el laboratorio.
- c. Cepillado endometrial (citobrush), es un método similar al anterior, sino que aquí se reemplaza el catéter por un cepillo que se introduce al útero cubierto por un tubo protector y cuando está dentro se lo libera y se realiza un cepillado del endometrio, se extrae el cepillo con las partículas adheridas para luego ser examinadas en el laboratorio.

Estos dos últimos métodos determinan la cantidad de células de defensa como neutrófilos que están presentes en todo proceso inflamatorio (Kasimanickam, 2002).

2.9 Citobrush.

La citología endometrial es una práctica que recientemente se ha comenzado a utilizar para la evaluación de la salud uterina en bovinos (Gilbert y *et al.*, 1998; Palmer, 2006). Se caracteriza por ser rápida, específica, sensible y económica, lo que la hace una herramienta valiosa para la investigación sobre el rol y la importancia de la endometritis (Gilbert, 2005).

2.9.1 Definición.

La técnica de cytobrush (CB) se basa en la obtención de células a partir del endometrio, mediante un cepillado de la superficie interna del útero, técnica muy confiable y no genera alteración celular. El CB ha demostrado ser la mejor técnica para la obtención de citologías uterinas en vacas para el diagnóstico de endometritis subclínica (ES) (Kasimanickam y *et al.*, 2005).

Para la obtención de las muestras, se utilizan pistoletas de acero inoxidable, a las que se le adosan en su extremo anterior cepillos estériles comúnmente usados en ginecología humana. Todo esto es protegido mediante una vaina sanitaria plástica, para evitar la contaminación del cepillo con células del cuello y de la vagina. Si bien la técnica del CB ha demostrado ser consistente y eficaz para obtener muestras de las células del endometrio y realizar el examen citológico postparto en vacas lecheras (Kasimanickam *et al.*, 2005; Barlund, *et al.*, 2008).

La técnica de CB permite lograr una muestra rápida y con morfología celular preservada para el diagnóstico de inflamación subclínica del endometrio.

Este porcentaje es indicativo de la presencia o no de inflamación subclínica en el endometrio, y se encuentra correlacionado por el porcentaje de neutrófilos mayor al 18%, presentes en las muestras de citología uterina recogida 20-33 días después del parto, un porcentaje de neutrófilos mayor al 10%, presentes en las muestras de citología uterina recogida 34-47 días después del parto o un porcentaje de neutrófilos mayor al 5%, presentes en las muestras de citología uterina recogida 40-60 días después del parto. (Szenci, O. 2006).

2.10 Antibiograma.

El antibiograma se lo realiza en un laboratorio y es la prueba microbiológica que se realiza para determinar la susceptibilidad (sensibilidad o resistencia) de una bacteria a un grupo de antibióticos, es considerado como antimicrobiano cualquier sustancia con capacidad de matar o al menos inhibir el crecimiento de los microorganismos y que sea susceptible de utilización como tratamiento en los pacientes. Pueden ser naturales, sintéticos o semi-sintéticos. La historia moderna de los antibióticos comienza con el descubrimiento de sustancias presentes en unos microorganismos capaces de matar a otros. La utilización de antibióticos supuso un avance enorme en la esperanza de vida de las personas que padecían procesos infecciosos, pero desgraciadamente también supuso un aumento en los niveles de resistencia antibiótica. (Ledesma, E. 1984).

Siempre que una toma bacteriológica de finalidad diagnóstica haya permitido el aislamiento de una bacteria considerada responsable de la infección. Establecer esta responsabilidad exige una colaboración entre el bacteriólogo y el clínico. En efecto, en ciertas circunstancias, el microbiólogo no podrá determinar con certeza que el aislamiento de una bacteria exige un antibiograma, sin los datos clínicos que le aporta el médico. Por ejemplo, una bacteria no patógena puede ser responsable de la infección de un enfermo inmunodeprimido o en un lugar determinado del organismo. La presencia de signos clínicos puede ser también determinante para la realización de un antibiograma (por ejemplo: la infección urinaria con un número reducido de gérmenes).

Para un determinado antibiótico, una cepa bacteriana es:

- **Sensible:** si existe una buena probabilidad de éxito terapéutico en el caso de un tratamiento a la dosis habitual.
- **Resistente:** si la probabilidad de éxito terapéutico es nula o muy reducida. No es de esperar ningún efecto terapéutico sea cual fuere el tipo de tratamiento.
- **Intermedia:** cuando el éxito terapéutico es imprevisible. Se puede conseguir efecto terapéutico en ciertas condiciones (fuertes concentraciones locales o aumento de la posología).

GRÁFICO 4 ANTIBIOGRAMA DISCO- PLACA



FUENTE: MARTÍNEZ, (2010).

3 CAPITULO III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.

3.1 Ubicación del ensayo.

PROVINCIA : Pastaza y Napo

CANTÓN : Santa Clara y Carlos Julio Arosemena Tola

SECTOR : Km. 44 vía Puyo – Tena, junto a la desembocadura del Río Piatúa y Anzu

LUGAR DEL ENSAYO: Centro de Investigación, Postgrado y Conservación Amazónica (CIPCA), perteneciente a la Universidad Estatal Amazónica

PRECIPITACIÓN PLUVIAL : Hasta 4000-5000 mm por año

HUMEDAD RELATIVA : 90 %

TEMPERATURA PROMEDIO : 25 a 30 °C

ALTITUD : Entre 580 y 990 m.s.n.m.

LÍMITES : Al norte con varios poseionarios de terrenos, al Sur con el Río Piatúa, al Este el río Anzu y al Oeste el río Ayayaku.

Fuente: <http://cipca.uea.edu.ec/index.php/ubicacion>, 2015.



Fuente: <http://cipca.uea.edu.ec/index.php/ubicacion>, 2015

3.2 Tipo de investigación.

Para el desarrollo de la presente investigación se utilizará el tipo descriptivo-explicativo

3.2.1.1 Descriptivo- explicativa

Se anexara y describirá la información y los resultados investigados durante el desarrollo de la presente investigación, el mismo que por sus condiciones y especificidad se efectuará en el lugar de los hechos.

3.2.1.2 Investigación descriptiva

Los investigadores no son meros tabuladores, sino que recogen los datos sobre la base de una hipótesis o teoría, exponen y resumen la información de manera cuidadosa y luego analizan minuciosamente los resultados, a fin de extraer generalizaciones significativas que contribuyan al conocimiento. (López, 2003).

