



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS MODALIDAD: PROYECTO DE DESARROLLO

Título:

“Prevalencia de endometritis subclínica mediante Cytobrush, en el hato bovino de investigación de posgrado en la región Amazónica”

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de magister en Ciencias Veterinarias

Autor:

MVZ. Joffre Javier Masaquiza Aragón

Tutor:

MSc. Armas Cajas Jorge Washington

**LATACUNGA - ECUADOR
2023**

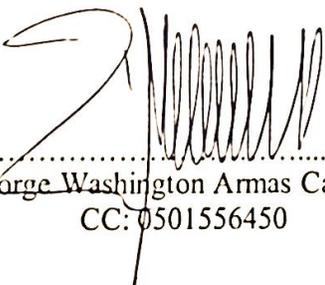
APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Titulación “Prevalencia de endometritis subclínica mediante Cytobrush, en el hato bovino de investigación de posgrado en la región Amazónica”, presentado por Joffre Javier Masaquiza Aragón, para optar por el título magíster en Ciencias Veterinarias.

CERTIFICO

Que dicho trabajo de investigación ha sido revisado en todas sus partes y se considera que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación para la valoración por parte del Tribunal de Lectores que se designe y su exposición y defensa pública.

Latacunga, 02 diciembre 2022



.....
Dr. Jorge Washington Armas Cajas. Mg.
CC: 0501556450

APROBACIÓN TRIBUNAL

El trabajo de Titulación: “Prevalencia de endometritis subclínica mediante Cytobrush, en el hato bovino de investigación de posgrado en la región Amazónica”, ha sido revisado, aprobado y autorizada su impresión y empastado, previo a la obtención del título de Magíster en Ciencias Veterinarias; el presente trabajo reúne los requisitos de fondo y forma para que el estudiante pueda presentarse a la exposición y defensa.

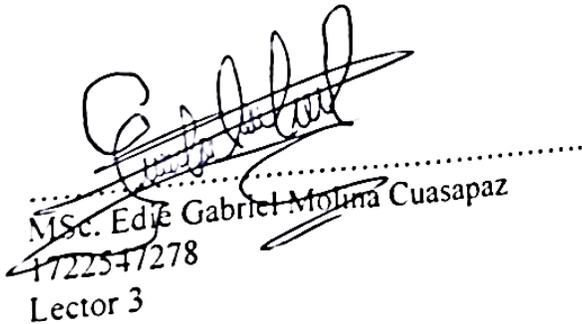
Latacunga, 25 enero 2023



MSc. Cristian Fernando Beltran Romero
0501942940
Presidente del tribunal



MSc. Cristian Neptali Arcos Alvarez
1803675634
Lector 2



MSc. Edie Gabriel Molina Cuasapaz
1722547278
Lector 3

DEDICATORIA

Dedico este trabajo primeramente a Dios, por el don de la vida y la oportunidad de obtener este triunfo junto a mis seres queridos.

A mi esposa Mayra, a mi hija Sarita y Emily, quienes han sido mi soporte y mi refugio de felicidad, dándome el impulso necesario para culminar este trabajo que ha demandado de gran sacrificio y constancia, pero que a pesar de todo ha sido una gran bendición alcanzar ésta meta para nuestras vidas.

A mis queridísimos madre y padre por sus sabios consejos, por brindarme su cariño y apoyo incondicional en los momentos más difíciles de mi vida, pero sobre todo la gran paciencia y confianza que depositaron en mí, para alcanzar esta meta.

Joffre Javier Masaquiza Aragón

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, por darme vida, salud y la sabiduría necesaria para culminar mis estudios de cuarto nivel, por la bendición de haberme puesto en mi camino una gran esposa e hijas que me llenaron de felicidad y dicha hasta los momentos más difíciles, pero que supimos levantarnos como familia y seguir adelante, para ahora obtener este gran triunfo para nuestras vidas.

A mis queridos madre y padre, por todo lo que me han dado en cada etapa de mi vida y quienes con su sabiduría en el temor a Dios supieron guiarme con sus sabios consejos de lucha, superación y perseverancia para hacer de mí la persona que hoy soy, y a toda mi familia quienes confiaron en mí, y me brindaron su apoyo.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi, a sus autoridades y a todos mis profesores por todas sus enseñanzas y conocimientos impartidos, que han sido una clave fundamental para ser un buen profesional.

Hago extensiva mi especial gratitud al Centro Latinoamericano de Estudios de las Problemáticas lecheras (CLEPL), al Dr. Pablo Marini PhD, Dr. Roberto Quinteros PhD, por todo su valioso aporte, apoyo, colaboración y paciencia no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como profesional.

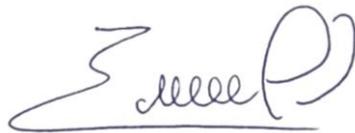
Y todas las personas que de una u otra manera colaboraron en la realización del presente trabajo.

Joffre Javier Masaquiza Aragón

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Quien suscribe, declara que asume la autoría de los contenidos y los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación.

Latacunga, 02 diciembre 2022

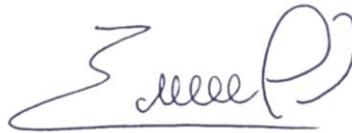
A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Joffre', with a stylized flourish at the end.

Joffre Javier Masaquiza Aragón. MVZ
1600457400

RENUNCIA DE DERECHOS

Quien suscribe, cede los derechos de autoría intelectual total y/o parcial del presente trabajo de titulación a la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Latacunga, 02 diciembre 2022

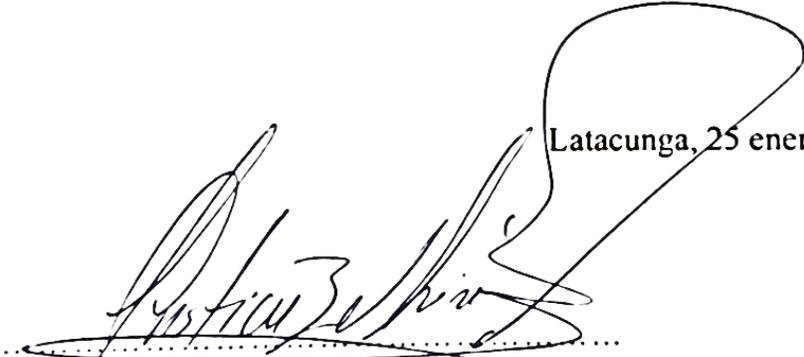
A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Joffre Masaquiza Aragón', with a stylized flourish at the end.

Joffre Javier Masaquiza Aragón. MVZ
1600457400

AVAL DEL VEEDOR

Quien suscribe, declara que el presente Trabajo de Titulación: “Prevalencia de endometritis subclínica mediante Cytobrush, en el hato bovino de investigación de posgrado en la región Amazónica”, contiene las correcciones a las observaciones realizadas por los lectores en sesión científica del tribunal.

Latacunga, 25 enero 2023



MSc. Cristian Fernando Beltrán Romero
0501942940

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
DIRECCIÓN DE POSGRADO**

MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS

Título: “Prevalencia de endometritis subclínica mediante Cytobrush, en el hato bovino de investigación de posgrado en la región Amazónica”

Autor: Masaquiza Aragón Joffre Javier

Tutor: MSc. Jorge Washington Armas Cajas

RESUMEN

Los problemas reproductivos en la Amazonia Ecuatoriana, están condicionados por varios factores, como las condiciones ambientales, la falta de energía en la dieta, el tipo de geografía irregular, la técnica de inseminación artificial que se realiza sin tener en cuenta el estado del endometrio, que influyen negativamente para no lograr una eficiente reproducción. La presente investigación tiene como objetivo determinar la prevalencia de endometritis subclínica mediante Cytobrush en el hato bovino de investigación de posgrado en la región Amazónica”. Se seleccionaron 48 vaconas, en óptimas condiciones reproductivas, y se realizó la técnica del Cytobrush, que consiste en realizar un raspado superficial del endometrio uterino con una pistola de inseminación artificial adaptada para este fin, para conocer la presencia de células inflamatorias (neutrófilos polimorfonucleares), las muestras citológicas así logradas, se observaron para su análisis en un microscopio a un aumento de 40X y 100X, contando un mínimo de 200 células totales (células epiteliales y células inflamatorias), a partir de las cuales se determinó el porcentaje de células inflamatorias, que será indicativo de la presencia de endometritis subclínica. Las muestras citológicas se realizaron periódicamente desde el año 2014 hasta el 2019. Concluyendo, que el hato bovino presenta una prevalencia de 7,813% de endometritis subclínica que afectó su eficiencia reproductiva, además considerar que la técnica del Cytobrush (citología endometrial), es una técnica sencilla, práctica y muy confiable para el diagnóstico específico de endometritis, que puede ser utilizada fácilmente en trabajos regulares de campo.

PALABRAS CLAVE: Endometritis subclínica; citología endometrial; prevalencia; endometrio; neutrófilos.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS

Title: "Prevalence of subclinical endometritis by means of Cytobrush, in the bovine herd of postgraduate research in the Amazon region"

Author: Masaquiza Aragón Joffre Javier
Tutor: MSc. Jorge Washington Armas Cajas

ABSTRACT

Reproductive problems in the Ecuadorian Amazon are conditioned by several factors, such as environmental conditions, lack of energy in the diet, the type of irregular geography, the artificial insemination technique that is performed without taking into account the state of the endometrium, that influence negatively to not achieve an efficient reproduction. The objective of this research is to determine the prevalence of subclinical endometritis using Cytobrush in the postgraduate research bovine herd in the Amazon region. 48 cows were selected, in optimal reproductive conditions, and the Cytobrush technique was performed, which consists of making a superficial scraping of the uterine endometrium with an artificial insemination gun adapted for this purpose, to determine the presence of inflammatory cells (polymorphonuclear neutrophils). , the cytological samples obtained in this way were observed for analysis under a microscope at 40X and 100X magnification, counting a minimum of 200 total cells (epithelial cells and inflammatory cells), from which the percentage of inflammatory cells was determined. , which will be indicative of the presence of subclinical endometritis. The cytological samples were carried out periodically from 2014 to 2019. Concluding, that the bovine herd presents a prevalence of 7,813% of subclinical endometritis that affected its reproductive efficiency, in addition to considering that the Cytobrush technique (endometrial cytology), is a technique simple, practical and very reliable for the specific diagnosis of endometritis, which can be easily used in regular field work.

KEYWORD: Subclinical endometritis; endometrial cytology; prevalence; endometrium; neutrophils.

Marlon Rodrigo Recalde Jumbo, con cédula de identidad número 0504313644, Licenciado/a en: Pedagogía del Idioma Inglés, con número de registro de la SENESCYT: 1010-2022-2447270; **CERTIFICO** haber revisado y aprobado la traducción al idioma inglés del resumen del trabajo de investigación con el título: “Prevalencia de endometritis subclínica mediante Cytobrush, en el hato bovino de investigación de posgrado en la región Amazónica” de: Joffre Javier Masaquiza Aragón, aspirante a magister en Ciencias Veterinarias.

