



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA EN VACAS CON
HISTORIAL DE SUBFERTILIDAD MEDIANTE CITOLOGÍA Y CULTIVO
BACTERIOLÓGICO**

TESIS DE GRADO

Trabajo de titulación presentado para la obtención del título de
MEDICA VETERINARIA Y ZOOTECNISTA

**AUTORA
RUGEL ZAMBRANO GLORIA KIMBERLY**

**TUTOR
MVZ. ARCOS ALCÍVAR FABRIZIO JAVIER, M.Sc.**

GUAYAQUIL – ECUADOR

2022



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

APROBACIÓN DEL TUTOR

Yo, MVZ. Arcos Alcívar Fabrizio Javier, M.Sc. Docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: **DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA EN VACAS CON HISTORIAL DE SUBFERTILIDAD MEDIANTE CITOLOGÍA Y CULTIVO BACTERIOLÓGICO**, realizado por la estudiante GLORIA KIMBERLY RUGEL ZAMBRANO; con cédula de identidad N° 0929619435 de la carrera MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, Unidad Académica Guayaquil, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

MVZ. Arcos Alcívar Fabrizio Javier, M.Sc.

Guayaquil, 25 marzo del 2022



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: “DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA EN VACAS CON HISTORIAL DE SUBFERTILIDAD MEDIANTE CITOLOGÍA Y CULTIVO BACTERIOLÓGICO”, realizado por el estudiante RUGEL ZAMBRANO GLORIA KIMBERLY, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

YOONG KUFFO WASHINGTON, M.Sc.
PRESIDENTE

PIÑA PAUCAR ANA, M.Sc.
EXAMINADOR PRINCIPAL

ARCOS ALCÍVAR FABRIZIO, M.Sc.
EXAMINADOR PRINCIPAL

Guayaquil, 13 de mayo del 2022

Dedicatoria

El presente trabajo está dedicado a Dios y a mis padres Saúl Rugel y Gloria Zambrano quienes me han brindado su apoyo incondicional y todo su esfuerzo para sacarme adelante y poder terminar mis estudios universitarios.

Agradecimientos

Agradezco a Dios por darme salud y a mis padres por estar conmigo en los buenos y malos momentos, siempre apoyándome para poder culminar mis estudios.

A mis hermanos (as) por brindarme su apoyo y a nunca rendirme a pesar de las dificultades que se me presentaron.

Agradezco a mi tutor el M.V.Z. Fabricio Arcos. M.SC por brindarme su conocimiento y sobre todo la paciencia que me tuvo para poder terminar mi tesis con éxito.

Agradezco a mi tutor estadístico Dr. Cesar Carrillo por su paciencia al corregirme mi tesis.

A mi amiga María José Molina que me acompañó a lo largo de este proyecto de tesis y de la carrera universitaria.

Autorización de Autoría Intelectual

Yo **GLORIA KIMBERLY RUGEL ZAMBRANO**, en calidad de autor(a) del proyecto realizado, sobre “**DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA EN VACAS CON HISTORIAL DE SUBFERTILIDAD MEDIANTE CITOLOGÍA Y CULTIVO BACTERIOLÓGICO**” para optar el título de **MÉDICA VETERINARIA Y ZOOTECNISTA**, por la presente autorizo a la **UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR**, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor(a) me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Guayaquil, 13 de mayo del 2022

.....

RUGEL ZAMBRANO GLORIA KIMBERLY

CI: 092961943-5

Índice general

PORTADA.....	1
APROBACIÓN DEL TUTOR	2
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN	3
Dedicatoria.....	4
Agradecimientos	5
Autorización de Autoría Intelectual	6
Índice general	7
Índice de tablas.....	9
Índice de figuras.....	10
Resumen.....	11
Abstract.....	12
1. Introducción.....	13
1.1 Antecedentes del problema.....	13
1.2 Planteamiento y formulación del problema.....	15
1.3 Justificación de la investigación	15
1.4 Delimitación de la investigación	16
1.5 Objetivo general	16
1.6 Objetivos específicos.....	16
2. Marco teórico	18
2.1 Estado del arte	18
2.2 Bases teóricas	20
2.3 Marco legal.....	26
3. Materiales y métodos	31
3.1 Enfoque de la investigación.....	31
4. Resultados	37
4.1 Determinación las especies bacterianas en las muestras de endometrio de vacas con problemas de subfertilidad.....	37
4.2 Determinar el grado de endometritis subclínica a través de la citología.....	39
4.3 Comparar la citología de polimorfos nucleados con la Microbiota encontrado.	39
4.4 Describir los factores predisponentes Edad, números de partos, cojeras con los resultados de citología y microbiología.....	40

5. Discusión.....	44
6. Conclusiones.....	47
7. Recomendaciones.....	48
8. Bibliografías.....	49
9. Anexo.....	53

Índice de tablas

Tabla 1.- Diagnóstico de endometritis por cultivo bacteriológico	37
Tabla 2 Análisis microbiológico	38
Tabla 3 Diagnóstico por medio de Cytobrush.....	39
Tabla 4. Comparación de citología con cultivo bacteriano	39
Tabla 5. Edad de la vaca	40
Tabla 6. Edad de las vacas con citología	41
Tabla 7. Análisis edades de las vacas con cultivo bacteriano	41
Tabla 8 Presencia de cojeras	42
Tabla 9 Presencia de cojeras con microbiología	42
Tabla 10. Presencia de cojera con citología	42
Tabla 11- Número de partos.....	43

Índice de figuras

Figura 1. Recolección de datos.	53
Figura 2. Anotación de los datos.	53
Figura 3. Preparación de los materiales de campo.	54
Figura 4. Selección de los animales.	54
Figura 5. Limpieza de la zona vulvar.	55
Figura 6. Vaca lista para el muestreo.	55
Figura 7. Introducción del catéter con el citocepillo y el hisopo para la recolección de las muestras.	56
Figura 8. Medios de transporte Stuart con muestras uterinas.	56
Figura 9. Materiales del laboratorio	57
Figura 10. Rotulación de las muestras con su respectiva identificación.	57
Figura 11. Pasaje de las muestras a sus respectivos agares.	58
Figura 12. Colonias de las bacterias	58
Figura 13. Identificación de las colonias de bacterias	59

Resumen

La finalidad del presente estudio fue diagnosticar endometritis subclínica en vacas con historial de subfertilidad mediante citología y cultivo bacteriológico. Primero se inspecciono visualmente a las vacas lecheras con problemas reproductivos de la hacienda La Sabana, se procedió a registrar cada una de las vacas que estuvieron apta para el estudio. se realizó la toma muestra y se consideró vacas que no estén preñadas lo cual se determinó con palpación rectal. Las muestras endometriales fueron realizadas mediante la técnica de Cytobrush, con previa lavado y desinfección de la región perineal, las muestras fueron procesadas en la clínica veterinaria el triunfo con la tinción de Diff Quik para el conteo de polimorfo nucleados. Las muestras para hisopado fueron recolectadas mediante hisopado y sembradas en agar MacConkey y agar sangre. Se analizaron 40 vacas en producción, de las cuales 23 vacas tuvieron crecimiento bacteriano, 12 vacas tuvieron salieron positivos a citología y las 17 muestras no tuvo crecimiento de colonias bacterianas, 28 muestras fueron negativos para citología.

Palabras clave: citología, cultivo bacteriano, Cytobrush, endometritis subclínica, subfertilidad.

Abstract

The purpose of the present study was to diagnose subclinical endometritis in cows with a history of subfertility by cytology and bacteriological culture. First, the dairy cows with reproductive problems of the La Sabana farm were visually inspected, for the sampling, cows that were not pregnant were considered, which was determined with rectal palpation. The endometrial samples were made using the cytobrush technique, with prior washing and disinfection of the perineal region, the samples were processed in a laboratory Triumph Veterinary Clinic with DiffQuik staining for the count of polymorph nucleates. Swab samples were collected by swabbing and plated on MacConkey agar and blood. Forty cows in production were analyzed, of which 23 cows had bacterial growth, 12 cows had positive results for cytology and 17 samples had no growth of bacterial colonies, 28 samples were negative for cytology.