3.2.1.3 Investigación explicativa

La investigación explicativa, está dirigida a contestar por qué sucede determinado fenómeno, cuál es la causa o factor de riesgo asociado a ese fenómeno, o cuál es el efecto de la causa, es decir, buscar explicaciones a los hechos. (Robayo, 2004)

3.3 Metodología.

Experimental ya que implica la observación, manipulación y registro de las variables (dependiente, independiente) que afectan al objeto de estudio.

3.3.1 Metodología estadística

La metodología estadística utilizada para el procesamiento de los datos consistió en la confección de tablas de frecuencia con incidencia de endometritis subclínica por muestreo y por genotipo, se utilizó la prueba Chi² y para la comparación estadística de los porcentajes y test de comparación múltiple de Duncan para los casos en que se encontró diferencia significativa.

3.3.2 Unidad de estudio.

Se utilizaron 20 animales sujetos al estudio entre 30 y 90 días postparto, de las cuales cada animal muestreado representa una unidad experimental.

3.3.3 Manejo del ensayo

Las 20 vacas que fueron sometidas a la investigación, estaban en óptimas condiciones para la reproducción.

3.3.3.1 Técnica de cepillado endocervical.

Se comenzó el estudio en veinte (20) animales hembras bovinas de segundo parto con entre treinta (30) y noventa (90) días post parto o días de lactancia (DEL), con una palpación transrectal de los órganos genitales internos (ovarios, cuernos, cuerpo y cuello del útero) de la vaca, utilizando el brazo derecho enguantado y lubricado con vaselina líquida. Al mismo tiempo, dirigido mediante el brazo izquierdo, se introdujo en el útero por vía vaginal el instrumental necesario para la toma de muestra.

El mismo está conformado por un cepillo colector endocervical (*Medibrush XL, Medical Engineering Co, SA*) cortado en su mango aproximadamente a 5 cm de largo y sujetado al mandril de una pistola o jeringa de inseminación de acero inoxidable, al que se le hizo una rosca especialmente diseñada para este fin. Para proteger la pistola de la contaminación vaginal, la misma fue cubierta con una vaina descartable, así fue introducida, pasando a través del cérvix, en la base del cuerno de mayor tamaño, en caso de notar diferencias entre ambos por palpación y sino, en uno de los cuernos al azar.

En este sitio, presionando el mandril, se expuso el cepillo de la vaina y se lo hizo girar una vuelta completa (360°) en el mismo sentido de las agujas del reloj rozando las cerdas suavemente la mucosa uterina y colectando así la muestra necesaria. Seguidamente, se retrajo el cepillo dentro de la vaina y se retiró del útero y vagina la pistola de inseminación.

3.3.3.2 Frotis Citobrush.

Una vez fuera del animal, se descartó la vaina, se expuso nuevamente el cepillo y se lo hizo rodar suavemente sobre un portaobjetos limpio, desengrasado y debidamente rotulado con el número de caravana correspondiente al animal y la fecha de toma de las muestras. Inmediatamente los frotis fueron rociados con un spray fijador celular (Biopur) para resguardarlos del polvo y así poder trasladarlos almacenados en cajas transportadoras, con una capacidad para 50 portaobjetos, hasta el laboratorio donde se colorearon utilizando una tinción panóptica comercial (Tinción 15, Biopur).

3.3.3.3 **Conteo de células endometriales.**

Las preparaciones citológicas así logradas se observaron para su análisis con un microscopio binocular Olympus BH-2 a un aumento de 400X y contando un mínimo de 100 células totales (células epiteliales y células inflamatorias), a partir de las cuales se determinó la proporción de células inflamatorias (polimorfonucleares neutrófilos).

3.3.3.4 **Cálculo porcentual de PMN N en la muestra.**

Para determinar el grado de inflamación de la mucosa uterina, se calculó el porcentaje de polimorfonucleares neutrófilos (% PMN N), mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ PMN N} = \frac{\text{n PMN N} \times 100}{\text{C. T.}}$$

Donde:

% PMN N: Porcentaje de polimorfonucleares neutrófilos

n PMN N: Cantidad de Polimorfonucleares Neutrófilos presentes en la preparación

C. T.: Células Totales presentes en la preparación (células epiteliales y PMN N).

Luego de obtenido el % PMN N, se procedió a clasificar a las vacas como positivas a endometritis subclínicas (ES).siguiendo el criterio de los trabajos publicados por (Gilbert *et al.*, 2005; Plöntzke *et al.*, 2010; Rinaudo *et al.*, 2012) que considera entre 40 a 60 días después del parto tener la muestra citológica un $\geq 5\%$ de PMN N como rango mínimo y $< 18\%$ de PMN N como rango máximo, independiente de la DEL (Duración de la Lactancia) se consideran como positivos a endometritis subclínica

Para el presente trabajo se utilizó, básicamente, el trabajo de Plontzke *et al.*, (2010) como criterio de corte, ya que fue uno de los utilizados más recientemente, y además éste se aplicó en diversos sistemas incluso en explotaciones tamberas de la provincia de Buenos Aires de la República Argentina y con ese referente se aplicó en la amazonia ecuatoriana.

3.3.3.5 Cultivo y antibiograma

Luego de realizar el frotis en la placa, se procedió a realizar un enjuague del cepillo que se utilizó en el proceso de cytobrush en un tubo vacutainer tapa negra, para su debido transporte al laboratorio de microbiología de la Universidad Estatal Amazónica para realizar la siembra e incubación para detectar presencia de bacterias en cada una de las muestras y luego generar el antibiograma que se puso a prueba con seis antibióticos:(E)Eritromicina, (G)Gentamicina, (K)Ketoconazol, (N)Nitrofuramicina, (F)Fluconazol (AM)Ampicilina.