Latacunga, diciembre, 02, 2022



Marlon Rodrigo Recalde Jumbo
C.I. 0504313644

Lic. Rodrigo Recalde

20 ENE 2023

ENGLISH TEACHER

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Justificación de la Investigación	1
1.2 Planteamiento del problema	2
1.3 Hipótesis	3
1.3.1. Hipótesis alternativa	3
1.3.2. Hipótesis nula	4
1.4 Objetivos de la Investigación	4
1.4.1 Objetivo general	4
1.4.2 Objetivos específicos	4
CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	5
2.1. Anatomía y fisiología del aparato reproductor femenino bovino.	5
2.1.1. Vulva	6
2.1.2. Genitales internos	6
2.1.2.1. Vagina	7
2.1.2.2. Cérvix o cuello uterino	7
2.1.2.3. Útero o matriz	7
2.1.2.4. Oviductos	8
2.1.2.5. Ovarios	8
2.1.3. Endocrinología de la reproducción	9
2.1.3.1. Ciclo estral	9
2.1.3.2. Modificaciones histológicas durante el ciclo estral	11
2.1.4. Tejido del útero	12
2.1.4.1. Endometrio	13
2.1.4.2. Miometrio	14
2.1.4.3. Perimetrio	14
2.1.5. Inmunología uterina	14
2.2. Endometritis	16

2.2.1.	Clasificación de la endometritis	16
2.2.2.	Categorización Endometrial	17
2.2.3.	Endometritis subclínica	18
2.2.4.	Cytobrush (CB)	22
2.2.4.1.	Definición	22
2.2.4.2.	Toma de muestras mediante la técnica de Cytobrush	24
2.2.4.3.	Frotis Cytobrush.....	25
2.2.4.4.	Conteo de células endometriales	26
2.2.5.	Condición corporal (CC) bovinos.....	26
CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS.....		29
3.1.	Ubicación de la investigación.....	29
3.2.	Recursos	30
3.2.1.	Recursos humanos.....	30
3.2.2.	Materiales de oficina	30
3.2.3.	Insumos	31
3.2.4.	Equipos.....	31
3.3.	Tipo de investigación.....	32
3.3.1.	Investigación descriptiva	32
3.3.2.	Investigación explicativa.....	32
3.4.	Metodología.....	33
3.4.1.	Métodos	33
3.4.2.	Técnicas.....	34
3.5.	Análisis estadístico.....	35
3.6.	Unidad de estudio	36
3.7.	Manejo del ensayo	36
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		37
4.1.	Resultados	37
4.2.	Discusión.....	44
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		46
5.1.	Conclusiones.....	46

5.2. Recomendaciones..... 46
CAPÍTULO VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 48
CAPÍTULO VII. ANEXOS 51

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ventajas y desventajas de 5 técnicas utilizadas para el diagnóstico de endometritis.....	24
Tabla 2. Escala de Lowman o sistema inglés.....	28
Tabla 3. Escala de Herd y Sprott o sistema americano.....	28
Tabla 4. Análisis estadístico general de la prevalencia de endometritis subclínica con el método de Cytobrush	37
Tabla 5. Primera toma de muestras por el método de Cytobrush.....	38
Tabla 6. Segunda toma de muestras por el método de Cytobrush.....	38
Tabla 7. Tercera toma de muestras por el método de Cytobrush.....	39
Tabla 8. Cuarta toma de muestras por el método de Cytobrush.....	40
Tabla 9. Prueba de normalidad, test de Shapiro-Wilk.....	41
Tabla 10. Test de Kruskal-Wallis	41
Tabla 11. Condición corporal general del hato bovino.....	42

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Representación del aparato reproductor de la hembra bovina.....	6
Gráfico 2. Ciclo estral bovino.....	10
Gráfico 3. Corte histológico del útero e imagen ecográfica en un corte transversal en que se puede apreciar las diferentes capas de la pared uterina.....	13
Gráfico 4. Ejemplos de descarga uterina.....	17
Gráfico 5. Endometrio uterino bovino.....	19
Gráfico 6. Pistola Cytobrush.....	25
Gráfico 7. Ubicación del ensayo	30
Gráfico 8. Microfotografía óptica. 400X. Tinción 15. Frotis obtenido por Cytobrush.....	35
Gráfico 9. Primera toma de muestras por el método de Cytobrush.....	38
Gráfico 10. Segunda toma de muestras por el método de Cytobrush.....	39
Gráfico 11. Tercera toma de muestras por el método de Cytobrush.....	39
Gráfico 12. Cuarta toma de muestras por el método de Cytobrush.....	40

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1.1 Justificación de la Investigación

Esta investigación es sumamente importante porque es única en su tipo, ya sea por la técnica de diagnóstico utilizada (cytobrush), o porque se recopilaban datos desde antes de la primera lactancia de los animales en estudio, por lo que no existen investigaciones similares; además ésta es una técnica nueva que necesita ser estudiada e investigada con mucha más profundidad. Según KASIMANICKAM y col., 2008., consideran que el Cytobrush ha demostrado ser la mejor técnica para la obtención de citologías uterinas en vacas para el diagnóstico de endometritis.

En la actualidad la endometritis subclínica en vacas es uno de los principales factores de pérdida de la explotación bovina por el alto grado de infertilidad que causa, es por eso que se realizó esta investigación.

Con la ejecución de esta investigación se obtuvo datos de la prevalencia de endometritis subclínica, antes y después que inició su ciclo reproductivo, información importante para conocer el comportamiento de esta enfermedad en estas diferentes etapas reproductivas, las cuales servirán en el ámbito de la reproducción bovina, para obtener datos confiables y específicos de la endometritis subclínica que afecta a gran parte de los hatos ganaderos y será un punto de partida para que se pueda realizar otras investigaciones en nuestro país.

Además, es un requisito previo a la obtención del título de Magister en Ciencias Veterinarias.

1.2 Planteamiento del problema

A nivel mundial la eficiencia productiva de cualquier sistema de ganadería siempre va a depender de la eficiencia reproductiva, ya que cualquiera que sea el objetivo de dicho sistema de producción (leche, carne o pie de cría), se requerirá de un evento reproductivo, el parto, por consiguiente si hubiesen problemas reproductivos tales como la endometritis subclínica, bajará la eficiencia y por ende los réditos económicos que éstos nos pudieran brindar, por lo que es un mal que aqueja en las ganaderías de todo el mundo.

El ganado bovino es una especie básica en la ganadería de nuestro País, encontrándose distribuida por todas las Provincias para el aprovechamiento de su carne, leche, cuero y estiércol, por lo que se considera de gran importancia su buen desempeño reproductivo, razón por la cual todos los que estamos vinculados a la explotación de estos animales tenemos la responsabilidad de buscar alternativas para mejorar su rendimiento reproductivo.

Durante 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 en las ganaderías 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 o vaconas produciendo pérdidas significables en las ganaderías bovinas.

En la práctica profesional se utilizan distintas técnicas con el fin de evaluar el estado de la mucosa uterina, entre las técnicas más difundidas se pueden mencionar la palpación transrectal, vaginoscopía, ultrasonografía, biopsia endometrial, y la citología endometrial (cytobrush y lavaje uterino). Algunas de ellas están más difundidas que otras, ya sea por su practicidad, disponibilidad y/o conocimiento. Todas las técnicas son útiles para el diagnóstico de endometritis clínica, puesto que evalúan sobre todo presencia de contenido mucopurulento en la luz uterina, así como sus descargas y tono de los cuernos, cuerpo y cérvix, pudiendo determinar la presencia de estos signos. Por el contrario, son muy poco sensibles para detectar endometritis subclínica no permitiendo el diagnóstico de esta patología.

En ausencia de signos clínicos de endometritis, las modificaciones del endometrio uterino pueden ser definidas como endometritis subclínicas, los signos de endometritis subclínica son la presencia de Polimorfos Neutrófilos Nucleares (PMN N) en el lumen uterino sin descargas purulentas (Sheldon, 2006).

1.3 Hipótesis

1.3.1. Hipótesis alternativa

H₁: Se diagnosticará la prevalencia de endometritis subclínica con el método de Cytobrush del 2014 al 2019 en el hato bovino de Investigación de Posgrado en la Región Amazónica.

1.3.2. Hipótesis nula

H₀: NO se diagnosticará la prevalencia de endometritis subclínica con el método de Cytobrush del 2014 al 2019 en el hato bovino de Investigación de Posgrado en la Región Amazónica.

1.4 Objetivos de la Investigación

1.4.1 Objetivo general

Determinar la prevalencia de endometritis subclínica mediante Cytobrush del 2014 al 2019 en el hato bovino de Investigación de Posgrado en la Región Amazónica.

1.4.2 Objetivos específicos

- ✓ Determinar el porcentaje de neutrófilos polimorfonucleares presentes en el endometrio, que es indicativo de endometritis, mediante la técnica de Cytobrush, del 2014 al 2019 en el hato bovino de Investigación de Posgrado en la Región Amazónica.
- ✓ Correlacionar la condición corporal con la presencia de endometritis subclínica, mediante la técnica de Cytobrush, del 2014 al 2019 en el hato bovino de Investigación de Posgrado en la Región Amazónica.

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. Anatomía y fisiología del aparato reproductor femenino bovino.

El aparato genital femenino bovino está capacitado para la producción de células reproductivas, proporcionar un lugar anatómico para el desarrollo de un óvulo fertilizado, producción de las hormonas estrógeno y progesterona que están involucradas en el control del ciclo estral y la gestación. Dos órganos esenciales para la reproducción bovina, se encuentran en la cabeza del animal: El hipotálamo, que controla varios procesos, comportamientos corporales y procesos reproductivos, se clasifica como glándula neuroendocrina ya que envía y recibe señales neuronales a través del sistema nervioso y mensajes hormonales a través del sistema endocrino. El segundo órgano, la glándula hipófisis (pituitaria), está ubicada en la base del cerebro, se divide en dos regiones diferentes: la hipófisis anterior y posterior, algunas de estas hormonas son responsables de los eventos reproductivos, mientras que otras controlan el crecimiento, desarrollo, metabolismo y el balance hídrico. El tracto reproductivo femenino tiene tres funciones fundamentales: La producción de células reproductivas (óvulos). Proporcionar un lugar anatómico para el desarrollo de óvulo fertilizado. Y la producción de las hormonas estrógeno y progesterona (hormonas esteroides femeninas). Estas hormonas esteroides, están involucradas en el control del ciclo estral y la gestación. (INTAGRI. Características Reproductivas de la Hembra Bovina., 2018)

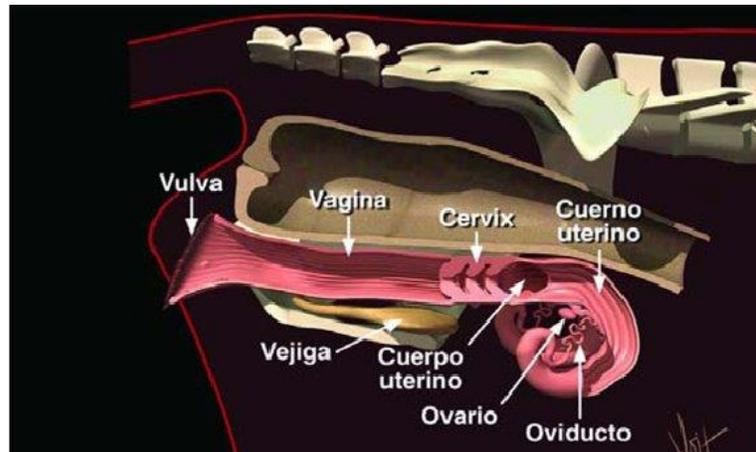


Gráfico 1. Representación del aparato reproductor de la hembra bovina

Fuente: Dejarnette y Nebel 2018

Los órganos reproductivos de la vaca a excepción de la vulva se localizan dentro de la cavidad abdominal; estos órganos, incluyen la vagina, cérvix, útero, cuernos uterinos, oviductos y ovarios.