Keywords: bacterial culture, cytobrush, cytology, subclinical endometritis, subfertility.

1. Introducción

1.1 Antecedentes del problema

La vaca repetidora es usualmente definida como un animal subfétil, que recibe 3 o más servicios sin concepción, en ausencia de desórdenes patológicos en el tracto reproductivo. (Bavera & Peñafort, 2005). La función uterina a menudo se ve comprometida en el ganado lechero y de carne, por la contaminación bacteriana que se produce después del parto, y las bacterias patógenas a menudo persisten, causando enfermedad uterina, una causa clave de infertilidad en el ganado. Sin embargo, la definición o caracterización de la enfermedad uterina con frecuencia carece de precisión o varía entre los grupos de investigación. (Sheldon, Lewis, LeBlanc, & Gilbert, 2005).

Las vacas con problemas reproductivos presentan una dificultad para poder controlar las infecciones que se presentan después del parto, en general sería cualquier condición que afecte a la inmunidad posparto, como se convierte un factor predisponente en la aplicación de progesterona o glucocorticoides, otros factores que también influyen en la proliferación de infecciones uterinas son problemas en el manejo ambiental, las retenciones placentarias algún tipo de problemas reproductivos. (Umeres, 2018).

Entre los factores que afectan la vida reproductiva de la vaca las más importantes son las infecciones reproductivas que sufre constantemente el útero. La endometritis involucra al endometrio y otros tejidos. La endometritis implica a menudo la acumulación de secreción útero y días abiertos muy largos. (Recce, 2013).

Luego del parto una gran cantidad de bacterias afectan al útero y estas causan problemas reproductivos y son: *Escherichia coli*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Clostridium* spp, *Streptococcus* spp, *Proteus* spp. Para poder diagnosticar la endometritis se basa en el cálculo del porcentaje de polimorfos nucleares neutrófilos (%PMN) presentes en los

frotis obtenidos por medio de la citología de la mucosa uterina. La endometritis subclínica se puede determinar de diferentes maneras, entre ellas la biopsia endometrial, la citología endometrial mediante un citocepillo (CB). A pesar de que la biopsia endometrial y la histopatología pueden formar el método ideal para la determinación de la endometritis, el medio es invasivo, caro, y lleva tiempo. Además, se puede relacionar el procedimiento en sí mismo con una demora en la concepción (Gilbert, 2005).

El manejo nutricional se debe enfocar hacia una óptima producción de leche, sin descuidar la sanidad y la fertilidad del animal. Cuando se alimenta solo para optimizar la producción de leche, la fertilidad se puede ver deteriorada. Esta relación inversa ha sido reportada en forma consistente. (Meléndez & Bartolome, 2017) La demanda energética en una vaca recién parida se incrementa hasta en 2.5 veces con el fin de sostener la producción de leche en tanto que los requerimientos nutricionales, en específico el calcio este aumenta más de 65% (Arévalo , Ruiz , Chagray , & Sandoval , 2021)

En la ganadería lechera y de carne tiene una amplia distribución dentro de nuestro país, y el desempeño reproductivo muy importante (Javier, 2015).

El diagnóstico se basa en calcular el porcentaje de polimorfos nucleares neutrófilos (%PMN) que se encuentren el frotis que se obtuvo por citología uterina (Reátegui J, 2015).

1.2 Planteamiento y formulación del problema

1.2.1 Planteamiento del problema

Las enfermedades en el ganado bovino causan más pérdidas económicas que cualquier otro grupo de problemas de salud en la producción lechera, debido a afectación del potencial genético, disminución de la producción de leche y por necesidad de aplicar tratamientos que elevan los gastos por concepto de medicamentos y servicios veterinarios.

Varios estudios han demostrado que el aumento continuo de producción de leche junto con una disminución en la fertilidad de las vacas, debido al estrés metabólico, causado por el desequilibrio que se causa en la alimentación la producción y reproducción. Como resultado, casi todos los aspectos de la reproducción de la vaca se ven afectados, incluido el rendimiento del celo.

1.2.2 Formulación del problema

¿De qué manera las vacas con historial se podrán asociar al contaje de polimorfos nucleados y cultivo bacteriológico?

1.3 Justificación de la investigación

Es una realidad que existe vacas difíciles de preñar sea por monta natural o por inseminación artificial, además del uso continuo e indiscriminado de antibióticos en la vaca post parto por vía intrauterina durante el puerperio y diagnóstico tardío de la endometritis subclínica.

Se debe tener en cuenta las patologías uterinas como es la endometritis subclínica porque esta afecta a la producción ganadera a la ganadería a nivel mundial (Sarmiento, 2016). El ganado lechero suele generar infecciones uterinas después del parto lo que

afecta la fertilidad y por lo cual representan pérdidas al productor ganadero. (Ruiz Asanza Lisseth, 2018).

1.4 Delimitación de la investigación

El problema está delimitado en comprobar la endometritis subclínica es bacteriana y si tiene una relación con la citología en vacas lecheras que luego de monta e inseminación no quedan preñadas de la hacienda LA SABANA ubicada en Villa Nueva.

- **Espacio:** Cantón Naranjal perteneciente a la provincia del Guayas.
- **Tiempo:** el trabajo se realizó en el mes de julio - agosto.
- **Población:** Hacienda LA SABANA del cantón Naranjal, Se muestreo a vacas con subfertilidad. Aptos para dicha investigación.

1.5 Objetivo general

Diagnóstico de endometritis subclínica en vacas con historial de subfertilidad mediante citología y cultivo bacteriológico.

1.6 Objetivos específicos

- Determinar las especies bacterianas en las muestras de endometrio de vacas con problemas de subfertilidad.
- Determinar el grado de endometritis subclínica a través de la citología.
- Comparar la citología de polimorfos nucleados con la Microbiota encontrado.
- Describir los factores predisponentes Edad, números de partos cojeras con los resultados de citología y microbiología.

1.7 Hipótesis

Las vacas con antecedentes de subfertilidad están asociados al contaje elevados de PMM, cultivo positivo a enteropatógenos.

2. Marco teórico

2.1 Estado del arte

Las haciendas lecheras deben ser reproductivamente eficaces. Los bovinos deben tener intervalos en donde se permita maximizar la producción lechera de un hato. La actividad reproductiva del animal está incluida por las crías que nacen en un año y la ganancia genética. (Palmer, 2008)

Luego del parto, el útero se ve comprometido por padecimientos uterinos que afectan la productividad uterina. La endometritis es una inflamación de endometrio que se debe a la permanencia de una infección moderada o al retraso de la involución uterina. Esta enfermedad al no presentar signos puede ser difícil de diagnosticar y las vacas afectadas terminan su periodo voluntario de espera y se integran a los programas de inseminación. (Barajas, y otros, 2018) Esto produce que las vacas tengan intervalos abiertos muy amplios, aumento de los servicios de concepción causando pérdidas reproductivas (Palmer, 2008)

Un factor a considerar es la presencia de endometritis subclínica, definida como endometritis subclínica y asociada a mala recuperación uterina, con impacto negativo en la tasa de fertilidad. Estas condiciones empeoran el desempeño reproductivo del rebaño, provocando cambios en los índices productivos como servicios por concepción, intervalo parto primer servicio, intervalo parto concepción y tasas de fecundación, afectando negativamente los intereses comunes de las empresas productivas y ganaderas. (Vallejo , Chávez , Astaíza , Benavides , & Jurado , 2014)

Según (Carrillo, 2011) los factores predisponentes son: la retención de la placenta lo cual afecta la fertilidad del animal, los partos distócicos, la nutrición, el manejo y el medio ambiente. Observó que, entre los distintos grupos genéticos en vacas primíparas, de las

variables estudiadas, el % PMN-N alcanzó un rango entre 0,4% y 4,4%, con una media de 2,2%, reporta que los % PMN-N por grupo genético tanto de vacas primíparas como multíparas no mostraron diferencias significativas entre ello (Garofolo F, 2013).