3.4 Recursos humanos y materiales:

3.4.1 Humanos.

- Tesista
- Transporte
- Colaboradores de la investigación

3.4.2 Insumos.

- Overol
- Botas
- Sogas
- Guantes ginecológicos
- Guantes de manejo
- Gel ginecológico
- Gel desinfectante
- Chemis
- Brochas (para Cytobrush)
- Tinción 15
- Porta objetos
- Pistola para Cytobrush
- Catéter inseminación artificial
- Tubos vacutainer
- Placas porta objetos

3.4.3 Equipos.

- Microscopio

- Computadora
- Cámara fotográfica

3.4.4 Materiales de oficina.

- Computadora
- Memoria USB
- Bolígrafos
- Libreta de apuntes
- Perforadora
- Anillados
- Empastados
- Internet

4 CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

TABLA 1 RESULTADOS DEL CONTEO DE CÉLULAS POLIMORFONUCLEARES NEUTRÓFILOS (PMN N)

N°	Arete	Genotipo	Células Normales	CÉLULAS PMN (neutrófilos)	RELACIÓN PMN/CELULAS NORMALES	Clasificación de la Endometritis	Observaciones	% de ES por Genotipo	% de ES en la Muestra
1	6505	Brown Swiss	186	14	7,53%	Subclínica		42,86	60
2	5767	Brown Swiss	136	64	47,06%	Clínica			
3	6693	Brown Swiss	180	20	11,11%	Subclínica			
4	6688	Brown Swiss	193	7	3,63%	Sin ES	Se considera realizar otra muestra		
5	6698	Brown Swiss	147	53	36,05%	Clínica			
6	6251	Brown Swiss	196	4	2,04%	Sin ES	Se considera realizar otra muestra		
7	7277	Brown Swiss	190	10	5,26%	Subclínica			
8	6724	Gir	174	26	14,94%	Subclínica		60,00	
9	6743	Gir	186	14	7,53%	Subclínica			
10	6378	Gir	195	5	2,56%	Sin ES	Se considera realizar otra muestra		
11	5846	Gir	154	46	29,87%	Clínica			
12	6753	Gir	188	12	6,38%	Subclínica		80,00	
13	4498	Sahiwal	186	14	7,53%	Subclínica			
14	4495	Sahiwal	190	10	5,26%	Subclínica			
15	6766	Sahiwal	176	24	13,64%	Subclínica			
16	6270	Sahiwal	190	10	5,26%	Subclínica			
17	6270	Sahiwal	196	4	2,04%	Sin ES	Se considera realizar otra muestra	66,67	
18	6412	Jersey	180	20	11,11%	Subclínica			
19	6256	Jersey	192	8	4,17%	Sin ES	Se considera realizar otra muestra		
20	4361	Jersey	188	12	6,38%	Subclínica			
REPETICIÓN									
1	5767	Brown Swiss	151	49	32,45%	Clínica	DOBLE MUESTREO	0,00	25,00
2	6688	Brown Swiss	196	4	2,04%	Sin ES	DOBLE MUESTREO		
3	6251	Brown Swiss	192	8	4,17%	Sin ES	DOBLE MUESTREO		
4	6378	Gir	197	3	1,52%	Sin ES	DOBLE MUESTREO	50,00	
5	6724	Gir	180	20	11,11%	Subclínica	DOBLE MUESTREO		
6	6270	Sahiwal	194	6	3,09%	Sin ES	DOBLE MUESTREO	0,00	
7	6256	Jersey	195	5	2,56%	Sin ES	DOBLE MUESTREO	50,00	
8	6412	Jersey	178	22	12,36%	Subclínica	DOBLE MUESTREO		

FUENTE: VILLACRÉS; M. (2016)

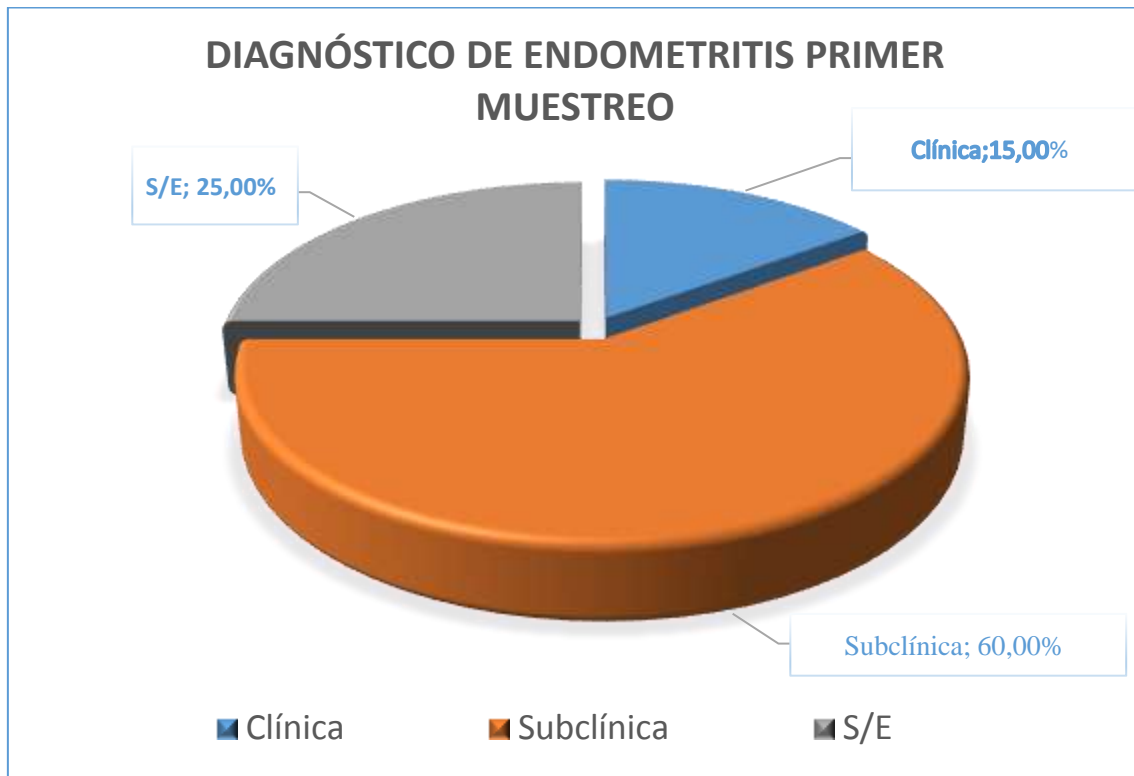
4.1 Resultados del conteo de células polimorfonucleares neutrófilos (PMN n) y células epiteliales (CE), en la primera toma de muestras por Cytobrush (CB).