2.1.1. 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)

2.1.2. Genitales internos

Constituidos por: vagina, cérvix, útero, oviductos y ovarios.

Los órganos genitales internos como el cérvix y el útero están sostenidos por el ligamento ancho. Este ligamento consta del mesoovario, que sostiene al ovario; el mesosálpinx, que sostiene el oviducto; y el mesometrio, que sostiene al útero. En bovinos, la inserción del ligamento ancho es dorso lateral en la región del íleon, de modo que el útero está dispuesto como los cuernos de un carnero, con la convexidad dorsal y los ovarios situados cerca de la pelvis (HAFEZ, 2015)

2.1.2.1.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, 2016).

2.1.2.2.Cérvix o cuello uterino

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, mide aproximadamente 10 a 11 cm de largo y de 2.5 a 5 cm. Se caracteriza por una pared gruesa y una luz estrecha. Presenta varias prominencias que tiene la forma de bordes transversales alternados en espiral que se conocen como anillos cervicales. Esta estructura anatómica se encuentra perfectamente cerrada excepto durante el estro, parto o traumatismos. La secreción mucosa del cuello uterino se expulsa por la vulva. (DUCHENS, 2016)

2.1.2.3.Útero o matriz

Consta de dos cuernos uterinos y un cuerpo. Tiene un tabique que separa los dos cuernos, y un cuerpo uterino prominente. Ambos lados del útero están unidos a las paredes pélvicas y abdominales por el ligamento ancho. Es el componente fundamental del aparato genital femenino que tiene como función el asentamiento e implantación

del óvulo en caso de ser fecundado, aquí posteriormente se aloja el producto permitiendo el desarrollo del feto hasta el parto, momento en que ayuda con las contracciones a la expulsión del feto. (GROSSMAN, 2016).

2.1.2.4.Oviductos

Se divide en infundíbulo, abertura abdominal en forma de embudo cerca del ovario; el ámpula, dilatada y más distal, y el istmo, la porción proximal estrecha del oviducto, que conecta a este con la luz uterina. La mucosa del oviducto está constituida por pliegues primarios, secundarios y terciarios. La del ámpula está dispuesta en pliegues elevados y ramificados cuya altura disminuye hacia el istmo y que se convierten en bordes bajos en la unión uterotubárica, donde se unen el oviducto y el cuerno uterino correspondiente. (BLANCO, 2017).

Las contracciones de los oviductos facilitan la mezcla de su contenido, ayudan a desnudar el ovulo, facilitan la fecundación al incrementar el contacto entre espermatozoides y ovulo (HAFEZ, 2015).

2.1.2.5.Ovarios

Los ovarios de la vaca miden normalmente de 3.5 a 4 cm de longitud, 2.5 cm de ancho y tienen alrededor de 1.5 cm de grueso en su porción mayor, el peso es de 15 a 20 g. En bovinos el ovario tiene forma de almendra. (GROSSMAN, 2016).

El ovario se constituye como un cuerpo ovoide en el que es posible distinguir una zona gruesa periférica, o corteza, y una zona interna o médula. La corteza esta recubierta por una lámina continua de epitelio denominado epitelio germinal que cuando alcanza el hilio ovárico se continúa con el mesotelio del repliegue peritoneal. Debajo del epitelio germinal hay una capa de tejido conectivo fibroso denominado túnica albugínea. La medula es la zona central del ovario, compuesta por tejido conectivo laxo con fibras

musculares lisas y abundante inervación y vascularización. Los vasos sanguíneos de esta zona son muy tortuosos y de gran tamaño. (GÁZQUEZ A., 2019). El ovario, a diferencia del testículo, permanece en la cavidad abdominal. Realiza tanto funciones exocrinas (liberación de óvulos) como endocrinas (esteroidegénesis). El ovario no funciona como una glándula de secreción interna, pero contiene el patrimonio genético, consistente en varios miles de folículos primordiales. (SQUIRES, 2018).

2.1.3. Endocrinología de la reproducción

El ciclo reproductivo de la vaca está coordinado principalmente por las hormonas producidas por el hipotálamo, la hipófisis y el ovario. La hormona liberadora gonadotrópica (GnRH), secretada por el hipotálamo, estimula la hipófisis anterior para secretar dos hormonas gonadotrópicas: la hormona estimulante del folículo (FSH) y la hormona luteinizante (LH). Ambas hormonas controlan la función ovárica: la FSH inicia la maduración de los folículos, y la LH induce la ovulación y la luteinización de las células granulosas y de la teca. Las hormonas principales producidas por los ovarios son el estrógeno (principalmente estradiol-17 β), y la progesterona, secretada por el cuerpo lúteo. El estrógeno desempeña funciones importantes en la manifestación del estro, y la progesterona en el mantenimiento de la gestación. Ambos regulan el ciclo reproductivo a través de una serie de mecanismos de retroalimentación que actúan sobre el hipotálamo y la hipófisis. Además de estas hormonas, las prostaglandinas, que son producidas por varios tejidos, incluido el útero, también controlan el ciclo reproductivo de la hembra bovina.

2.1.3.1. Ciclo estral

Todas las hembras pertenecientes a los mamíferos, desde el inicio de la pubertad se caracterizan por presentar ciclos estrales, 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 A., 2019).

El ciclo estral se caracteriza por tener dos fases:

- Fase folicular: durante la cual ocurren dos periodos del ciclo; el proestro y el estro.
- Fase luteal: la responsable de la presentación de los otros dos periodos en el ciclo, el metaestro y el diestro.

Durante el ciclo estral de la vaca, se dividen en:

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

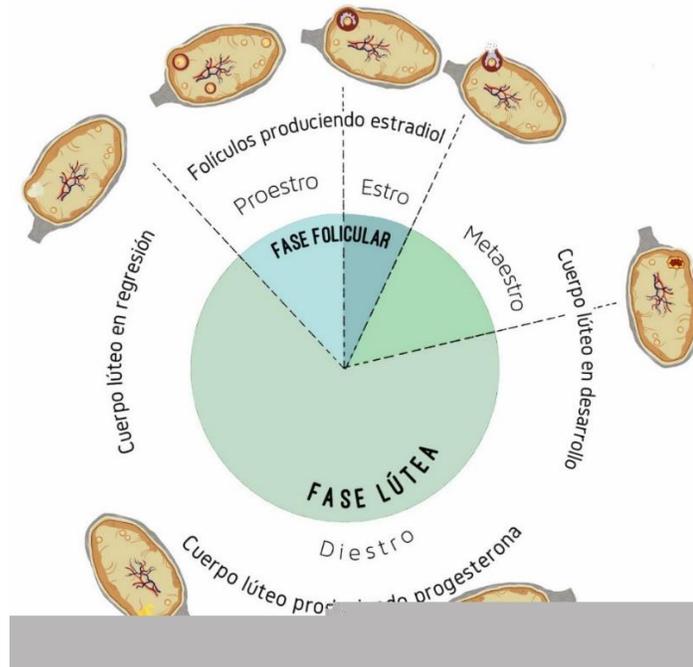


Gráfico 2. Ciclo estral bovino.

Fuente: Universidad Central de Venezuela, 2015

El estro se caracteriza por la receptividad sexual de la hembra, 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, 2016)

La sucesión de eventos que ocurren durante el ciclo estrual, 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. (QUINTELA et al, 2016)

2.1.3.2. Modificaciones histológicas durante el ciclo estral

Pueden diferenciarse tres fases:

2.1.3.2.1. 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.

2.1.3.2.2. 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.

2.1.3.2.3. 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 preproliferativa. (SALAZAR et al, 2012)

2.1.4. Tejido 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)
- Perimetrio (serosa).

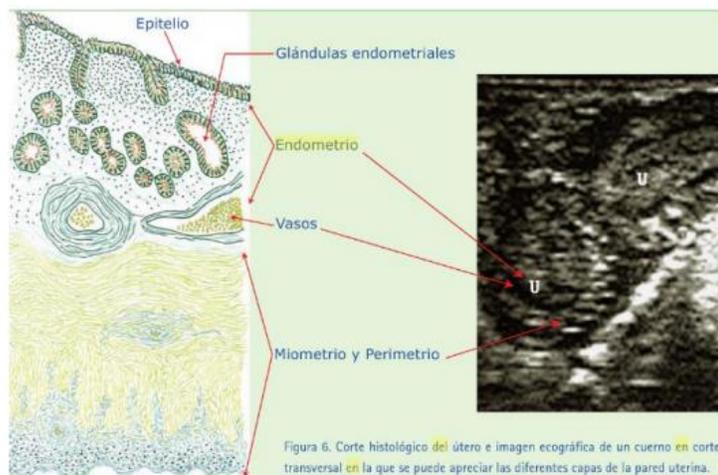


Gráfico 3. Corte histológico del útero e imagen ecográfica en un corte transversal en la que se puede apreciar las diferentes capas de la pared uterina.

Fuente: Universidad Central de Venezuela, 2015

2.1.4.1. Endometrio

Presenta dos zonas que difieren en su estructura y función:

2.1.4.1.1. 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.

2.1.4.1.2. Zona profunda o basal

Se presenta durante todo el ciclo y está constituida por un tejido conectivo laxo menos celular.