El manejo y los factores ambientales influyen en el desempeño reproductivo de un hato lechero, incluida la eficiencia de detección del estro, la edad, la nutrición, las técnicas de manejo del semen, la problema del parto, la salud metabólica, la salud de la ubre, la comodidad de la vaca, la carga ganadera y estrés por calor. (Caraviello, y otros, 2016)

Los índices de endometritis oscilan entre 25 y 60%. En algunos lugares del mundo como Cuba se han descritos porcentajes altos de 35,8 y 45% en hembras estéril. En los hatos se ha considerado una prevalencia que oscila entre 15 y 30% (Fernández, Silveira, & López, 2006) En otras investigaciones en ganadería de sistema semi intensivo en Argentinos, La prevalencia esta patología se encuentra entre 35 y 50 % a los 35 - 60 post parto según diferentes informes. (Sheldon I. , 2008) Hay una distribución amplia de endometritis en algunos países como: 2,6 % al 4,5 % en España, 6,25 % en Dinamarca, 47,6 % en Corea, en Australia alteró entre 5,6 % y el 10,9 %, y en Reino Unido 10,1 %. (En & Veterinarias, 2012) La estadísticas en la mayoría de los estudios esta entre 20 y 40 % e influye categóricamente a la tasa de gestación, principalmente en el primer servicio (Barajas, y otros, 2018)

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Endometritis

La endometritis es una infección de las membranas de útero del endometrio; está caracterizado por cambios en el epitelio superficial, congestión vascular con edema en el estroma y migración de neutrófilos y otras células inflamatorias al área afectada. (Montenegro, 2005) Durante el periodo puerperal el 90% de las vacas desarrollan una leve infección de endometritis, las mayorías de las vacas tienen mecanismo locales que ayudan eliminar las infecciones, pero cuando la infección pasa varios días los 21 días como resultado se da metritis y endometritis. Las infecciones se establecen por la aparición de un exudado mucopurulento después de 21 días post parto. Se le asocia frecuentemente con retardo en la involución uterina y no está acompañada de signos clínicos sistémicos. (Montenegro, 2005)

La endometritis subclínica ataca a producción y reproductivo del ganado, es diagnosticado por citología debido a la ausencia de material purulento en la vagina, como principal resultado es la infertilidad durante la inflamación y la su fertilidad que se da cuando se pasa el proceso de infección. En algunos estudios realizados en vacas tratadas contra la endometritis luego de eso la preñez fue del 20% más baja a diferencia en los animales sanos y más aún el 3% del total de las vacas que estuvieron infértiles. Este inconveniente trae pérdidas económicas para el hato productora de leche. (Montenegro, 2005)

La endometritis es caracterizada fundamentalmente por la acumulación de células plasmáticas y linfocitos en la capa superficial seguido de una infiltración de células inflamatorias, edema, congestión vascular (De & Manspeaker, 1986).

La endometritis se subdivide en dos categorías. La endometritis clínica es sintomática y se caracteriza por la formación de microabscesos e invasión de neutrófilos en el epitelio superficial del endometrio, la luz de la glándula y la cavidad uterina. La endometritis subclínica es bastante silenciosa y se reconoce como una infiltración inusual de plasmocitos en las áreas del estroma endometrial. Durante la última década, los estudios han revelado la posible asociación entre los malos resultados reproductivos y la endometritis, en particular la endometritis subclínica (Kitaya et al., 2018).

2.2.2 Patogenia

Después del parto el útero de las vacas genera una infección bacteriana en un 90% de los casos. El proceso se caracteriza pues superficialmente hay 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). (Masaquiza, 2015) Las características reproductivas determinan la eficiencia reproductiva del hato, y son uno de los aspectos más importantes, ya que tiene impacto en los costos de producción del ganado (Oscar Vergara et al., 2008).

2.2.3 Factores predisponentes

Según (Recce, Russi, Massera, & Signorini, 2014) los factores más predisponentes son: los partos distócicos, melliceros y animales con retención de membrana fetales, a los cuales se les atribuye una presentación de endometritis grado 2 o 3.

El manejo y el medio ambiente están relacionados con endometritis por alta demanda de producción de leche, estrés y déficits en la alimentación. (Fernández, Silveira, &

López, 2006) El manejo en la inseminación artificial, la monta y exámenes obstétricos pueden generar un mayor riesgo de entrada de bacterias en el útero.

2.2.4 La Microbiología uterina

La vagina es el conducto excretor del útero, y conducto del parto, tiene la capacidad inmunitaria que le sirve como defensa contra microorganismo, esta tiene diferentes barreras inmunes en respuesta a los desafíos bacterianos y los procesos inflamatorios como último freno para la defensa del genital ante la invasión microbiana. (Boscán, Zambrano , Nava, & Portillo, 2010)

Durante el periodo de recuperación luego del parto han aislado múltiples especies bacterianas en más del 90% de las vacas, pero la prevalencia de infecciones disminuye con el de los días. Los patógenos más asociadas a esta enfermedad son: *Escherichia coli*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum* y *Bacteroides melaninogenicus*. Se especula que *Fusobacterium necrophorum* y *Bacteroides melaninogenicus* actúan sinérgicamente con *Prevotella* spp. *Fusobacterium necrophorum* produce una leucotoxina P, *Bacteroides melaninogenicus* causan una sustancia que priva la fagocitosis y *Arcanobacterium pyogenes* produce un factor de crecimiento para *Fusobacterium necrophorum* causando una endometritis severa. (Painemilla, Marro, Cantore, & Moscuzza, 2018)

2.2.5 Signos clínicos

Los signos de la endometritis corresponden a los partos múltiples. Se caracteriza por un alto porcentaje de neutrófilos en el lumen del útero sin presencia de secreciones, en casos graves hay disminución de la producción lechera y días amplios. (Villacres, 2016)

2.2.6 Diagnóstico

Las endometritis pueden ser diagnosticadas por: la biopsia uterina, la colorimetría por reacción de tiras de esterasa leucocitaria, ultrasonografía, la citología uterina con citocepillo, palpación rectal, la vaginoscopia estas últimas son técnicas de rápidas y de fácil uso. (Ochoa, 2020)

2.2.6.1 Cytobrush

La técnica de cytobrush se obtiene células del endometrio mediante un cepillado de la superficie interna del útero, la mejor técnica para realizar citologías y fácil de realizar. Para obtener la muestra se deben tener las pistolas de inseminación donde se les colocan el catéter de inseminación y finalmente dentro el cepillo. (Vanina, 2012)

La técnica de cytobrush nos ayuda a tener muestra rápida de polimorfos y así poder lograr diagnosticar inflamación subclínica del endometrio. De los métodos conocidos, el CB ha confirmado ser una técnica de rápido resultados, principalmente por su practicidad y no altera la morfología de los neutrofilos. (Madoz, Plontke , Albarracin , Drillich, & De la Sota , 2014)

2.2.6.1.1 Tinción Diff-Quick

Esta tinción se la emplea en el cytobrush por dar un diagnóstico rápido, esta técnica nos permite comprobar si la prueba de extracción de la muestra ha sido satisfactoria. Los resultados se obtiene son: Núcleos azules violáceos; Citoplasma azul claro-rosa; Eritrocitos maduros los veremos de un color naranja rosado; Nucléolo de color rosa (Calcina, 2018).

2.2.6.2 Cultivo bacteriológico

El cultivo bacteriano se lo realizara en dos tipos de agares que son agar de sangre y agar MacConkey. El agar sangre se le suele colocar la sangre de carneros, pero también se sabe utilizar la de caballos y conejos, es un medio rico en los nutrientes con un 5% de nutrientes otros tipos de antibióticos que inhiben el crecimiento de otras bacterias gramnegativas, lo que permite el crecimiento de los cocos grampositivos. El agar MacConkey es un agar más selectivo para enterobacterias, está compuesta por sales biliares y cristal violeta que inhibe el crecimiento de grampositivos y hongos. (Barrero, 2016). Permite identificar el organismo patógeno. Por norma general, se considera que cultivos de tres hongos o más indican contaminación. Para la toma de las muestras es necesario la limpieza de la zona, de la misma manera que para la citología. Podemos obtener muestras a través de hisopos estériles, la técnica de lavado uterino de bajo volumen y biopsia endometrial. El cultivo realizado a partir de una biopsia endometrial presenta la mayor sensibilidad, seguido del cultivo realizado a partir del lavado uterino de bajo volumen, que resulta tener mayor sensibilidad que un cultivo convención (Bermejo, s.f.).