Se comenzó el estudio en veinte (20) animales hembras bovinas de segundo parto con entre treinta (30) y noventa (90) días post parto o días de lactancia (DEL). Una vez categorizada la muestra como positiva o negativa a ES (Endometritis Subclínica) se analizaron para su posterior estudio. Los animales positivos que son 12 vacas que es el 60% corresponden a endometritis subclínica, 3 vacas que es el 15% corresponden a endometritis clínica y 5 vacas que corresponden al 25% que no manifiestan alteración alguna según el diagnóstico. (Grafico 5).

(Dohoo *et al.*, 1984; Bartlett y *et al.*, 1986; Marini *et al.*, 2005) en un tambo de la provincia de Santa Fe en el que durante dos años se produjeron 362 partos, 69 vacas (19%) presentaron endometritis en diferentes grados.

Considerando las vacas positivas a endometritis subclínica, después del conteo de células polimorfo-nucleares (neutrófilos) en % (porcentaje), Según (Rinaudo *et al.*, 2012 y Szenci, 2006)., que considera entre 40 a 60 días después del parto tener la muestra citológica un \geq 5% de PMN N como rango mínimo y $<$ 18% de PMN N como rango máximo, independiente de la DEL (Duración de la Lactancia) se consideran como positivos a endometritis subclínica. (Tabla 1).

GRÁFICO 5 PORCENTAJE DEL DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA EN EL PRIMER MUESTREO



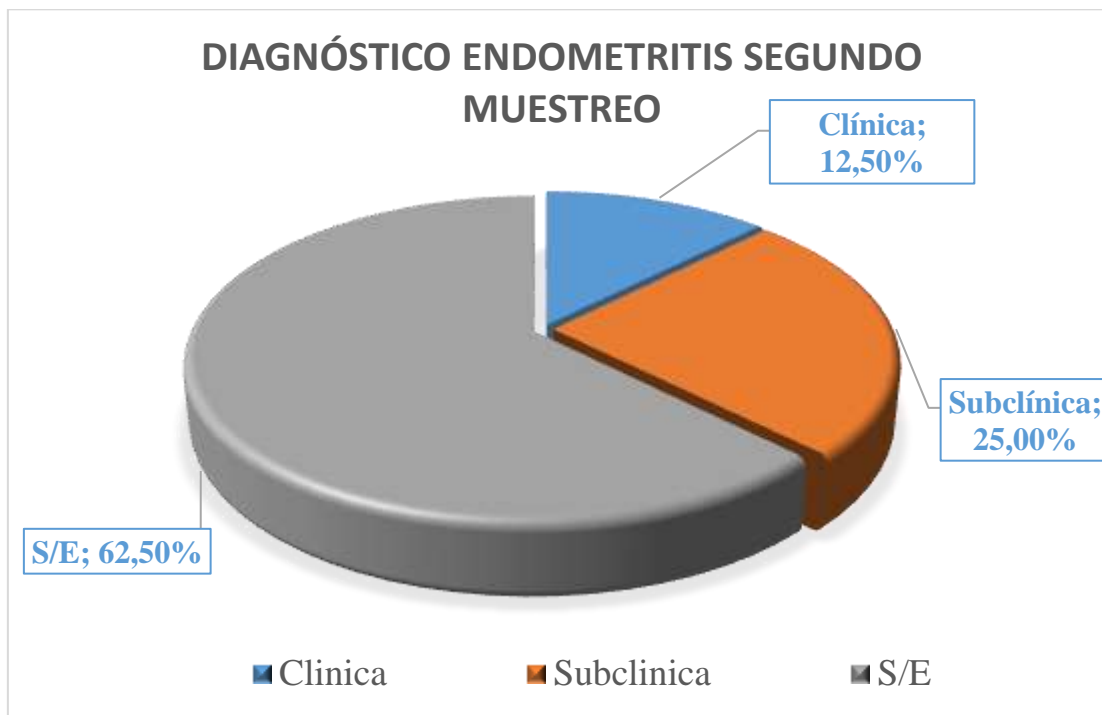
FUENTE: VILLACRÉS; M. (2016)

4.2 Resultados del conteo de células polimorfonucleares neutrófilos (PMN n) y células epiteliales (CE), en la segunda toma de muestras por Cytobrush (CB).

En la segunda toma de muestras por Citobrush se diagnosticó a ocho (8) vacas, donde el dos (2) vacas que es el 25 % corresponden a endometritis subclínica y una (1) vaca que es el 12,50 % corresponden a endometritis clínica y 5 vacas que corresponden al 62,5 % que no manifiestan alteración alguna según el diagnóstico. (Gráfico 6).

Determinando, que el grado de inflamación va en función del número de Polimorfo nucleares neutrófilos sobre las células epiteliales presentes en el endometrio. según (Rinaudo et al., 2012) y Szenci, 2006)., que considera entre 40 a 60 días después del parto, tener la muestra citológica un $\geq 5\%$ y $< 18\%$ como rango máximo de Polimorfonucleares (neutrófilos) como positivos a endometritis subclínica y las muestras que tienen $< 5\%$ de Polimorfonucleares (neutrófilos) se consideran como positivos a endometritis clínica.(Tabla 1)

GRÁFICO 6 PORCENTAJE DEL DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA EN EL SEGUNDO MUESTREO.