(SALAZAR et al, 2012)

2.1.4.2. 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, 2015)

2.1.4.3. Perimetrio

Está constituido por tejido conectivo laxo muy vascularizado con fibras musculares lisas que aparece recubierto por un mesotelio. (SALAZAR et al, 2012)

2.1.5. Inmunología uterina

El endometrio de la vaca posee poderosos mecanismos de defensa que lo protegen de agentes invasivos inespecíficos, comenzando por la cubierta de células epiteliales pseudoestratificadas, químicamente por el moco secretado por las glándulas endometriales e inmunológicamente por la acción de células polimorfonucleares y anticuerpos humorales (DHALIWAL, 2001). Por otro lado la respuesta hormonal con la PGF produciendo lisis del cuerpo lúteo (CL) incrementa la respuesta inflamatoria incrementando la función de los neutrófilos (LEWIS, 2004), y los estrógenos favorecen la fagocitosis bacteriana (HUSSAIN, 2009), también favorece la epitelización y vascularización endometrial, induce la formación de moco a nivel cervical y produce contractibilidad uterina; aunque esto a veces se suprime por los niveles de progesterona

elevados. La mucosa del útero al igual que otras partes del aparato genital femenino, presenta un mecanismo fisiológico de defensa contra las infecciones uterinas. Este mecanismo de defensa de los órganos de reproducción femeninos incluye factores tales como: cambios de pH, alteraciones de la composición de las secreciones genitales, cambios del nivel de anticuerpos, alteraciones en la actividad fermentativa y sobre todo, cambios en el volumen de las células del sistema retículo-endotelial, cuyo número aumenta notablemente. La interacción coordinada de estos factores se manifiesta claramente aumentada durante períodos de mayor peligro de penetración de microorganismos. (RODRIGUEZ-MARTINEZ, 2007)

Los fallos en el mecanismo de defensa uterino pueden ser un factor importante en el desarrollo de infecciones uterinas en el bovino y el fracaso de los agentes terapéuticos en eliminar dichas infecciones. La infiltración de linfocitos, la que puede ser causada por la introducción de bacterias durante la inseminación o la monta o por la presencia de los espermatozoides en el útero, constituye un mecanismo de defensa del útero. El moco cervical posee altas cantidades de leucocitos, los cuales tienen la propiedad de impedir la introducción de factores perjudiciales a la fecundación tales como bacterias o espermatozoides muertos (HAFEZ, 2012)

El mecanismo encargado de la eliminación de las bacterias del útero es la fagocitosis y muerte por los leucocitos que migran aunque la persistencia de las contracciones uterinas, la eliminación del tejido caruncular y las secreciones uterinas cooperan mediante la expulsión física de las bacterias (ARTHUR, 2002). Se valoró que alrededor de los dos días después de producirse el parto, este sistema de defensa es estimulado por los microorganismos invasores y que además la flora normal actúa como una defensa primaria del hospedador ya que el útero saludable de la vaca es capaz de controlar rápidamente la invasión bacteriana durante el puerperio, mediante la infiltración leucocitaria, la hiperemia y la relajación del cuello uterino (BRITO, 2012)

2.2. Endometritis

Es un término general que se usa para designar a las infecciones uterinas 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. Histológicamente la endometritis se caracteriza por rotura del epitelio superficial, infiltración con células inflamatorias, congestión vascular, edema del estroma y por varios grados de acumulación de linfocitos y células plasmáticas en la capa superficial. (LEBLANC et al, 2012)

MARTÍNEZ, *et al.*, 2006 menciona, que la endometritis subclínica se encuentra entre las causas que pueden llevar a las vacas a fracasar en la gestación y repetir celos, siendo difícil el diagnóstico ya que los signos clínicos suelen pasar desapercibidos. No es fácil detectarla por el examen rectal y el estudio bacteriológico del mucus uterino no refleja el estado del endometrio; sin embargo, los análisis de las biopsias endometriales y la microbiología cuidadosa del útero pueden colaborar en el diagnóstico

2.2.1. Clasificación de la endometritis

2.2.1.1. 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.

2.2.1.2. Subclínica

Se caracteriza porque no tienen descarga uterina, sin embargo, la enfermedad provoca daños severos para el rendimiento reproductivo de la vaca. (SHELDON I.M., 2004)

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 I.M., 2004)

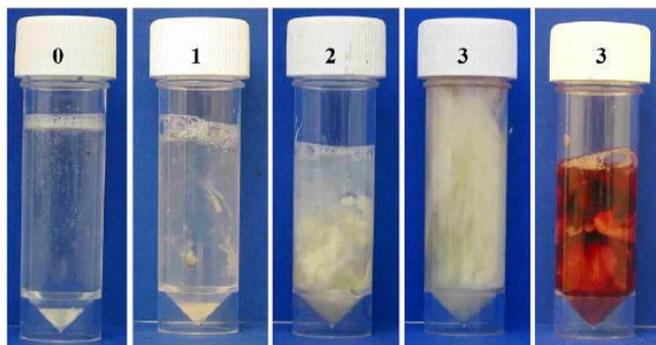


Gráfico 4. Ejemplos de descarga uterina. Sin endometritis = 0-2 y endometritis = 3

Fuente: williams et al., 2007

2.2.2. Categorización Endometrial

Propuesta por Kenney y Doig (1986) citado por (Cantero, 2003) plantean una categorización: I, IIA, IIB y III que engloban los dos aspectos importantes como son la fibrosis y la inflamación dentro del tejido endometrial.

2.2.2.1. Categoría I

Corresponde a un endometrio que no presenta ningún tipo de alteración patológica como fibrosis e inflamación, lo que indica que es un endometrio sano.

2.2.2.2. Categoría IIA

Esta categoría engloba a los hallazgos inflamatorios, fibrocitos o cambios glandulares más relevantes. Existe infiltración de células inflamatorias difusas en el estrato compacto que puede ser ligera o moderada, o a su vez puede ser focos dispersos tanto

en el epitelio luminal, estrato compacto o en el estrato esponjoso. Los cambios fibrocitos se pueden clasificar en dependencia del compromiso de las ramas glandulares individuales y el grado de severidad (comprometiendo de 1-3 capas) o la presencia de nidos fibrocitos por cada cuadro de campo óptico. Pueden aparecer lagunas linfáticas pero si se le aplica un tratamiento y desaparecen, ya no se considera como categoría tipo IIA sino que pasa a ser categoría I.

2.2.2.3.Categoría IIB

Son focos inflamatorios diseminados, difusos moderados o severos que se localizan en el epitelio luminal, estrato compacto y esponjoso. La fibrosis incluye ramas individuales en forma disemina y uniforme (comprometiendo de 4-10 capas) por campo óptico lineal. Se puede observar en esta categoría dilataciones quísticas y atróficas pero que no son iguales.

2.2.2.4.Categoría III

Es más para una inflamación severa, difusa y diseminada que implica el estrato compacto, esponjoso tanto perivascular como periglandular. Además hay fibrosis diseminada de las ramas glandulares que comprometen más de 10 capas, teniendo más de cinco nidos y lagunas linfáticas por campo óptico lineal.

2.2.3. 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 subepitelial 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. Algunos animales con endometritis pueden presentar un exudado purulento. 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. (REBHUN, 2009).

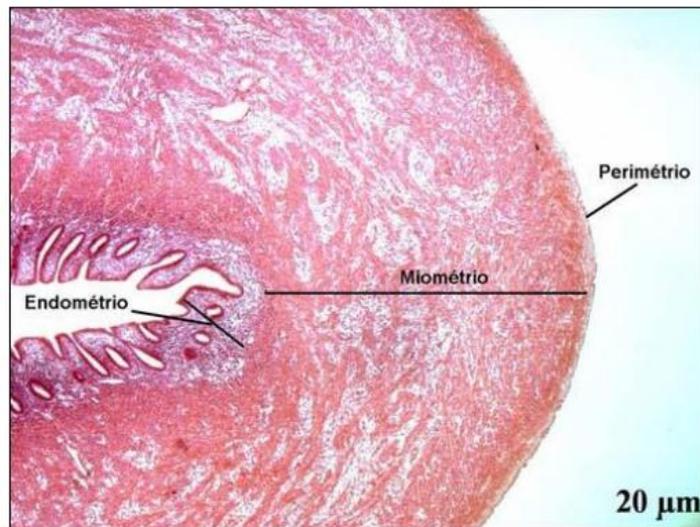


Gráfico 5. Endometrio uterino bovino.

Fuente: Williams et al., 2007

2.2.3.1. 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, 2012)

Existen varios géneros de bacterias causantes de esta infección y pueden estar solas o en combinación, entre algunas están la *Archanobactetiun pyogenes* y *Escherichia coli* que usualmente actúan ambas. En otras ocasiones el *A. pyogenes* también se encuentra

asociado a gérmenes anaerobios como *Fusobacterium necrophorum* y *Bacteroides spp.* (SEALS, 2002).

2.2.3.2.Patogenia.

FOLDI, 2006, menciona que después del parto el útero de las vacas sufre una contaminación bacteriana en un 90% de los casos. 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. 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).

2.2.3.3.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 postparto. (FOLDI, 2006)

2.2.3.4.Vías de transmisión:

- **Vía ascendente.** Esta vía de infección es más común en las fases tempranas de la gestación. Los microorganismos pueden entrar por la vagina, desde donde ascienden hacia el útero o pueden ser depositados directamente en el útero

durante la cópula o la inseminación artificial. En hallazgos bacteriológicos y patológicos en novillas clínicamente diagnosticadas como infértiles, atribuyó el origen de la salpingitis a la extensión directa de la endometritis a través del cérvix. En la inseminación artificial el semen es depositado en el útero, por lo tanto, no es expuesto a los efectos bactericidas de las secreciones del cuello uterino y de la vagina durante el estro. (CATENA M., 2006)

- **Vía hematológica.** Adquiere mayor importancia hacia el final de la gestación. El microorganismo infectante puede entrar al organismo materno a través del aparato digestivo (*Brucella abortus*, *Salmonella*, *Leptospira*, *Listeria*), o de la mucosa nasal o conjuntival (rinotraqueitis infecciosa bovina, leptospirosis, parainfluenza, diarrea viral bovina); en todo caso siempre existe una bacteria o viremia materna antes de que se produzca la invasión del útero, desde el cual el microorganismo infectante puede invadir la placenta y luego pasar al feto. Las cavidades cerradas como en las piómetras proporcionan un medio adecuado para el crecimiento bacteriano; cuando esto sucede el origen de los microorganismos infectantes es probablemente hematológico. (CATENA M., 2006)
- **Vía descendente.** Es la ruta más rara y consiste en el descenso de una infección desde los oviductos hacia el útero, puede ocurrir en casos de peritonitis. (CATENA M., 2006)

2.2.3.5. 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, 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. (DRILLICH M, 2006)

2.2.3.6. Diagnóstico.

Las endometritis pueden ser diagnosticadas cuando no existen flujos uterinos a través de la vulva, ni manifestación sistémica; mediante la palpación rectal, la vaginoscopia o la introducción de la mano enguantada en la vagina analizando la consistencia, el color y el olor de la secreción; como técnicas rápidas y de fácil uso. 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 >5 % de células polimorfonucleares (PMN, particularmente neutrófilos). (PREVALENCIA DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA ANTES Y CUATRO HORAS DESPUÉS DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL EN VAQUILLONAS, 2012)

2.2.4. Cytobrush (CB)

La citología endometrial es una práctica que recientemente se ha comenzado a utilizar para la evaluación de la salud uterina en bovinos. Se caracteriza por ser rápido, específico, sensible y económico, lo que la hace una herramienta valiosa para la investigación sobre el rol y la importancia de la endometritis. (KASIMANICKAM, y otros, 2007)

2.2.4.1. 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, 2005).