2.2.6.3 Palpación rectal

Durante la palpación rectal se debe evaluar el diámetro del cérvix, ubicación del útero, presencia de secreciones uterinas. (Rutter , 2015)

2.2.6.4 Palpación vaginal

Esta técnica se realiza mediante la vagina se debe realizar una limpieza y se procede a introducir la mano con un guante descartable, se deben palpar las paredes, techo y piso de la vagina, se extrae el moco para poder examinarlo. (Rutter , 2015)

2.2.6.5 Tratamiento

Según (Rinaudo, 2012) El tratamiento para esta enfermedad se en PGF2 α o sus análogos, aplicación de antibióticos intrauterinos y/o enzimas proteolíticas estas mostraron efectos heterogéneos en las investigaciones desarrolladas.

Se debe hacer un tratamiento anticipado y favorable que se haría con el uso de prostaglandinas cada 14 días desde los 30 días posparto, el uso de antibióticos no está indica por la resistencia microbiana, pero se alterna de utilizar uno no irritante como la penicilina, estreptomycin, cefalosporina con dilución de suero fisiológico, por vía intrauterina, si no se obtiene resultados se debe utilizar tilosina vía intrauterina. (Alvear, 2014)

El veterinario debe ser capaz de identificar de forma precisa y práctica vacas enfermas de esta manera tener un tratamiento oportuno y adecuado. (Pizarro, 2018)

2.3 Marco legal

REGLAMENTO ZOOSANITARIO DE CENTROS DE CONCENTRACION DE ANIMALES

Resolución de AGROCALIDAD 125

Registro Oficial 818 de 15-ago.-2016

Estado: Vigente

MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERIA, ACUACULTURA Y PESCA:

No. 0125

EI DIRECTOR EJECUTIVO DE LA AGENCIA ECUATORIANA DEASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO- AGROCALIDAD

Considerando:

Que, el artículo 13 de la Constitución de la República del Ecuador establece que las personas y las colectividades tienen derecho al acceso seguro y permanente a alimentos sanos, suficientes y nutritivos, preferentemente producidos en el ámbito nacional y en corresponsalía con sus diversas identidades y tradiciones culturales, para lo cual el Estado debe promover la soberanía alimentaria;

Que, el artículo 281 numeral 7 de la Constitución de la República, establece que la soberanía alimentaria constituye un objetivo estratégico y una obligación del Estado para garantizar que las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades alcancen la autosuficiencia de alimentos sanos y culturalmente apropiado de forma permanente. Para

ello, será responsabilidad del Estado: Precautelar que los animales destinados a la alimentación humana estén sanos

y sean criados en un entorno saludable;

Que, el artículo 281 numeral 13 de la Constitución de la República, establece que la soberanía alimentaria constituye un objetivo estratégico y una obligación del Estado para garantizar que las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades alcancen la autosuficiencia

de alimentos sanos y culturalmente apropiado de forma permanente. Para ello, será responsabilidad del Estado: Prevenir y proteger a la población del consumo de alimentos contaminados o que pongan en riesgo su salud o que la ciencia tenga incertidumbre sobre sus efectos;

Que, el artículo 1 de la Ley de Sanidad Animal, codificado, publicado en el Suplemento de Registro Oficial No. 315 de 16 de abril de 2004, establece que le "Corresponde al Ministerio de Agricultura y Ganadería, realizar la investigación relativa a las diferentes enfermedades, plagas y flagelos de la población ganadera del país y diagnosticar el estado sanitario de la misma. Estas tareas las emprenderá planificadamente con la participación de las unidades administrativas y técnicas, entidades dependientes y adscritas y en estrecha coordinación con las instituciones públicas o privadas, nacionales o internacionales, vinculadas al sector.";

Que, el artículo 13 de la Ley de Sanidad Animal, codificado, publicado en el Suplemento de Registro Oficial No. 315 de 16 de abril de 2004, establece que el

"Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca, controlará y reglamentará la movilización y transporte del

ganado que salga de las explotaciones con destino a ferias, plazas, exposiciones, camales o lugares de venta como medio de evitar la propagación de enfermedades infecto -contagiosas";

Que, el artículo 13 de la Ley de Erradicación de la Fiebre Aftosa establece que "El ingreso de ganado bovino a las ferias comerciales será controlado por el Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria (hoy AGROCALIDAD) y los administradores de dichas ferias, sean estas municipales o particulares. No se permitirá el ingreso ni la comercialización de ganado bovino en dichas ferias sin el certificado de vacunación y la correspondiente guía de movilización."

CAPITULO XII DEL BIENESTAR ANIMAL

Art. 32.- Las administraciones de los establecimientos de concentración de animales acatarán las directrices o lineamientos que AGROCALIDAD establezca con el fin de garantizar el bienestar y estado sanitario de los animales.

EXPEDIR EL REGLAMENTO ZOOSANITARIO PARA EL FUNCIONAMIENTO
DE CENTROS DE CONCENTRACION DE ANIMALES DE PRODUCCION

CAPITULO I

AUTORIDAD NACIONAL COMPETENTE, OBJETO, AMBITO DE APLICACION

Art. 1.- Autoridad Nacional Competente. - La Agencia Ecuatoriana del Aseguramiento de la Calidad del Agro - AGROCALIDAD, es la Autoridad Nacional Competente (ANC) para la aplicación del presente Reglamento Zoosanitario.

Art. 2.- Objeto. - El presente reglamento regulará y controlará el estatus sanitario de los Centros de Concentración de Animales de Producción en el territorio ecuatoriano, fortaleciendo las condiciones sanitarias de la ganadería nacional y, por ende, mejorar la calidad e inocuidad de los productos alimenticios de origen animal para consumo humano.

Art. 3.- Ámbito. - La aplicación del presente reglamento es a nivel nacional, para toda persona natural o jurídica interesada en el funcionamiento que implica la concentración de animales tanto con fines comerciales, de exhibición, de pesaje o recreativos donde se determine previamente por la AGROCALIDAD la existencia de un riesgo de carácter sanitario.

Art. 4.- Glosario. - Para efectos de la presente resolución, se establecen las siguientes definiciones:

AGROCALIDAD, es la Autoridad Nacional Sanitaria, Fitosanitaria y de Inocuidad de los Alimentos, encargada de la regulación y control sanitario agropecuario, con la finalidad de mantener y mejorar el estatus fito y zoosanitario; procurar la inocuidad de la producción primaria; apoyar los flujos comerciales; y, contribuir a la soberanía alimentaria.

CENTRO DE ABASTECIMIENTO BOVINO (CAB). - Establecimiento destinado al pesaje de animales previo a ser transportados a un matadero autorizado por AGROCALIDAD, no considerándose ferias de comercialización en sus instalaciones.

FERIA COMERCIAL: lugar de concentración autorizado y registrado por AGROCALIDAD, donde se realiza la comercialización de todo tipo de especies animales, cuyo destino final puede ser la cría o el sacrificio para consumo.

SUBASTA / REMATE: son sistemas de venta que pueden funcionar perfectamente en las ferias de comercialización permanentes; sistema de comercialización de todo tipo de especies animales, cuya finalidad es la venta para el levante, engorde, cría, reproducción y sacrificio de los mismo. (Agrocalidad , 2016)

3. Materiales y métodos

3.1 Enfoque de la investigación

El estudio tuvo un enfoque cuantitativo, porque se seleccionaron vacas con problemas de subfertilidad en la cual se tomó muestras de endometrio para aislar patógeno bacterianos y para el recuento de polimorfos nucleados en la hacienda Villa Nueva ubicada en el cantón Naranjal de la provincia del Guayas.