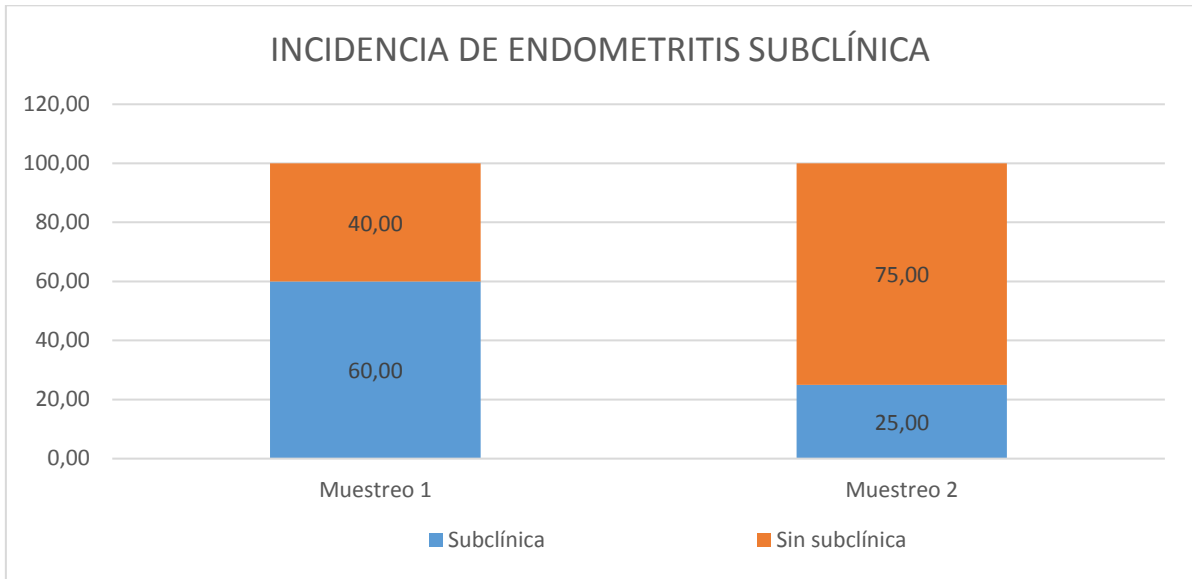
FUENTE: VILLACRÉS; M. (2016)

4.3 Resultados de incidencia de endometritis subclínica en las dos tomas de muestras por cytobrush (CB)

Los resultados hallados en el estudio se encuentran dentro del rango citado por Vallejo et al, (2014) para quien los reportes de prevalencia de endometritis subclínica varían del 11 al 63%, y disminuye a medida que aumentan los días posparto.

En respecto a la primera toma de muestras por cytobrush la incidencia de endometritis subclínica es el 60% (Gráfico 7) y en el segundo muestreo es de 25% (Gráfico 6). Similares resultados en cuanto al número de muestreos de incidencia de endometritis fue determinado por (Maurino, *et al.*, 2012), en dos grupos de vaquillonas donde observo un 65% y en el otro grupo de vaquillonas que tenían un periodo mayor de 30 días post-parto el porcentaje de endometritis subclínica representó el 28 %.

GRÁFICO 7 INCIDENCIA DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA EN LAS DOS TOMAS DE MUESTRA POR CITOBURSH.



FUENTE: VILLACRÉS; M. (2016)

Tabla 2 Tabla de frecuencia con la incidencia de la endometritis por muestreo.

Tabla de frecuencias	Etiquetas de columna			
	Clínica	Subclínica	S/E	Total general
Muestreo 1	3	12	5	20
Muestreo 2	1	2	5	8
Total general	4	14	10	28

FUENTE: VILLACRÉS; M. (2016)

Tabla 3 Tabla de porcentajes con la incidencia de la endometritis por muestreo.

Porcentaje				
Muestras	Clínica	Subclínica	S/E	Total general
1	15,00 b	60,00 a	25,00 b	100,00
2	12,50 b	25,00	62,5 a	100,00
EE y Sign	± 16,67 *			
Total	13,75	42,50	43,75	100,00

FUENTE: VILLACRÉS; M. (2016)

En la tabla anterior se observa que para el porcentaje en el muestreo uno (1) para la endometritis subclínica mostro valores superiores de la clínica y de la sin endometritis, mientras que en el muestreo dos (2) el porcentaje superior fue para sin endometritis se encontraron diferencias significativas ($P>0,05$). $\pm 16,67$.

Según (Rinaudo, 2012), en un sistema de producción mostró una predisposición a una mayor prevalencia de endometritis subclínica sobre el final del período de espera voluntario (38-56 días postparto) y después va disminuyendo mientras aumentan los días post-parto, esto lo realizó en el sistema sami-estabulado, que es un sistema a pastoreo con suplementación (14,9 %). ($p<0,05$).

TABLA 4 TABLA DE FRECUENCIA DE ENDOMETRITIS POR GENOTIPO EN EL PRIMER GRUPO.

Tabla de frecuencias Primer Grupo				
Genotipo	Clínica	Subclínica	S/E	Total general
Brown Swiss	28,57	42,86	28,57	100
Gir	20,00	60,00	20,00	100
Jersey	0,00	66,67	33,33	100
Sahiwal	0,00	80,00	20,00	100
EE y Sign	$\pm 27,22$ NS			
Total general	15,00	15,00	15,00	

FUENTE: VILLACRÉS; M. (2016)

Respecto a la tabla de frecuencia la endometritis subclínica, mostro valores superiores en las razas Gir, Jersey y Sahiwal en comparación con las dos variables clínica y sin endometritis(S/E), pero no se encontraron diferencias significativas ($P>0,05$).

Tabla 5 Tabla de frecuencia de endometritis por genotipo en el segundo grupo.

Tabla de frecuencias Segundo Grupo				
Genotipo	Clínica	Subclínica	S/E	Total general
Brown Swiss	1	0	2	3
Gir	0	1	1	2
Jersey	0	1	1	2
Sahiwal	0	0	1	1
Total general	1	2	5	8

FUENTE: VILLACRÉS; M. (2016)

Tabla 6 Tabla de porcentajes con la incidencia de la endometritis por genotipo.

Tablas de porcentajes Total 2 Muestreos por Genotipos				
Raza	Clínica	Subclínica	S/E	Total general
Brown Swiss	30,00	30,00	40,00	100
GIR	14,29	57,14	28,57	100
Jersey	0,00	60,00	40,00	100
Sahiwal	0,00	66,67	33,33	100
EE y Sign	±47,14 NS			
Total general	11,07	53,45	35,48	100,00

FUENTE: VILLACRÉS; M. (2016)

En la tabla anterior se observa que para el porcentaje de endometritis clínica mostro valores inferiores a los de la subclínica en las razas, Gir, Jersey y Sahiwal, y en el porcentaje general de incidencia de la endometritis clínica marco 11,07% y fue inferior a la endometritis subclínica 53,45% a pesar de su diferencia, no se encontraron diferencias significativas. (P>0,05). (Tabla 6).

Tabla 7 Microorganismos encontrados en muestras de citobrush.