La endometritis subclínica puede ser diagnosticada por medio de citología endometrial, en la cual se mide la proporción de neutrófilos presentes en una muestra recogida por el método de lavado del lumen uterino, o el uso de un Cytobrush. (VALLEJO D., 2014)

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. (CAMPERO, 2008)

La técnica de CB permite lograr una muestra rápida y con morfología celular preservada para el diagnóstico de inflamación subclínica del endometrio. En la evaluación de las muestras se determina el porcentaje de PMN sobre células totales. Este porcentaje es indicativo de la presencia o no de inflamación subclínica en el endometrio, y se encuentra correlacionado negativamente con los días en lactancia del animal, por lo tanto hay una disminución en el número de PMN a medida que se aproxima la completa reparación histológica del útero. (DOHOO, 2009)

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*.

- 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 (cytobrush), 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).

Tabla 1. Ventajas y desventajas de 5 técnicas utilizadas para el diagnóstico de endometritis

Técnica	Facilidad de uso	Tiempo al resultado	Sensibilidad relativa	Especificidad relativa
Palpación rectal	++++	++++	+	+++
Vaginoscopia	+++	++++	++	+++
Ultrasonografía (fluido intrauterino)	+++	++++	++	++++
Citología (Lavado)	+	+	+++	++++
Citología (Cytobrush)	++	++	+++	++++

Fuente: (COLIN, 2008)

2.2.4.2. Toma de muestras mediante la técnica de Cytobrush

Se realiza una palpación transrectal de los órganos genitales internos (ovarios, cuernos, cuerpo y cuello del útero) de cada una de las vaconas, utilizando el brazo izquierdo enguantado y lubricado con gel ginecológico. Al mismo tiempo, dirigido mediante el brazo derecho, se introduce 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 de inseminación artificial de acero inoxidable, con una rosca especialmente diseñada para este fin. Para proteger la pistola de la contaminación vaginal, se utiliza como cubierta una vaina descartable y un chemis, para introducirla, pasando a través del cérvix, en la base del cuerno de mayor tamaño, en el caso de notar diferencias entre ambos, o en uno de los cuernos al azar. En este sitio, presionando el mandril, se expone el cepillo de la vaina y se lo giró una vuelta completa (360°) en sentido de las agujas del reloj rozando las cerdas suavemente la mucosa uterina y colectando así la muestra necesaria. Seguidamente, se retrae el cepillo dentro de la vaina y se retiró del útero y vagina la pistola de inseminación artificial adaptada. (MAURINO A, 2012)



Gráfico 6. Pistola Cytobrush

Fuente: Directa. Joffre Masaquiza, 2015

2.2.4.3. Frotis Cytobrush

La pistola de Cytobrush, una vez fuera del animal, se descarta la vaina, y se expone nuevamente el cepillo para hacerla rodar suavemente sobre un portaobjetos limpio, y debidamente rotulado con el número de arete correspondiente al animal y a la fecha de toma de las muestras. Inmediatamente los frotis deben ser resguardados del polvo, para trasladarlos y almacenados en cajas transportadoras, hasta el laboratorio para colorearlos utilizando una tinción panóptica comercial (Tinción 15, Biopur). (MAURINO A, 2012)

2.2.4.4. Conteo de células endometriales

Las preparaciones citológicas así logradas, se observan para su análisis en un Microscopio Biológico Digital Motic a un aumento de 40X y 100X, contando un mínimo de 200 células totales (células epiteliales y células inflamatorias), a partir de las cuales se determinó la proporción de células inflamatorias (polimorfonucleares neutrófilos). (MAURINO A, 2012)

Luego de obtener el % PMN N, se procede a clasificar a los animales como positivas a endometritis subclínicas (ES) siguiendo el criterio de los trabajos publicados por Rinaudo *et al.*, 2012., que consideran como positivos a endometritis subclínica a todos los animales cuyos frotis posean un % PMN N ≥ 5 .

2.2.5. Condición corporal (CC) bovinos

La alimentación y la condición corporal de la hembra son dos cuestiones que se deben analizar en forma conjunta con el fin de eficientizar la utilización del forraje y mejorar los índices reproductivos del rodeo (Moralejo, 2004). Esto es así pues con la CC se considera al tejido adiposo no solo como tejido de reserva almacenada, sino también como un tejido glandular capaz de producir una hormona, la leptina. La leptina, al actuar como hormona integradora de la homeostasis energética del organismo, su concentración plasmática está fuertemente correlacionada con el resto de las hormonas involucradas y con el estado energético del animal. La leptina actuaría en el hipotálamo, en regiones relacionadas con la regulación del peso pero también en las zonas de regulación de la liberación de las neurohormonas que controlan la secreción de hormonas de la hipófisis anterior, como la hormona luteinizante (LH) y la hormona del crecimiento (GH) (Rondán Cortes, 2011).

Por otro lado (desde el aspecto reproductivo), existe un neurotransmisor llamado neuropéptido Y (NPY) que se produce en el núcleo arcuato hipotalámico. El NPY

aumenta la ingesta y disminuye la termogénesis. El principal mecanismo por el que la leptina regula el apetito es, por lo tanto, inhibiendo la síntesis y secreción de NPY. En rumiantes, el neuropéptido Y tiene efectos inhibitorios en la liberación de gonadotrofinas. El neuropéptido Y es el mediador primario de la acción de la leptina en el hipotálamo regulando la secreción de GnRH ya que mediante la inhibición del NPY por parte de la leptina se produce la secreción de GnRH especialmente de LH. Por lo tanto el NPY es un inhibidor/regulador de la GnRH, mientras que la leptina inhibe el NPY. Cuando la CC baja, disminuye la concentración de adipocitos disminuyendo con ello la producción de leptina, lo que permite que se incremente el NPY causando un bloqueo de la GnRH (Cobos Villavicencio, 2011).

Ahora, puede definirse el estado corporal (E.C.), estado nutricional (E.N.) o condición corporal (CC), como la cantidad de energía metabolizable almacenada en forma de tejido graso y muscular en un animal vivo. En consecuencia, permite conocer cuál es la cobertura grasa de un animal, la que se relaciona con la reserva energética que puede ser usada en un momento determinado para mantenimiento, producción y/o reproducción. La calificación de la CC puede ser evaluada en cualquier momento del ciclo productivo. Es una herramienta práctica y repetible que permite valorar el porcentaje de tejido adiposo subcutáneo (reservas corporales con que la vaca cubrirá sus requerimientos) presente en ciertas zonas del cuerpo (lomo, región lumbar, caderas y encoladura). Es un método económico, repetible, no invasivo, independiente del peso y tamaño del animal y preciso para evaluar el estado de las reservas energéticas dadas por la cobertura grasa del animal. No requiere el uso de balanza ya que el peso no tiene buena correlación con las reservas corporales. Con esta metodología, no se tiene en cuenta el tamaño, la raza del animal, la preñez y el contenido del aparato digestivo. Es un método de análisis subjetivo. La evaluación será significativa si las apreciaciones no difieren de $\frac{1}{4}$ a hasta medio punto dentro de la misma escala. Usando a la ultrasonografía (técnica objetiva de medición), se ha encontrado que hay una correlación alta entre la medida obtenida con el ecógrafo y el valor dado por el técnico (MONINA, et al., 2002).

La cuantificación de la CC, puede hacerse a través de dos escalas: la primera tiene una graduación que va de 0 a 5 (escala de Lowman o sistema inglés) (Tabla 2) y la segunda va de 1 a 9 (escala de Herd y Sprott o sistema americano) (Tabla 3). La primera puede ser usada con medios puntos intermedios, por lo que permite primero trabajar con números enteros y una vez que están bien definidos, se pueden utilizar los medios puntos para lograr mayor exactitud en la determinación. Cada punto que aumenta, representan 50 – 70 Kg. La segunda, permite que por cada punto, representen 25 – 35 Kg (RONDÁN CORTES, 2011).

Tabla 2. Escala de Lowman o sistema inglés.

Rango	Estado	Estado corporal
0	Muy flaca	Muy mala
1	Flaca	Mala
2	Delgada	Regular
3	"Término medio"	Moderada
4	Gorda	Buena
5	Muy gorda	Muy buena

Fuente: CORTES, 2011

Tabla 3. Escala de Herd y Sprott o sistema americano.

Rango	Estado	Estado corporal
1 - 2	Flaca	Mala
3	Vaca límite	Regular
4 - 5	Termino medio	Moderada
6 - 7	Gorda	Buena
8 - 9	Muy gorda	Muy buena

Fuente: CORTES, 2011

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación de la investigación

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: Hato bovino de Investigación de Posgrado en la Región Amazónica, perteneciente a la Universidad Estatal Amazónica.
PRECIPITACIÓN PLUVIAL : Hasta 4000 mm por año
HUMEDAD RELATIVA : 80 %
TEMPERATURA PROMEDIO : 19 a 22 °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
HORAS LUZ : 12:00 (en promedio)
VIENTO : 3 – 9 km/h
LATITUD : -1.3
LONGITUD : -77.8833333



Gráfico 7. Ubicación del hato bovino de Investigación de Posgrado en la Región Amazónica.

Fuente: CIPCA, 2015

3.2. 15 Recursos

3.2.1. Recursos humanos

- Tesista
- Transporte
- Alimentación
- Colaboradores en la investigación

3.2.2. Materiales de oficina

- Papelería y materiales
- Computadora
- Memoria USB
- Bolígrafos
- Libreta de apuntes
- Perforadora
- Grapadora

- Anillados
- Empastados
- Internet

3.2.3. Insumos

- Overol
- Botas
- Sogas
- Nariguera
- Jeringas 5 ml
- Agujas 18 x 1 ½
- Guantes ginecológicos
- Guantes de manejo
- Gel ginecológico
- Gel desinfectante
- Chemis
- Catéter inseminación artificial
- Brochas (para cytobrush)
- Tinción 15
- Porta objetos
- Pistola para cytobrush

3.2.4. Equipos

- Computadora
- Cámara de fotos
- Microscopio
- Ecógrafo (Ibex Pro, transductor lineal de 5.0 MHz)

3.3. Tipo de investigación

Para el desarrollo de la presente investigación se utilizó el tipo descriptivo y explicativo.

3.3.1. Investigación descriptiva

El objetivo de la investigación descriptiva consiste en llegar a conocer las situaciones, costumbres y actitudes predominantes a través de la descripción exacta de las actividades, objetos, y procesos, en este caso conocer la prevalencia de endometritis subclínica, por el método de Cytobrush. Su meta no se limita a la recolección de datos, sino a la predicción e identificación de las relaciones que existen entre dos o más variables. 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).