3.1.1 Tipo de investigación

El tipo de investigación es descriptivo para esto se utilizó las vacas con días amplios abiertos y con problemas de subfertilidad.

3.1.2 Diseño de investigación

No experimental de corte transversal. Es decir, que las variables independientes no pueden ser manipuladas por el investigador. Lo que se hace es observar fenómenos tal y como se dan en su realidad para después analizarlos.

3.2 Metodología

3.2.1 Variables

3.2.1.1 Variable independiente

- Número de vacas con antecedentes de subfertilidad
- Edad
- Presencia de cojera
- Grado de endometritis

3.2.1.2 Variable dependiente

- Agente bacteriano aislados
- Polimorfos Nucleados

3.2.1.3 Operación de Variables

Objetivos Especificos	Actividades Metodológicas	Nombre Variable	Tipo de variable	Denominación de la variables	Definición de la variables	dimensión de la escala	Escala de la variable	resultados esperados
• Determinar las especies bacterianas en las muestras de endometrio de vacas con problemas de subfertilidad.	toma de muestra cultivo (agar mackonquin, sangre) identificación, morfologica de las colonias genero y especie	agente bacteriologico				Arcanobacterium pyogenes: Gram positivo, no formador de esporas. Escherichia coli: Gram negativos, no esporulante. Streptococcus spp: Gram positivas, anaerobias facultativas, inmóviles, con forma esférica o de coco Proteus spp: gramnegativas,		
			Dependiente	cualitativa	Después del parto el útero puede ser infectado por una gran cantidad de bacterias aerobias y anaerobias causando problemas reproductivos.		tipo, morfologia,	Escherichia coli, Arcanobacterium pyogenes, Clostridium spp, Streptococcus spp, Proteus spp
Objetivos Especificos	Actividades Metodológicas	Nombre Variable	Tipo de variable	Denominación de la variables	Definición de la variables	dimensión de la escala	Escala de la variable	resultados esperados
Establecer el grado de endometritis subclínica a través de la citología	toma de muestra con cepillo cytobrush	polimorfos nucleados	Dependiente	cuantitativa	es parte de una respuesta inespecifica a un xenobiotico o un agente microbiano	En los primeros dias post parto esta incrementado el polimorfo nucleares	> 5% Positivas	Se considera muestra + cuando: Entre 20 a 33 días PP >18 % de polimorfos nucleares Entre 34 a 37 días PP >10% de polimorfos nucleares Entre 40 – 60 días PP >5% de polimorfos nucleares
Objetivos Especificos	Actividades Metodológicas	Nombre Variable	Tipo de variable	Denominación de la variables	Definición de la variables	dimensión de la escala	Escala de la variable	resultados esperados
• Comparar la citología de polimorfos nucleados con la microbiota encontrada	agente bacteriologico	agente bacteriologico	Dependiente	cualitativa	Después del parto el útero puede ser infectado por una gran cantidad de bacterias aerobias y anaerobias causando problemas reproductivos.	Arcanobacterium pyogenes: Gram positivo, no formador de esporas. Escherichia coli: Gram negativos, no esporulante. Streptococcus spp: Gram positivas, anaerobias facultativas, inmóviles, con forma esférica o de coco Proteus spp: gramnegativas,	tipo, morfologia,	Escherichia coli, Arcanobacterium pyogenes, Clostridium spp, Streptococcus spp, Proteus spp
	polimorfos nucleados	polimorfos nucleados	Dependiente	cuantitativa	es parte de una respuesta inespecifica a un xenobiotico o un agente microbiano	En los primeros dias post parto esta incrementado el polimorfo nucleares	> 5% Positivas	Se considera muestra + cuando: Entre 20 a 33 días PP >18 % de polimorfos nucleares Entre 34 a 37 días PP >10% de polimorfos nucleares Entre 40 – 60 días PP >5% de polimorfos nucleares

3.2.2 Población

El presente estudio se realizó en la hacienda la sabana que está formado por 500 vacas aproximadamente en producción y se seleccionara la muestra en base al criterio de inclusión.

3.2.3 Criterio de inclusión

- Vacas que no queden preñadas durante la inseminación artificial o monta natural.
- Vacas con problemas de subfertilidad

3.2.4 Muestras

Se estimó en base al criterio de inclusión 40 vacas se encontraron con las características que se necesitó para la investigación.

3.2.5 *Recolección de datos*

3.2.5.1 *Recursos*

3.2.5.1.1 *Materiales y equipos de campo*

- Cepillo citológico
- Placa porta objeto
- Lápiz graso
- Guantes de palpación
- Guantes de exploración
- Tijeras
- Cinta de papel
- Medios de transportes
- Yodo jabonoso
- Vaginoscopio

3.2.5.1.2 Materiales y equipos de Laboratorio

- Microscopio
- Tinción Diff Quik
- Agares (MacConkey, sangre)
- Pipetas
- Toallas de papel
- Tinción de Gram
- Alcohol metanol
- Libreta
- Incubadora de muestras
- Mechero
- Mandil
- Guantes
- Mascarilla
- Gorro

3.2.4.2 Métodos y Técnicas

3.2.4.2.1 Evolución clínica reproductiva

Se observó la información general del hato ganadero y de los animales de la finca, Se hizo una exploración visual de los animales donde se observó el aparato reproductor de las vacas.

3.2.4.2.2 Criterio de inclusión

La siguiente investigación se realizó en la hacienda La Sabana, la población objeto de estudio fueron vacas lecheras que tenían problemas reproductivos. Para la toma de muestras, se utilizó vacas que se encontraban vacías (ausencia de gestación), se realizó palpación rectal para determinar la ausencia o presencia de secreción anormal mediante esta técnica se identificó que la población esta apta para el estudio, seguido de la toma de muestras para citología endometrial y cultivo bacteriológico.

3.2.4.2.3 Toma de muestra

Para la toma de las muestras se lo realizo con las pistolas de inseminación se les coloco un hisopo estéril para tomar la muestra para el cultivo bacteriológico y con un cito cepillo para la toma de la muestra de citología endometrial

3.2.4.2.4 Cultivo de las muestras

Una vez sembradas en agar MacConkey y agar sangre para el respectivo crecimiento de las bacterias, las muestras estarán 1 día en la incubadora a temperatura de 37°C. Pasando el día se revisarán las muestras para observar el crecimiento de bacterias y se procede a la identificación, qué tipo de baterías y si es Gram positivo o

negativa para esto realizamos las siguientes pruebas de oxidasa, catalasa, indol, tinción de Gram

3.2.4.2.5 Interpretación

El diagnóstico se lo realizó mediante lo reportado por Sheldon y colaboradores donde se considera la muestra positiva (endometritis subclínica) cuando:

- Entre 20-33 días, PP>18% de polimorfos nucleares.
- Entre 34-47 días, PP>10% de polimorfos nucleares.
- Entre 40-60 días, PP>5% de polimorfos nucleares.

Según (Rutter , 2015) esta técnica es segura para el diagnóstico de las endometritis sub clínicas, que se puede utilizar en vacas repetidoras. Todas las vacas de nuestro estudio sobrepasaron los 100 días pos parto.

3.2.3 Análisis estadístico

Para el estudio estadístico del trabajo se trabajó con el modelo matemático estadístico ajustado al análisis. La cual se presentó en tablas y gráficos de pasteles y barras.

4. Resultados

4.1 Determinación las especies bacterianas en las muestras de endometrio de vacas con problemas de subfertilidad.

Tabla 1.- Diagnóstico de endometritis por cultivo bacteriológico

CULTIVO			
	Positivo	Negativo	TOTAL
Número	23	17	40
%	57,5	42,5	100

Rugel, 2021

Para el diagnóstico de endometritis subclínica en vacas con sub-fertilidad, se tomó muestras de endometrio en 40 vacas obteniendo 57.5% positivas (23/40) y negativas 42.5% (17/40) como se muestra en la tabla 1.