N.-	Microorganismo aislado
1	<i>Staphylococcus</i>
2	<i>Streptococcus (gama hemolíticos)</i>
3	<i>E. coli</i>
4	<i>Streptococcus agalactiae</i>
5	<i>Coliformes</i>

FUENTE: VILLACRÉS; M. (2016)

4.4 Interpretación de microorganismos encontrados.

El análisis del cultivo realizado nos indica el aislamiento de 5 microorganismos en las dos tomas de muestras, siendo más apreciadas en las muestras de los animales diagnosticados con esta infección uterina mediante el método citobrush. Los microorganismos predominantes son: el *Staphylococcus*, *Streptococcus* (gama hemolíticos) y el *E. coli*, mientras que el *Streptococcus agalactiae* y *coliformes* fue menos encontrado en relación de todo el muestreo (Tabla 7). Este análisis se asemeja a un diagnóstico microbiológico que

realizo Fernández et al. (1984) en animales sanos, el *Escherichia coli* fue el microorganismo de mayor incidencia en muestras tomadas de cérvix y útero (28,1 y 23,1% respectivamente) y con menor frecuencia se aislaron otras enterobacterias y bacterias del género *Staphylococcus* y *Streptococcus*. En lo investigado por (Nicolas et al, 2001). La bacteria más frecuentemente aislada fue *Streptococcus agalactiae*, seguida de *Estafilococo coagulasa* negativo y *Staphylococcus aureus* con un 47%, 14,6%, y 13 % respectivamente.

4.5 Resultados del antibiograma realizado a partir del citobrush

Tabla 8 Resultados de antibiograma

CATEGORIZACIÓN	NOMBRE DEL ANTIBIOTICO
SUCEPTIBLES	(E)ERITROMICINA, (G)GENTAMICINA
POCO SUCEPTIBLE	(K)KETOCONAZOL, (N)NUTROFURAMICINA
RESISTENCIA	(F)FLUCONAZOL, (AM)AMPICILINA

FUENTE: MAURICIO VILLACRÉS, (2016)

Después de la lectura del antibiograma realizado con seis antibióticos más comunes y que son utilizados para combatir a los microorganismos que ocasionan estas infecciones uterinas (ED) y sus nombres pertenecen a: (E)Eritromicina, (G)Gentamicina, (K)Ketoconazol, (N)Nutrofuramicina, (F)Fluconazol y (AM)Ampicilina, se determinó que los microorganismos fueron susceptibles a los antibióticos (E)Eritromicina y (G)Gentamicina, poco susceptibles a los antibióticos (K)Ketoconazol, (N)Nutrofuramicina y fueron resistentes a los antibióticos (F)Fluconazol, (AM)Ampicilina.

Concuerta según lo citado por Nicolás et al. (2001).En el antibiograma realizado se encontró que del total de muestras positivas a *Streptococcus agalactiae* un 19.3% mostró resistencia a la ampicilina. Mientras que (Fernández et al, 2006), reportaron que en el endometrio de animales clínicamente sanos los microorganismos residentes actúan como un factor de defensa primaria del huésped siendo probable que pueda protegerlo de la invasión de otros microorganismos patógenos por mecanismos de competición. Esto reforzaría la teoría de la necesidad de la existencia de un a flora bacteriana saprofita para evitar desequilibrios de la microbiota que den lugar a la proliferación de microorganismos que normalmente no son patógenos, pero que a partir de situaciones de disbiosis, podrían llegar a serlo.

5 CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- La técnica del Citobrush (citología endometrial), es una técnica sencilla, práctica y muy confiable para el diagnóstico de endometritis, pudiendo ser utilizada fácilmente en trabajos regulares de campo.
- El grado de inflamación va en función de la presencia de polimorfonucleares neutrófilos sobre las células epiteliales presentes en el endometrio (células residentes normales).
- Se determinó el alto impacto que tiene la endometritis Subclínica en los lotes post parto a inseminar y por lo tanto en la eficiencia reproductiva posterior al servicio. Lo anterior evidencia la importancia de realizar una evaluación clínica reproductiva temprana para diagnosticar problemas clínicos en bovinos en conjunto con pruebas que permitan determinar la presencia de afecciones subclínicas concomitantes.
- Respecto al antibiograma se determinó que los microorganismos fueron susceptibles a los antibióticos: (Eritromicina) y (Gentamicina), poco susceptibles a los antibióticos: (Ketoconazol), (Nutrofuramicina) y fueron resistentes a los antibióticos: (Fluconazol), (Ampicilina).

5.2 Recomendaciones

- Se recomienda utilizar esta herramienta como método diagnóstico rutinaria en vacas clínicamente sanas con aumento en el número de servicios sin lograr una concepción.
- Es recomendable un estudio más profundo de esta alteración y sus posibles causas y tratamientos con un número más alto de animales a tratar, para obtener una diferencia significativa.
- Se recomienda el uso del chemise para evitar contaminación cruzada en toma de muestras.

6 CAPITULO VI. REFRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barlund, C.; Carruthers, T.; Waldner, C.; Palmer, C. (2008). Comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology*. 69(6); pág. 714-23.

De la Sota, R.L.; Madoz, L.; Jaureguiberry, M.; Domínguez, G.(2014). Subclinical endometritis in dairy cows: diagnosis, prevalence and impact over reproductive efficiency. *Spermova*. pag. 105-111. Recuperado de: http://www.reproduccionanimal.org/site3/files/revistas/spermova%204.2/Sota_2014-II-105-111.pdf

De la Sota R. (2006). Manejo reproductivo en rodeos de leche. Instituto de Reproducción Animal de Córdoba. 1ª ed. Córdoba, Argentina. pág. 105-137.

Duchens, M. (2010). Ciclo estral de la hembra bovina. Departamento fomento de la producción animal. Chile: Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, 2010.

Dejarnette, M. y Nebel, R. (2011). Select Sires: Select Reproductive Solutions. Recuperado de: http://www.selectsires.com/programs/docs/reproductive_anatomy.pdf>.

Domínguez, G., Madoz, L.V.; Magnasco, M.; Magnasco, R.; De la Sota, R.L. (2007). Efecto de la endometritis subclínica sobre la eficiencia reproductiva de vacas de tambo. Instituto de teriogenología, FCV-UNLP. La Plata, Argentina. Recuperado de: http://www.reproduccionanimal.org/site3/files/revistas/spermova%204.2/Sota_2014-II-105-111.pdf

Dohoo, I.; Martin, W.; Stryhn, H. (2009). Veterinary epidemiology research. Segunda edición. Recuperado de: <https://www.amazon.com/Veterinary-Epidemiologic-Research-Ian-Dohoo/dp/0919013600>

Dubuc, J.; Duffield, T.; Leslie, K.; Walton J.; LeBlanc, S.(2010). Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. Dairy Sci. vol. 20; pag. 57-64-71.