Se anexó la información sobre el grado de inflamación, la presencia y porcentaje de Polimorfonucleares neutrófilos y su prevalencia, describiendo los resultados investigados durante el desarrollo de la presente investigación, el mismo que por sus condiciones y especificidad se efectuó en el lugar de los hechos.

3.3.2. 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)

3.4. Metodología

Observacional, debido a que únicamente se observó el fenómeno como tal, sin ser manipulados o provocados intencionalmente por el investigador.

3.4.1. Métodos

Para la presente investigación se utilizó el método inductivo y deductivo.

3.4.1.1. Inductivo

Se utilizó el método inductivo o inductivismo porque se obtuvo conclusiones generales a partir de las premisas particulares. Se trata del método científico más usual, que se caracteriza por cuatro etapas básicas: la observación y el registro de todos los hechos; el análisis y la clasificación de los hechos; la derivación inductiva de una generalización a partir de los hechos; y la contrastación. Esto supone que, tras una primera etapa de observación, análisis y clasificación de los hechos, se deriva una hipótesis que soluciona el problema planteado. (SOLIS, 2007)

3.4.1.2. Deductivo

El método deductivo es un método científico que considera que la conclusión está implícita en las premisas; ósea, que la conclusión que deriva de acuerdo a los resultados del grado de inflamación, el número, porcentaje de PMN n y la prevalencia de endometritis subclínica, están en dependencia de éstos. Por lo tanto, supone que las conclusiones siguen necesariamente a las premisas: si el razonamiento deductivo es válido y las premisas son verdaderas, la conclusión sólo puede ser verdadera. (ROBAYO, 2004).

3.4.2. Técnicas

Observación y la técnica del Cytobrush (citología endometrial).

3.4.2.1. Técnica de Cytobrush

Se realizó 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 de inseminación artificial de acero inoxidable, al que se le realizó previamente una rosca especialmente diseñada para este fin. Para proteger la pistola de la contaminación vaginal, fué cubierta con una vaina descartable y chemis, para introducirla, 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 expulsó el cepillo de la vaina y se lo hizo girar una vuelta completa (360°) en el mismo en sentido de las agujas del reloj rozando las cerdas suavemente la mucosa uterina (endometrio) y colectando así la muestra necesaria. Seguidamente, se retrae el cepillo dentro de la vaina y se retiró del útero y vagina la pistola de inseminación artificial.

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

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 200 células totales, entre células epiteliales y células inflamatorias (neutrófilos polimorfonucleares), a partir de las cuales se determinaron la proporción de células inflamatorias. Luego de obtener el % neutrófilos polimorfonucleares (n PMN), se procedió a clasificar a las vacas como positivas a endometritis subclínicas (ES) siguiendo el criterio de los trabajos publicados por Rinaudo *et al.*, 2012., que consideran como positivos a endometritis subclínica a todos los animales cuyos frotis posean un % PMN $N \geq 5$.

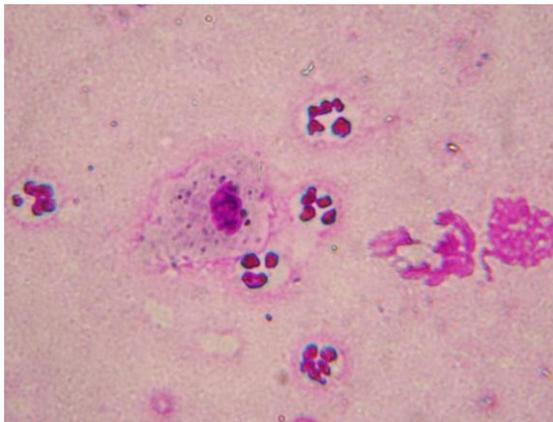


Gráfico 8. Microfotografía óptica. 400X. Tinción 15. Frotis obtenido por Cytobrush. Se observan células epiteliales del endometrio (E) y PMN N (N)

Fuente: MARINI, 2014.

3.5. Análisis estadístico

Se utilizó el Test de Shapiro-Wilk dado que cada grupo presenta menos de 50 datos. Los resultados reflejan que en todas las muestras existe un p-value $< 0,05$ por lo tanto, los datos no siguen una distribución normal, por lo que se aplicó estadística no paramétrica.

3.6.Unidad de estudio

Se trabajó con 48 semovientes bovinos, y cada una de éstas representa una unidad experimental.

3.7. Manejo del ensayo

- Se utilizaron 48 animales del hato bovino de Investigación de Posgrado en la Región Amazónica, perteneciente a la Universidad Estatal Amazónica. Bajo el sistema silvopastoril, su alimentación es a pastoreo con *Brachiaria brizantha* (marandú).
- Los animales en estudio sin ningún servicio previo (a la primera toma de muestras), en óptimas condiciones reproductivas (chequeadas con un ecógrafo Ibex Pro, transductor lineal de 5.0 MHz).
- Se realizaron tomas de muestras de citología endometrial (Cytobrush) periódicamente desde el año 2014 hasta el 2019.
- La técnica del Cytobrush, relativamente nueva en el Ecuador se realizó para conocer el estado endometrial de los animales en estudio, la presencia de células inflamatorias (neutrófilos polimorfonucleares, n PMN).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

La presente investigación determinó la prevalencia de endometritis subclínica mediante Cytobrush del 2014 al 2019 en el hato bovino de Investigación de Posgrado en la Región Amazónica, según el grado de inflamación del endometrio por la presencia de neutrófilos polimorfonucleares presentes en el endometrio, que es indicativo de endometritis, mediante la técnica de Cytobrush, además de correlacionar la condición corporal con la presencia de endometritis subclínica.

Se realizó estadística descriptiva, un análisis exploratorio de los datos, lo cual se lo realizó en el Software Estadístico RStudio.

Tabla 4. Análisis estadístico general de la prevalencia de endometritis subclínica con el método de Cytobrush.

DETALLE	N	Mínimo	Máximo	MEDIA GENERAL DE POSITIVOS A E.S.
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	
Neutrófilos Polimorfonucleares (PMN n)	192	0%	23%	7,813 %

Fuente: Directa, 2022

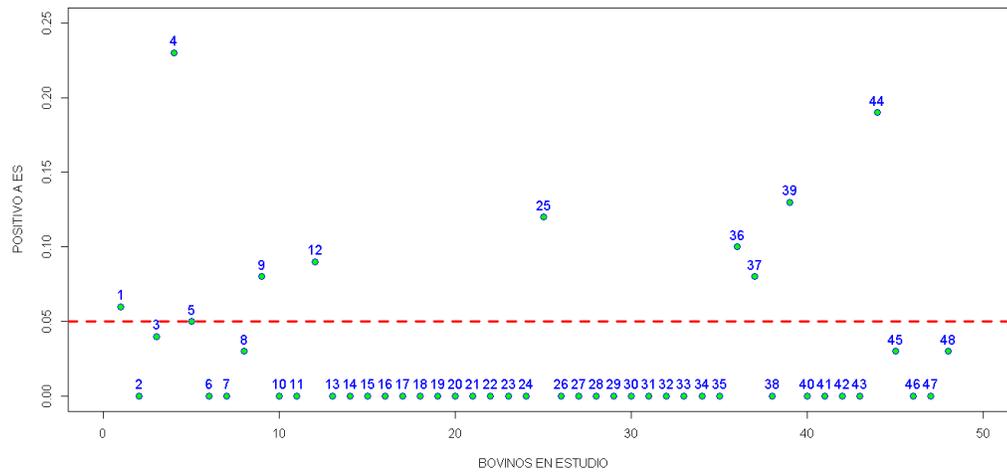
A partir de todas las tomas de muestras citológicas endometriales realizadas desde el año 2014 al 2019, la media general de positivos a endometritis subclínica es del 7,813%, considerando que existe un problema real en cuanto a la afectación de esta enfermedad subclínica en los hatos ganaderos.

Tabla 5. Primera toma de muestras por el método de Cytobrush.

ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA				
ANIMALES EN ESTUDIO	Positivos		Negativos	
	Cuantitativo	Cualitativo	Cuantitativo	Cualitativo
48	10 animales	20,83%	38 animales	79,16%

Fuente: Directa, 2022

Gráfico 9. Primera toma de muestras por el método de Cytobrush.



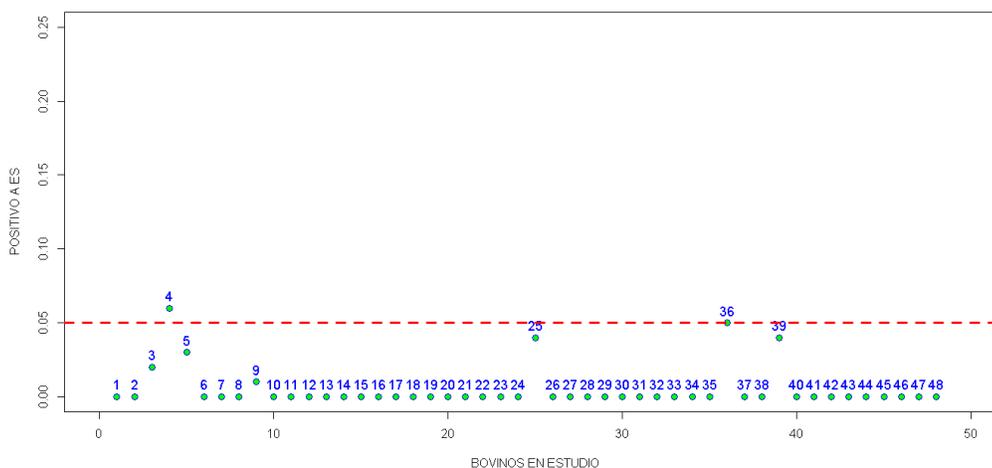
Fuente: Directa, 2022

Tabla 6. Segunda toma de muestras por el método de Cytobrush.

ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA				
ANIMALES EN ESTUDIO	Positivos		Negativos	
	Cuantitativo	Cualitativo	Cuantitativo	Cualitativo
48	2 animales	4.17%	46 animales	95.83%

Fuente: Directa, 2022

Gráfico 10. Segunda toma de muestras por el método de Cytobrush.