4.1.1 Análisis Microbiológico

Tabla 2 Análisis microbiológico

Cultivo	N°	%
Staphylococcus aureus	6	15
Klebsiella Pneumoniae	3	7,5
Escherichia coli	3	7,5
Staphylococcus epidermidis	2	5
Pseudomonas aeruginosa /Klebsiella Pneumoniae	4	10
Staphylococcus aureus / Escherichia coli	1	2,5
Staphylococcus epidermidis/ Escherichia coli	1	2,5
Staphylococcus aureus/ Klebsiella pneumoniae	1	2,5
Escherichia coli/ Pseudomonas aeruginosa	1	2,5
Pseudomonas aeruginosa /Klebsiella Pneumoniae /Escherichia coli	1	2,5
Sin crecimiento	17	42,5
Total	40	100

Rugel, 2021

En la tabla 2 se muestra la especie y genero de las bacterias aisladas: 6 muestras con **Staphylococcus aureus** 15 % (6/40), 3 muestras con **Escherichia coli** 7,5 % (3/40), 3 muestras con **Klebsiella Pneumoniae** 7,5 % (3/40), 2 muestras con **Staphylococcus epidermidis** 5 % (2/40), 4 muestras con **Pseudomonas aeruginosa /Klebsiella Pneumoniae** 10 % (4/40), 1 muestras con **Staphylococcus epidermidis / Escherichia coli** 2,5 % (1/40), 1 muestra con **Staphylococcus aureus/ Klebsiella pneumoniae** 2,5 % (1/40), 1 muestra con **Escherichia coli/ Pseudomonas aeruginosa** 2,5 % (1/40), 1

muestra con *Pseudomonas aeruginosa* /*Klebsiella Pneumoniae* /*Escherichia coli* 2,5 % (1/40) y 17 muestras que no hubo ningún crecimiento bacteriano.

4.2 Determinar el grado de endometritis subclínica a través de la citología.

En la tabla 3. Indica que se encontró resultados de 12 vacas positivas y 28 vacas negativas para citología endometrial.

Tabla 3 Diagnóstico por medio de Cytobrush

Cytobrush			
	Positivo	Negativo	TOTAL
Número	12	28	40
%	30	70	100

Rugel, 2021

4.3 Comparar la citología de polimorfos nucleados con la Microbiota encontrado.

Tabla 4. Comparación de citología con cultivo bacteriano

Microbiota	Citología		
	alta	media	baja
Staphylococcus aureus	2	1	1
Klebsiella Pneumoniae	1	0	0
Escherichia coli	1	2	0
Staphylococcus epidermidis	1	0	0
Pseudomonas aeruginosa /Klebsiella pneumoniae	0	1	0
Staphylococcus aureus / Escherichia coli	0	0	0
Staphylococcus epidermidis/ Escherichia coli	1	0	0
Staphylococcus aureus/ Klebsiella Pneumoniae	0	0	0
Escherichia coli/ Pseudomonas aeruginosa	0	0	1
Pseudomonas aeruginosa /Klebsiella Pneumoniae /Escherichia coli	0	0	0
Total	6	4	2

Rugel, 2021

En las muestras donde estuvieron aislado un solo patógeno se observó mayor respuesta celular a diferencias de las bacterias que crecieron en conjuntos a otras no hubo mayor crecimiento de polimorfos nucleados.

4.4 Describir los factores predisponentes Edad, números de partos, cojeras con los resultados de citología y microbiología.

Tabla 5. Edad de la vaca

Edad/años	# de animales	%porcentaje
3	6	15
4	4	10
5	2	5
7	4	10
8	9	22,5
9	5	12,5
10	8	20
12	1	2,5
13	1	2,5
Total:	40	100

Rugel, 2021.

Al observar la tabla indica que; 9 vacas de 8 años equivalen al 22,5%, 8 vacas de 10 años 20%, 6 vacas de 3 años 15%, 5 vacas de 9 años 12,5%, 4 vacas de 7 años 10%, 4 vacas de 4 años 10%, 2 vaca de 5 años 5% 1 vaca de 13 años 2,5% y 1 vaca de 12 años 2,5%. Por lo tanto, el mayor porcentaje se centra en vacas que van desde los 8 a 10 años de edad las cuales se ven afectadas en la fertilidad.

Tabla 6. Edad de las vacas con citología

Citología			
Edad/años	# de animales Positivos	# de animales Negativas	Total de animales
3	2	4	6
4	1	3	4
5	1	1	2
7	0	4	4
8	3	6	9
9	1	4	5
10	3	5	8
12	0	1	1
13	1	0	1
Total	12	28	40

Rugel, 2021

En la tabla 6 se observó que la muestra con mayor número de positivos a citología fue de las edades entre 8 a 10 años

Tabla 7. Análisis edades de las vacas con cultivo bacteriano

Cultivo			
Edad/años	# de animales Positivos	# de animales Negativas	Total de animales
3	6	0	6
4	2	2	4
5	2	2	2
7	2	2	4
8	4	5	9
9	2	3	5
10	3	5	8
12	1	0	1
13	1	0	1
Total	23	17	40

Rugel, 2021

En los resultados de la tabla 7 se observó que hubo un mayor crecimiento de bacterias en las edades fue de 3 años seguido de las vacas de 8 y 10 años.

Tabla 8 Presencia de cojeras

Presencia de cojera	Número	Porcentajes
Si	10	25
No	30	75
Total	40	100

Rugel, 2021

Según los resultados el 25% de las vacas presentaban cojera y el 75% no presentaba cojera.

Tabla 9 Presencia de cojeras con microbiología

	Microbiología		Total
	Positivas	Negativas	
Cojera	7	3	10
%	70	30	100

Rugel, 2021

En la tabla 8 se encontraron 7 vacas que tuvieron crecimiento bacteriano y 3 vacas que no tuvieron ningún crecimiento.

Tabla 10. Presencia de cojera con citología

	Citología		Total
	Positivas	Negativas	
Cojera	4	6	10
%	40	60	100

Rugel, 2021

En la tabla 9 se encontraron 4 vacas positivas en citología y 6 vacas negativas.

Tabla 11- Número de partos

Número de partos	Cantidad de vacas	Porcentaje
0	6	15
1	4	10
2	4	10
3	3	7,5
4	6	15
5	7	17,5
6	7	17,5
7	2	5
8	1	2,5
Total:	40	100

Rugel, 2021.

El 17,5% de las vacas tuvieron de 5 a 6 partos, 15% tuvo 4 y 0 partos, 10% 1 a 2 partos, el 7,5% 3 partos, el 5% tuvo 7 partos y el 2,5% tuvo un parto. Lo que indica que a mayor parto más probabilidad de desarrollar enfermedades uterinas como la endometritis subclínica.

5. Discusión

El propósito del presente trabajo fue diagnosticar la presencia de endometritis subclínica en vacas con historial de subfertilidad mediante citología y cultivo bacteriano. Con este propósito, el presente trabajo se centró en evaluar la presencia o ausencia de endometritis subclínica sobre el desempeño reproductivo a vacas que no quedan preñadas en la hacienda La Sabana.

En esta investigación las principales bacterias aisladas fueron *Staphylococcus aerus* (6/40), *Klebsiella pneumoniae* (3/40), *Escherichia coli* (3/40), *Pseudomonas aeruginosa*/ *Klebsiella pneumoniae* (4/40)

Según (Méndez, Gongora , & Gomez, 2014) indican que las bacterias podrían provenir del semen, a pesar que durante el proceso de producción se adicionan antibióticos de amplio espectro, estos no eliminan la totalidad de las bacterias, las cuales pueden aparecer en los lavados uterinos. Esta posibilidad es mayor cuando se inseminan las vacas dos veces, buscando una mayor producción de embriones, algunas de las bacterias encontrados en nuestro estudio coinciden con las aisladas en el semen del toro *Staphylococcus aerus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Staphylococcus aureus es una bacteria aerobia que produce hemólisis beta la presencia de altas concentraciones podría inmuno suprimir al animal, en un estudio realizado por (Mendez, 2008) aisló un (47,6%) en vacas donadoras y lo que se sugiere la posible transmisión a las vacas receptoras, lo que difiere con nuestro estudio se aisló (15%) pero sin tener vacas donadoras ni receptoras de embriones.