Fernández, A.; Dimoso, Z.; Ledesma E. (1984).Estudio cualitativo y cuantitativo de la flora bacteriológica de las secreciones cérvico uterinas de vacas clínicamente sanas. Facultad de Ciencia Animal. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Santa Clara. Cuba. Recuperado de: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101006/100607.pdf>

Fernández, A.; Silveira, E.; López O. (2006). Las infecciones uterinas en la hembra bovina. REDVET. pág. 1-38.

Forero, R. (2004).Conceptos sobre metritis bovina: Un problema poco considerado en la ganadería actual. Editorial AAPA. Pág. 1-6.

Gázquez A y Blanco, A. (2004). Tratado de Histología Veterinaria. Editorial Barcelona. España, 2004. Pg. 381-399.

González, M.; Ríos, R.; Mattar S. (2007). Prevalencia de bacterias asociadas a la infertilidad infecciosa en bovinos de Montería, Colombia. Córdoba. pág. 10-28-35.

Guzmán, A. (2013). *Tesis.* Recuperado de: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/499>

Hafez, E y Hafez, B. (2015). Reproducción e inseminación artificial en animales. México 2005. Recuperado de: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/anie.201203263/full>

Kasimanickam, R.; Duffield, T.F.; Foster, R.A.; Gartley, C.J. (2007). Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. Recuperado de: [http://www.theriojournal.com/article/S0093-691X\(03\)00474-6/abstract?cc=y=](http://www.theriojournal.com/article/S0093-691X(03)00474-6/abstract?cc=y=)

Madoz, L.V. (2012). Determinación de los puntos de corte para el diagnóstico de endometritis subclínica en Argentina. Taurus ed. N.-14. Recuperado de: http://www.misticastudio.com/clientes/taurus/uploads/productos/20150707161707_6_trabajos_originales.pdf

Masaquiza, J. (2015). Diagnóstico de endometritis subclínica en vacas vacías, de 45 días post inseminación artificial. Universidad Técnica de Cotopaxi. Latacunga 2015.

Maurino, A.; Bernardi, S.; Rinaudo, A.; Marini, P. (2012). Prevalencia de endometritis subclínica antes y cuatro horas después de la inseminación artificial en vaquillonas. Universidad Nacional de Rosario, Argentina, 2012.

Martínez, M.; Romano, M. (1996). Interacción inmuno endocrina en el útero: El papel de las hormonas esteroides sexuales. Ciencia Veterinaria. Pág. 192-196.

Nicolás, R.; Gerardo, G.; Ofelia, A.; Blanca, Sierra; Jaime B. (2001). Prevalencia de endometritis en vacas lecheras lactantes en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias (Colombian journal of animal science and veterinary medicine), Vol 14

Pérez, Nelly patricia. (2012). Sistema reproductivo femenino, gestación y parto. universidad católica del norte. 2012. Recuperado de: <http://anatomiasistemareproductivo.blogspot.com/>

Plöntzke, J.; Madoz, L.; De la Sota, R.L.; Drillich, M. . (2010). Subclinical endometritis and its impact on reproductive performance in grazing dairy cattle in Argentina. pág. 52-57.

Quintela, L.; Diaz, C.; Herradón, P.; Peña, M.; Becerra, J. (2006). Ecografía y reproducción en la vaca. Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela, España. Pág. 10-50.

Restrepo, A. (2015). cultivo microbiología. Tratamiento de peritonitis bacteriana con esquema de dosis única diaria de antibióticos intraperitoneales. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-24482006000300002&script=sci_arttext&tlng=pt

Salazar, A.; Navarro, A.; Pallarés, J. (2012). Citología e Histología Veterinaria. Universidad de Murcia. Recuperado de: <http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/citologia-e-histologia-veterinaria/material-declase-1/tema33-reproducto-femenino-ii.pdf>.

Sheldon, I.; Rycroft, A.; Zhou, C. (2006). Association between postpartum pyrexia and uterine bacterial infection in dairy cattle. Vol. 154. Pág. 289-293.

Szenci O. (2006). Diagnostic and treatment of post-partum uterine abnormalities in the cow. Lucrari Stiintifice. Pág. 53(1):34-53. Recuperado de: http://www.uaiasi.ro/revista_zoo/ro/documente/Pdf_Vol_53/Otto_Szenci.pdf.

Sisson, S.; Grossman, J.; Getty, R. (2005). Anatomía de los animales domésticos. 5ta. Ed. En español, reimpresión. Editorial Masson S.A. Barcelona, España. Pág. 1040-1057.

Vallejo, D.; Chavez, C.; Astaíza, J.; Benavides, C.; Jurado, X. (2014). Endometritis subclínica diagnosticada mediante cytobrush y comportamiento reproductivo en vacas del Municipio de Pupiales, Colombia. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0122-93542014000100010

7 CAPITULO VII. ANEXOS

Ilustración 1 Selección de animales para el trabajo de investigación



Ilustración 2 Preparación de las brochas y la pistola para iniciar el Cepillado endometrial (Cytobrush)

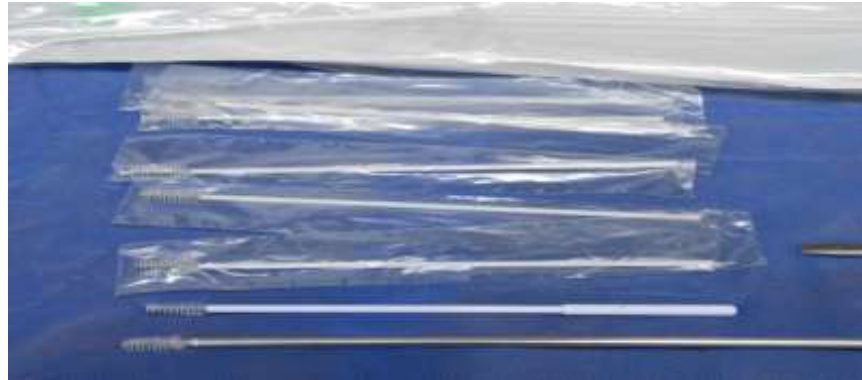


ILUSTRACIÓN 3 CHEQUEO GINECOLÓGICO.