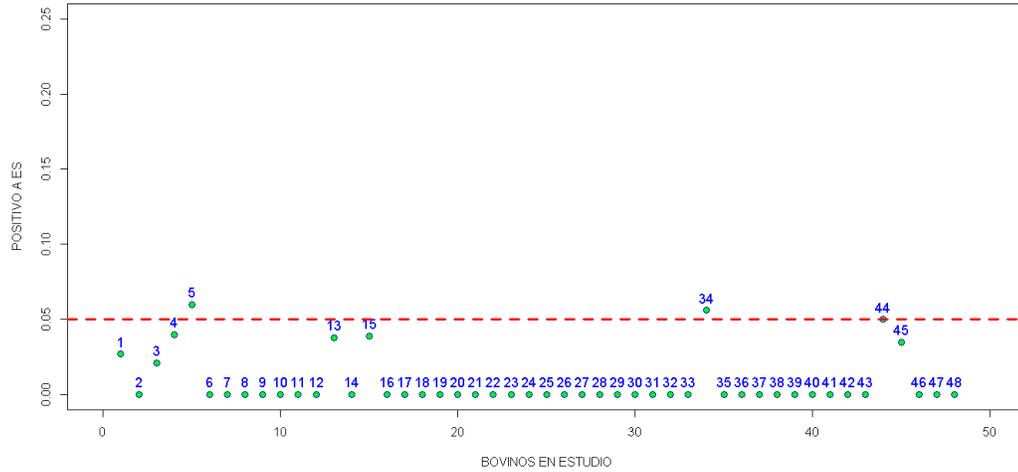
Fuente: Directa, 2022

Tabla 7. Tercera toma de muestras por el método de Cytobrush.

ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA				
ANIMALES EN ESTUDIO	Positivos		Negativos	
	Cuantitativo	Cualitativo	Cuantitativo	Cualitativo
48	3 animales	6.25%	45 animales	93.75%

Fuente: Directa, 2022

Gráfico 11. Tercera toma de muestras por el método de Cytobrush.



Fuente: Directa, 2022

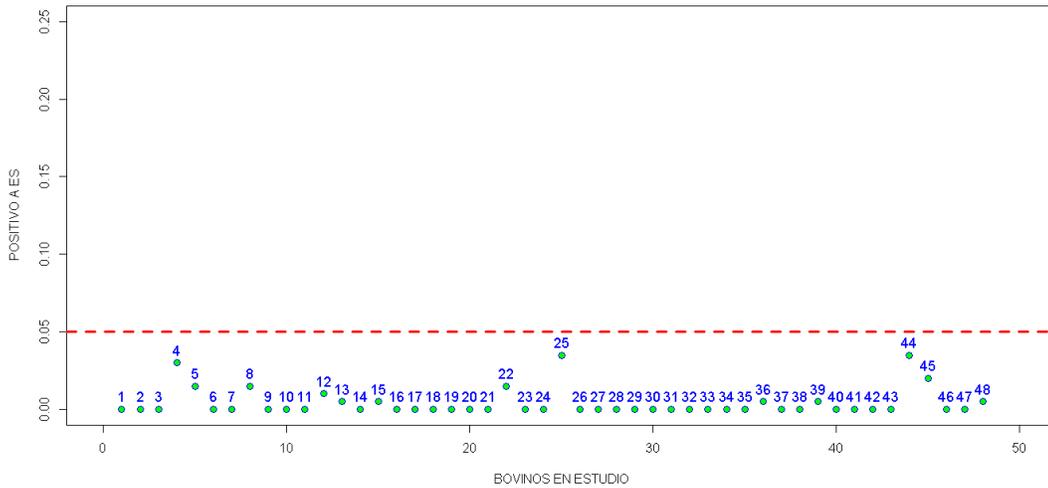
Tabla 8. Cuarta toma de muestras por el método de Cytobrush.

ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA

ANIMALES EN ESTUDIO	Positivos		Negativos	
	Cuantitativo	Cualitativo	Cuantitativo	Cualitativo
48	0 animales	0.00%	48 animales	100,00%

Fuente: Directa, 2022

Gráfico 12. Cuarta toma de muestras por el método de Cytobrush.



Fuente: Directa, 2022

Además, se aplicó estadística inferencial, ya que se debe analizar el supuesto de normalidad para poder aplicar el Test Estadístico adecuado. Se utilizó el software estadístico IBM SPSS.

Tabla 9. Prueba de normalidad, test de Shapiro-Wilk.

MUESTRAS	Shapiro-Wilk			
	Estadístico	gl	Sig. (p-value)	
NEUTRÓFILOS	Primer muestreo citológico	0,584	48	0,000
	Segundo muestreo citológico	0,425	48	0,000
	Tercer muestreo citológico	0,51	48	0,000
	Cuarto muestreo citológico	0,533	48	0,000

Fuente: Directa, 2022

Se utilizó el Test de Shapiro-Wilk dado que cada grupo presenta menos de 50 datos. Los resultados reflejan que en todas las muestras existe un p-value < 0,05 por lo tanto, los datos no siguen una distribución normal y se aplicará estadística no paramétrica.

H0: LOS DATOS SIGUEN NORMALIDAD

H1: LOS DATOS NO SIGUEN NORMALIDAD

P < 0,05 = H0 SE RECHAZA “NO SIGUEN NORMALIDAD”

Las reglas estadísticas afirman que el Test de Kruskal-Wallis es el adecuado para establecer si existe prevalencia de endometritis subclínica por la presencia de neutrófilos polimorfonucleares a lo largo de las muestras tomadas.

Tabla 10. Test de Kruskal-Wallis

Estadísticos de prueba ^{a,b}	
NEUTRÓFILOS	
Chi-cuadrado	4,668
gl	3
Sig. Asintótica	0,198

(p-value)

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Número_muestras

Fuente: Directa, 2022

El Test no paramétrico de Kruskal-Wallis a un 95% de confiabilidad establece que p-value (0,198) > 0,05 por tanto, efectivamente existe una prevalencia de neutrófilos a largo de las cuatro diferentes tomas de muestras realizadas durante el 2014 al 2019, cabe recalcar que el estado reproductivo de los animales fueron los adecuados previo al chequeo ecográfico realizado.

95% de confiabilidad

5% de significancia

H0: Existe prevalencia de endometritis subclínica.

H1: NO existe prevalencia de endometritis subclínica.

P < 0,05 H0 se rechaza

Tabla 11. Condición corporal general del hato bovino.

N°	IDENTIFICACIÓN	CONDICION CORPORAL (2014 AL 2019)				PROMEDIO
		PRIMERA	SEGUNDA	TERCERA	CUARTA	
1	6378	3,10	2,50	3,00	2,5	2,87
2	6511	3,00	2,50	3,00	2,5	2,83
3	6740	3,20	2,50	3,00	2,5	2,90
4	5846	3,00	2,50	2,70	2,5	2,73
5	6753	2,80	2,30	3,20	2,5	2,77
6	6745	2,70	2,30	3,00	2,4	2,67
7	6727	3,20	2,50	2,80	2,5	2,83
8	6724	3,10	2,50	2,50	2,5	2,70
9	6743	3,30	2,50	2,20	2,5	2,67
10	6419	3,00	2,50	2,30	2,3	2,60
11	6417	3,00	2,30	2,50	2,5	2,60
12	6514	3,20	2,50	2,80	2,5	2,83

13	6251	3,50	2,70	3,00	2,5	3,07
14	6512	3,00	2,50	2,70	2,5	2,73
15	5770	3,20	2,50	2,70	2,5	2,80
16	6505	3,00	2,30	3,00	2,5	2,77
17	6272	2,80	2,30	2,20	2,3	2,43
18	5760	2,70	2,30	3,80	2,5	2,93
19	6513	3,30	2,50	2,00	2,5	2,60
20	5764	3,50	2,70	3,00	2,5	3,07
21	6698	3,20	2,50	2,50	2,5	2,73
22	5767	3,00	2,50	3,00	2,5	2,83
23	6688	3,00	2,30	2,20	2,5	2,50
24	6513	3,20	2,50	2,20	2,5	2,63
25	6263	3,30	2,50	3,00	2,5	2,93
26	5834	3,10	2,50	3,00	2,5	2,87
27	6715	3,50	2,70	2,00	2,5	2,73
28	6383	3,00	2,30	2,70	2,5	2,67
29	6273	2,70	2,00	2,00	2,5	2,23
30	6256	2,90	2,50	2,50	2,5	2,63
31	6720	2,70	2,00	2,80	2,5	2,50
32	6424	3,40	2,50	3,00	2,5	2,97
33	6431	3,20	2,50	2,30	2,5	2,67
34	6395	3,00	2,30	3,00	2,5	2,77
35	5845	3,50	2,70	3,00	2,5	2,93
36	6412	2,90	2,30	3,00	2,5	2,73
37	6275	2,80	2,70	2,80	2,5	2,77
38	6504	2,70	2,50	2,70	2,5	2,63
39	6376	3,30	2,50	3,00	2,5	2,93
40	6766	3,50	2,30	3,00	2,5	2,93
41	6402	3,20	2,50	2,80	2,50	2,75
42	6260	3,00	2,50	3,00	2,50	2,75
43	6391	3,00	2,50	2,70	2,30	2,63
44	6385	3,20	2,70	2,50	2,50	2,73
45	6270	3,00	2,30	2,70	2,50	2,63
46	5772	3,20	2,00	2,80	3,00	2,75
47	6398	3,00	2,50	2,80	3,20	2,88
48	6739	2,80	2,00	3,20	3,00	2,75
		3,08	2,43	2,74	2,67	2,73

Fuente: Directa, 2022.

Tabla 12. Correlación de la condición corporal y la presencia de endometritis subclínica.

	POSITIVOS ES (Cytobrush)	NEGATIVOS ES (Cytobrush)	CONDICION CORPORAL
PRIMERA TOMA	10	38	3,08
SGUNDA TOMA	2	46	2,43
TERCERA TOMA	3	45	2,74
CUARTA TOMA	0	48	2,67

Fuente: Directa, 2022.

De acuerdo a la toma de la condición corporal (CC) realizada en cada toma de muestras citológicas endometriales realizadas desde el año 2014 al 2019, el promedio general es de 2,73, según la Escala de Lowman o sistema inglés la condición corporal se acerca a “moderada”, considerando que los animales en estudio se encuentran dentro del requerimiento del estado corporal para que entre a reproducción, y no influyen en el estado endometrial de los animales.

4.2. Discusión

Una de las principales enfermedades uterinas que afectan la eficiencia reproductiva de los hatos ganaderos es la endometritis subclínica, según *Sheldon et al 2018*, indica que es altamente prevalente, no presenta signos clínicos aparentes y es una de las causas de ineficiencia reproductiva más importantes estudiadas en la última década.

Los hallazgos encontrados a partir de todas las tomas de muestras citológicas endometriales realizadas desde el año 2014 al 2019, mínimo estadístico el 0% y el máximo estadístico el 23%, encontrando un promedio de positivos a endometritis subclínica del 7,813%, y considerando los trabajos realizados por *Rinaudo et al., 2012*, que fundamentan como positivo a endometritis subclínica cuando la muestra citológica

tiene un ≥ 5 % de polimorfonucleares neutrófilos; por lo tanto, se considera que existe un problema real en cuanto a la afectación de esta enfermedad al hato ganadero; según *Aragón, et al (2015)* refiere que los hallazgos obtenidos en 16 vacas del oriente que no presentaban alteración alguna, el momento de realizar la citología resultaron el 50% con endometritis, el 35% con endometritis subclínica y el 25 % normal; además, *Kasimanickam y col. (2005 b)* concluye que el esfuerzo para identificar las vacas con endometritis subclínica para su tratamiento dependerá del costo de los test de diagnóstico, el costo del tratamiento, el desempeño reproductivo del rodeo y la prevalencia de la enfermedad, por ello la importancia de realizar el Cytobrush antes de que los animales entren a reproducción para minimizar los posibles riesgos en nuestra inversión.