Klebsiella Spp es una bacteria que se encuentra de forma natural en el trato reproductivo y no causa problemas reproductivos, En un estudio realizado en Bogotá, Colombia por (Sánchez, y otros, Julio de 2011) se identificó a *Klebsiella spp* en un 16,66% de los casos se aisló a partir de un lavado uterino de aspecto sanguinolento con respuesta inflamatoria mediada por polimorfos, lo que difiere con lo encontrado en este estudio aunque el porcentaje de aislamiento fue bajo (7,5%) se debe tener en cuenta que el microorganismo se aisló en vacas con problemas de fertilidad y con respuesta inflamatoria mediada por polimorfos nucleados pero sin presencia de secreciones sanguinolentas.

Escherichia coli. es un bacilos Gram negativos, no esporulante, en un estudio realizado en yeguas por (Gallego , Ruiz , & Ruiz , 2021) encontraron un (21,11%) en animales con infecciones iatrogénicas, lavados uterinos, inseminación, infusiones uterinas lo que concuerda con las características de nuestro animales analizados.

Para diagnosticar la presencia o ausencia de endometritis se utilizó la técnica de Cytobrush y es un método validado y empleado en muchos trabajos científicos para diagnosticar la endometritis.

Los resultados de citología demostraron que el 30% de las vacas fueron positivas, lo cual no concuerda con lo encontrado por Eugenio y colaboradores quienes encontraron el 76% de casos positivos a endometritis. (Eugenio, 2017) En nuestro estudio se encontraron 6 vacas en categoría alta y ausencia de secreciones uterinas, lo cual discrepa con lo encontrado por (Kasimanickam, y otros, 2004) Quienes obtuvieron como resultados 25 vacas con contaje elevado de polimorfos nucleados y con secreciones uterinas lo que les llevó a concluir que son vacas con endometritis. Un estudio de citología

realizado por (Bogado & Opsomer , 2016), en el Colegio de Veterinaria de Ontario, Departamento de Medicina de Población, Canadá se encontraron el 27,8% de vacas positivas a citología con más de 60 días pos parto similar a nuestro estudios ya que se obtuvo el 30% de vacas positivas en citologías y con más de 150 días pos partos.

6. Conclusiones

En vacas con problemas de subfertilidad se obtuvo crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en las muestras de endometrio.

La endometritis causada por *Staphylococcus aureus* fue la que estimulo una mayor respuesta celular que la infecciones por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* contradictoriamente a los aislamientos asociados no estimularon la proliferación de polimorfos nucleados

Los factores predisponentes no se pudo demostrar la relación con endometritis bacteriana.

7. Recomendaciones

Se debe tener en cuenta la bioseguridad al momento del ordeño la inseminación y la alimentación para poder evitar la proliferación de las bacterias patógenas, que puedan causar bajo rendimiento reproductivo y afectar la economía de la hacienda.

También se recomienda realizar el estudio en dos épocas climáticas diferentes al año, con el fin de determinar si la humedad favorece la endometritis subclínica en las vacas lechera a nivel de Costa.

Mejorar el manejo clínico del puerperio

8. Bibliografías

- Agrocalidad* . (2016). Obtenido de https://www.agrocalidad.gob.ec/?page_id=415
- Alvear, O. (2014). *El empleo de la ozonoterapia como alternativa de tratamiento en vacas con endometritis durante el puerperio*. Cuenca - Ecuador : Universidad de Cuenca .
- Arévalo , I., Ruiz , L., Chagray , N., & Sandoval , R. (2021). *Asociación entre la presentación de endometritis y los niveles de calcio sérico en vacas lecheras de crianza intensiva* . Lima, Perú: Rev. investig. vet. Perú .
- Barajas, J., Hernández, J., García, A., Martínez, E., Orlando, N., Bedolla, M., & Luzbel, R. (2018). *Endometritis subclínica y tasa de gestación en vacas lecheras en México*. México.: Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.22319/rmcp.v9i1.4324>
- Barrero, L. (2016). *Microbiología Clínica*. España: Síntesis.
- Bavera, G., & Peñafort, H. (2005). *Evaluación exterior de los signos de fertilidad y subfertilidad de un rodeo*. Argentina: Sitio Argentino de producción animal.
- Bermejo, C. (s.f.). *Equisan.com*. Obtenido de Equisan.com: <http://www.equisan.com>
- Bogado , O., & Opsomer , G. (2016). *DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO DE LAS ENFERMEDADES DEL POSTPARTO UTERINO EN VACAS LECHERAS: UNA REVISIÓN CON ÉNFASIS EN LA ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA*. Canadá: SCIELO.
- Boscán, J., Zambrano , S., Nava, J., & Portillo, G. (2010). *erfil de la flora bacteriana vaginal. Un riesgo potencial para la reproducción de vacas criollo limonero*. Maracaibo, Venezuela.
- Calcina, J. (2018). *PREVALENCIA DE LA ENDOMETRITIS SUBCLINICA EN VACAS POST PARTO DEL CIP CHUQUIBAMBILLA*. PUNO – PERÚ: UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO.
- Caraviello, D., Weigel, K., Craven, M., Gianola, D., Nordlund, K., & Wiltbank, M. (2016). *Análisis del rendimiento reproductivo de vacas lactantes en grandes granjas lecheras utilizando algoritmos de aprendizaje automático*. Wisconsin: ELSEVIER.
- Carrillo, F. (2011). *Mejoramiento de la eficiencia reproductiva en problemas bacteriológicos durante el puerperio en vacas lecheras*. Torreon-Coahuila: Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro.
- De, B. C., & Manspeaker, J. (1986). *Endometrial biopsy of the bovine in current therapy*. Philadelphia: Philadelphia.

- Eugenio, G. (2017). *Clasificación de hallazgos endometriales en vacas con problemas reproductivos*. Cevallos - Ecuador: Universidad Técnica de Ambato.
- Fernández, A., Silveira, E., & López, O. (2006). *Las infecciones uterinas en la hembra bovina*. Cuba: RED VET.
- Fernández, A., Silveira, E., & López, O. (2006). *Las infecciones uterinas en la hembra bovina*. Santa Clara. Cuba: Revista Electrónica de Veterinaria REDVET .
- Gallego, R., Ruiz, A., & Ruiz, J. (2021). *Frecuencia del aislamiento bacteriano y patrones de sensibilidad en yeguas criollas colombianas*. Colombia: Scielo.
- Garofolo F, J. R. (2013). *Determinación del porcentaje de PMN en la secreción uterina en el postparto en vacas lecheras de diferentes grupos genéticos*. SPERMOVA 3(1): 55-56.
- Gilbert, R. (2005). *METRITIS POSTPARTO y ENDOMETRITIS CLÍNICA EN VACAS LECHERAS*. Nueva York, EEUU: Universidad de Cornell.
- Javier, A. M. (2015). *“DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA EN VACONAS MESTIZAS VACÍAS, DE 45 DÍAS POST INSEMINACIÓN ARTIFICIAL, MEDIANTE CYTOBRUSH EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN, POSTGRADO Y CONSERVACIÓN AMAZÓNICA (CIPCA), CANTÓN CARLOS JULIO AROSEMENA TOLA, PROVINCIA DE NAPO”*. UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI, CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA.
- Kasimanickam, R., TF, D., CJ, G., KE, L., JS, W., & WH, J. (2004). *Citología endometrial y ultrasonografía para la detección de endometritis subclínica en vacas lecheras posparto*. Pub Med. doi:<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.03.001>
- Madoz, L., Plontke, J., Albarracín, D., Drillich, M., & De la Sota, R. (2014). *Determinación de los puntos de corte para el diagnóstico de endometritis subclínica en Argentina*. Argentina: Revista taurus .
- Masaquiza, J. (2015). *Diagnóstico de endometritis subclínica en vaconas mestizas vacías, de 45 días post inseminación artificial, mediante cytobrush en el centro de investigación, postgrado y conservación amazónica (cipca), cantón carlos julio arosemena tola, provincia de napo*. Latacunga – Ecuador.
- Meléndez, P., & Bartolome, J. (2017). *avances sobre nutrición y fertilidad en ganado lechero*. Mexico: Revista Mexicana de ciencias pecuarias.
- Mendez, D. (2008). *determinación de la microflora bacteriana uterina en vacas donantes de embriones*. Bogotá - Colombia: Universidad Pontificia Javeriana .
- Méndez, D., Gongora, A., & Gomez, L. (2014). *Aislamiento e identificación de la flora bacteriana uterina en vacas donantes de embriones*. Villavicencio, Meta, Colombia: Universidad de los Llanos .

- Montenegro, M. (2005). *Enfermedades uterinas en vacas lecheras*. San Marcos: Clínica de Animales mayores, Facultad de Medicina Veterinaria- Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Ochoa, R. (2020). *Prevalencia de endometritis subclínica en vacas holteins friesian mestizas en el montano alto de la provincia de Cañar*. Cañar - Ecuador: Universidad Nacional de Córdoba.
- Painemilla, V., Marro, O., Cantore, S., & Moscuza, H. (2018). *Incidencia de endometritis subclínica en vacas vacías al diagnóstico de preñez*. Tandil: Facultad de Ciencias Veterinarias UNCPBA.
- Palmer, C. (2008). *ENDOMETRITIS EN VACAS LECHERAS*. Córdoba, Argentina.: Sitio Argentino.
- Pizarro, J. (2018). *Efecto de la presentación de endometritis sobre el Efecto de la presentación de endometritis sobre el lecheras de crianza intensiva de Lima* . Lima - Peru : Universidad Nacional Mayor de San Marcos .
- Reátegui J, A. E. (2015). Polymorphonuclear neutrophils cut off for subclinical endometritis diagnostic by mean of endometrial cytology in dairy cows. *SPERMOVA* , 79-82.
- Recce, S. (2013). *UTILIZACIÓN DEL METRICHECK™ PARA EL DIAGNÓSTICO DE LAS ENDOMETRITIS EN BOVINOS LECHEROS*. Esperanza: UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL.
- Recce, S., Russi, N., Massera, A., & Signorini, M. (2014). *Identificación de Factores de Riesgos Asociados a la Presentación de Endometritis en Bovinos Lecheros*. Santa Fe Argentina: Avances en Ciencias Veterinarias.
- Rinaudo, A. (2012). *Endometritis subclínica en vacas lechera diagnostico tratamiento e incidencia productiva y reproductiva* . Casilda: UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO.
- Ruiz Asanza Lisseth, E. (2018). *LAS INFECCIONES UTERINAS. CLASIFICACIÓN, CAUSAS Y REPERCUSIÓN SOBRE LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA EN LA HEMBRA BOVINA (Bos taurus)*. tesis de grado , Universidad Tecnica de Machala , CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, EL ORO.
- Rutter , B. (2015). *Diagnostico de endometritis subclínica en vacas lecheras*. Argentina: MASKANA, 1er CONGRESO INTERNACIONAL DE PRODUCCIÓN ANIMAL ESPECIALIZADA EN BOVINOS.
- Sánchez, M., González, C., Castañeda, R., Pulido, A., Guáqueta, H., Aranda, M., & Rueda, M. (Julio de 2011). *Evaluación citológica y microbiológica de lavados uterinos en bovinos con problemas reproductivos (estudio preliminar)*. Bogotá -

Colombia: REVISTA MVZ CÓRDOBA. doi:Rev.MVZ Córdoba 16(3):2711-2720, 2011.

Sarmiento, R. A. (2016). *IDENTIFICAR LOS FACTORES QUE AFECTEN LAS LÍNEAS PRODUCTIVAS EN LA FINCA LECHERA HORIZONTE E IMPLEMENTAR EL MANEJO ZOOTÉCNICO PARA MEJORAR SU PRODUCTIVIDAD*. UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER, FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE ZOOTEENIA, Ocaña.

Sheldon, I. (2008). *Defining Postpartum Uterine Disease and the Mechanisms of Infection and Immunity in the Female Reproductive Tract in Cattle*. Biol Reprod.81(6):1025-1032.

Sheldon, M., Lewis, G., LeBlanc, S., & Gilbert, R. (2005). *Defining postpartum uterine disease in cattle*. USA: ELSEVIER. doi:doi:10.1016/j.theriogenology.2005.08.021

Umeres, M. (2018). *DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA CON ANTIBIÓTICOS FRENTE AL AGUA MARINA VÍA AORTA ABDOMINAL EN VACAS HOLSTEIN CHIMBORAZO- ECUADOR*. PUNO – PERÚ: UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO.

Vallejo, D., Chávez, C., Astaíza, J., Benavides, C., & Jurado, X. (2014). *Endometritis subclínica diagnosticada mediante cytobrush y comportamiento reproductivo en vacas del municipio de Pupiales, Colombia*. Colombia: Revista de Medicina Veterinaria.

Vanina, L. (2012). *EDOMETRITIS SUBCLÍNICA E VACAS DE TAMBO: DIAGNÓSTICO, PREVALENCIA E IMPACTO SOBRE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA*. La Plata: Universidad Nacional de La Plata. .

Villacres, V. (2016). *Diagnóstico de endometritis subclínica mediante citobrush en vacas postparto en el hato del CIPCA*. Pastaza - Ecuador: Universidad Estatal Amazónica .

9. Anexo

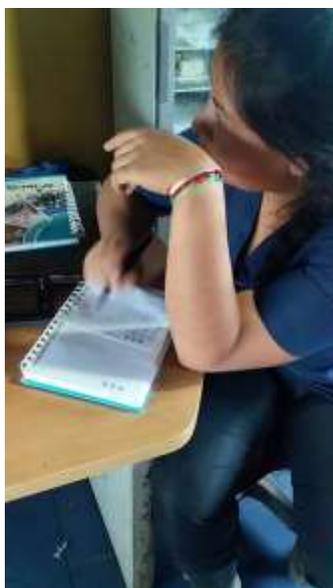
Figura 1.



Recolección de datos.

Rugel, 2021

Figura 2.



Anotación de los datos.

Rugel, 2021

Figura 3.



Preparación de los materiales de campo.

Rugel, 2021

Figura 4.



Selección de los animales.

Rugel, 2021

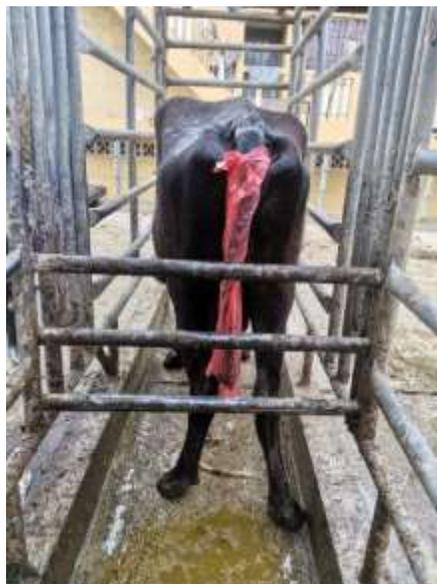
Figura 5.



Limpieza de la zona vulvar.

Rugel, 2021

Figura 6.



Vaca lista para el muestreo.

Rugel, 2021

Figura 7.

Introducción del catéter con el citocepillo y el hisopo para la recolección de las muestras.

Rugel, 2021

Figura 8.

Medios de transporte Stuart con muestras uterinas.

Rugel, 2021

Figura 9.

Materiales del laboratorio

Rugel, 2021

Figura 10.

Rotulación de las muestras con su respectiva identificación.

Rugel, 2021

Figura 111.



Pasaje de las muestras a
sus respectivos agares.

Rugel, 2021

Figura 2.



Colonias de las bacterias

Rugel, 2021

Figura 13.



Identificación de las colonias de
bacterias

Rugel, 2021