Ilustración 4 Desarrollo del método Citobrush



Ilustración 5 Frotis en las respectivas placas con identificación del animal, bajo la supervisión del Dr. Roberto Quinteros, responsable Programa Bovino del Cipca.



Ilustración 6 Realizando un enjuague de la brocha para su respectivo cultivo de microorganismos.



ILUSTRACIÓN 7 REALIZANDO LA TINCIÓN DE PLACAS, OBTENIDOS POR LA TÉCNICA DE CYTOBRUSH. TINCIÓN 15 (BIOPUR).



Ilustración 8 Preparando agar para el antibiograma



ILUSTRACIÓN 9 CONTEO DE PMN N, DE PLACAS OBTENIDAS POR EL FROTIS Y YA TINCIONADAS



Ilustración 10 Microfotografía óptica. 100x. Tinción 15. Frotis obtenido por Cytobrush. Se observan células Polimorfonucleares Neutrófilos (PMN n)

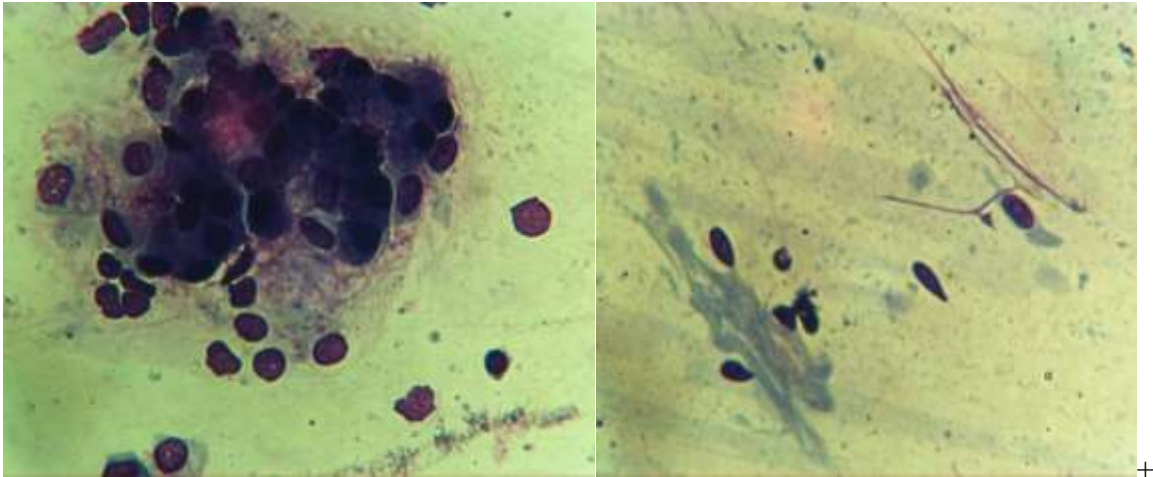


Ilustración 11 Presencia de microorganismos en él cultivo. Se puede apreciar más en animales con presencia de endometritis subclínica

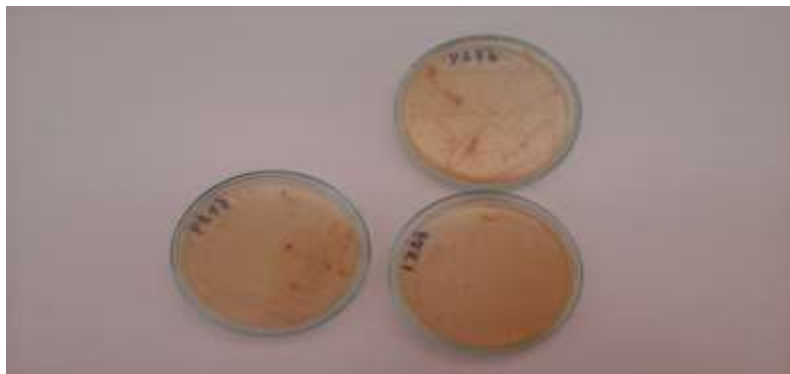
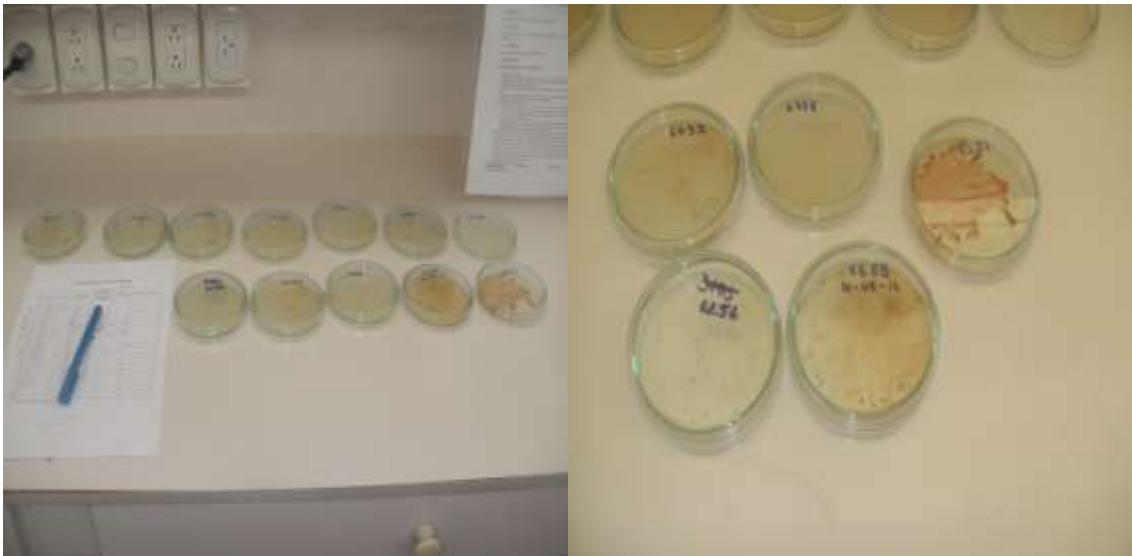


ILUSTRACIÓN 12 ANTIBIOGRAMA PARA OBSERVAR LA INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS OBTENIDOS EN LA SIEMBRA



Ilustración 13 Equipo de trabajo.