En estudios recientes se ha observado que la endometritis subclínica modifica las concentraciones de esteroides ováricos afectando la calidad del ovocito, y esto podría explicar en parte, el porcentaje de concepción más bajas y el mayor intervalo entre el parto y la concepción que se asocian a menudo con endometritis subclínica (*Green et al., 2011*). Está comprobado, que, bajo cualquier sistema de producción, la endometritis clínica (EC) y la endometritis subclínica (ES) afectan la eficiencia reproductiva de las hembras al aumentar los intervalos entre Parto Primer Servicio, Intervalo Parto Concepción e Intervalo Parto-Parto así como también, la cantidad de servicios necesarios por preñez (*Gilbert et al., 2005; Kasimanickam et al., 2004; Madoz et al., 2008*).

Esta investigación permitió obtener un parámetro real de diagnóstico de endometritis subclínica para el sistema de producción, manejo y región Amazónica de donde proceden los animales empleados en este estudio.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- La técnica del Cytobrush (citología endometrial), es una técnica sencilla, práctica y muy confiable para el diagnóstico específico de endometritis, que puede ser utilizada fácilmente en trabajos regulares de campo; se considera que el grado de inflamación va en función de la presencia de Polimorfonucleares neutrófilos (PMN n) sobre las células epiteliales presentes en el endometrio (células residentes normales), por lo que se concluye según los datos obtenidos que la prevalencia de endometritis subclínica fue del 7,813%, afectando así la eficiencia reproductiva del hato bovino de Investigación de Posgrado de la Región Amazónica.
- La performance de la condición corporal durante el tiempo del estudio fué semejante, se concluye que la condición corporal no influyó en el desarrollo de endometritis subclínica en los semovientes estudiados del hato bovino de Investigación de Posgrado de la Región Amazónica.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda trabajar con la técnica del Cytobrush (citología endometrial), ya que es una técnica sencilla, práctica y muy confiable para el diagnóstico de endometritis, pudiendo ser utilizada fácilmente en trabajos regulares de campo, previa a la IATF o si en el chequeo ginecológico se encontrara alguna anomalía reproductiva, o según el caso lo amerite.

- Se recomienda hacer la técnica del Cytobrush, en animales reportados con problemas reproductivos, mantener un buen manejo reproductivo de nuestros animales, para evitar complicaciones reproductivas con la aparición de células inflamatorias (PMN n)

CAPÍTULO VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRITO. 2012. Control de la Reproducción e infecciones puerperales. 2012.

CAMPERO, C., CONOSCIUTO, G., ODRIOZOLA, E., MOREIRA, A., LODEIRO, R., BOISSOU, R.G. 2008. Hallazgos clínicos bacteriológicos e histopatológicos en vacas lecheras asociados con problemas reproductivos. [En línea] 2008.

CATENA M., CABODEVILLA J. 2006. Evaluación de semen bovino congelado Taurus. [En línea] 2006.

COLIN, P. 2008. ENDOMETRITIS EN VACAS LECHERAS. [En línea] 2008.

DOHOO, I., MARTIN, W., STRYHN, H. 2009. Veterinary epidemiology research. [En línea] 2009.

DUCHENS, M. 2016. *Ciclo estral de la hembra bovina.* [Departamento fomento de la producción animal] Chile : Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, 2016.

GÁZQUEZ A., BLANCO, A. 2019. Tratado de Histología Veterinaria. España : Barcelona, 2019.

HAFEZ, E y B HAFEZ. 2015. Reproducción e inseminación artificial en animales. s.l. : McGraw Hill, 2015.

HAFEZ, E.S.E. 2012. *REPRODUCCION E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL en animales.* México : Interamericana, 2012. pag. 285.

INTAGRI. Características Reproductivas de la Hembra Bovina.

KASIMANICKAM, R y DUFFIELD, T.F., FOSTER, R.A., GARTLEY, C.J., LESLIE, K.E., WALTON, J.S., JOHNSON, W.H. 2007. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. [En línea] 2007.

KASIMANICKAM, R., DUFFIELD, T.F., FOSTER, R.A., GARTLEY, C.J., LESLIE, K.E., WALTON, J.S. 2005. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. [En línea] 2005.

LEBLANC et al, S.J., DUFFIELD, T.F., LESLIE, K.E., BATEMAN, K.G., KEEFE, G.P., WALTON, J.S., JOHNSON. 2012. The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. [En línea] 2012.

MAURINO A, . 2012. PREVALENCIA DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA ANTES Y CUATRO HORAS DESPUÉS DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL EN VAQUILLONAS. *INSTITUTO DE REPRODUCCIÓN ANIMAL CÓRDOBA (IRAC)*. [En línea] 2012.

PREVALENCIA DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA ANTES Y CUATRO HORAS DESPUÉS DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL EN VAQUILLONAS. MAURINO et al, A., BERNARDI, S., RINAUDO, A., MARINI, P.R. 2012. Universidad Nacional de Rosario, Argentina : s.n., 2012.

QUINTELA et al, DIAZ, C. HERRADÓN, P. PEÑA, M. BECERRA, J. 2016. Ecografía y reproducción en vaca. Santiago de Compostela, España : s.n., 2016.

RODRIGUEZ-MARTINEZ, . H. MCKERNA, D., WESTON, P.G., WHITMORE, H.L., GUSTAFSSON, B.K. 2007. Uterine motility in the cow during the estrus cycle. [En línea] 2007.

SALAZAR et al, A. NAVARRO, J. PALLARÉS, F. 2012. Citología e Histología Veterinaria. [En línea] Universidad de Murcia, 2012. <http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/citologia-e-histologia-veterinaria/material-de-clase-1/tema33-reproductor-femenino-ii.pdf>.

SHELDON I.M., LEWIS, S.L., LeBLANC, S., GILBERT, R.O. 2004. Defining postpartum uterine disease in cattle. 2004.

SISSON et al, S., GROSSMAN, JD., GETTY, R. 2016. Anatomía de los animales domésticos. 5ta Edición. Barcelona España : Masson S.A., 2016.

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. [En línea] 2014.

SHELDON IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*. 2006; 65: 1516-1530.

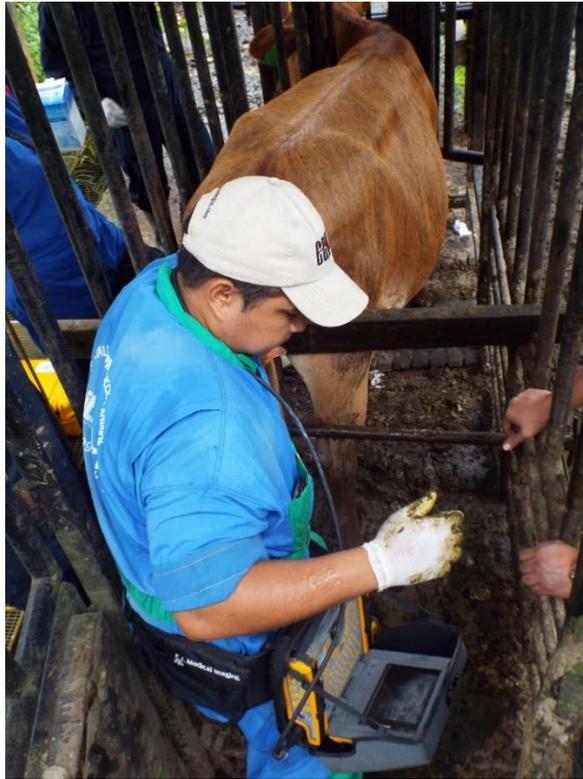
CAPÍTULO VII. ANEXOS



Anexo 1. Animales utilizados para el trabajo de investigación.



Anexo 2. Chequeo ginecológico, bajo la supervisión del Dr. Roberto Quinteros, UEA.



Anexo 3. Chequeo ginecológico por ultrasonografía, Dr. Juan Carlos López (UEA)



Anexo 4. Armado de pistola para Cytobrush.



Anexo 5. Técnica de Cytobrush, toma de muestras.



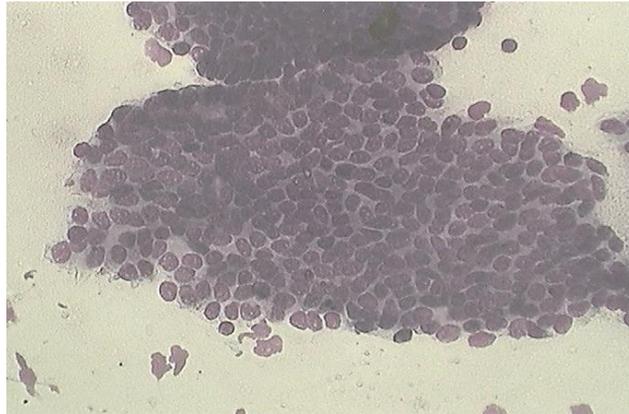
Anexo 6. Frotis Cytobrush, bajo la supervisión del Dr. Pablo Marini, PhD (Universidad Nacional del Rosario, Argentina)



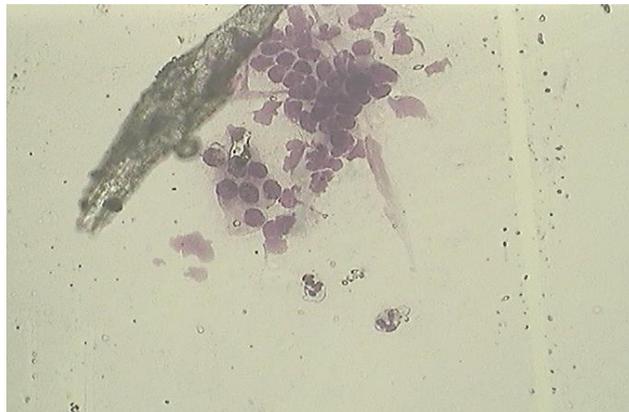
Anexo 7. Tinción 15 (Biopur). Tinción de placas, obtenidos por la técnica de Cytobrush.



Anexo 8. Conteo de PMN n, de placas obtenidas por la técnica de Cytobrush.



Anexo 9. Microfotografía óptica (40x). Frotis obtenido por Cytobrush. Se observan células epiteliales del endometrio (normales)



Anexo 10. Microfotografía óptica (40x). Frotis obtenido por Cytobrush. Se observan células Polimorfonucleares Neutrófilos (PMN n)

Anexo 11. Microfotografía óptica (100x). Frotis obtenido por Cytobrush. Se observan células Polimorfonucleares Neutrófilos (PMN n)

