

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**“DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE ENDOMETRITIS
SUBCLÍNICA CON ANTIBIÓTICOS FRENTE AL AGUA MARINA
VÍA AORTA ABDOMINAL EN VACAS HOLSTEIN CHIMBORAZO-
ECUADOR”**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. MARIAM MIYANAY UMERES BRAVO

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS

DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA CON
ANTIBIÓTICOS FRENTE AL AGUA MARINA VÍA AORTA ABDOMINAL EN
VACAS HOLSTEIN CHIMBORAZO - ECUADOR

PRESENTADA POR:

Bach. MARIAM MIYANAY UMERES BRAVO
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA



APROBADA POR:


PRESIDENTE

:


Dr. Felipe Santiago Amachi Fernandez

PRIMER MIEMBRO

:


M.Sc. Mario Rubén Zavaleta Gibaja

SEGUNDO MIEMBRO

:


M.Sc. Abigail Teresa de la Cruz Pérez

DIRECTOR

:


Dr. Ciró Marino Traverso Arguedas

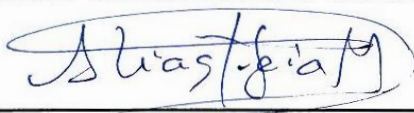
ASESOR

:


M.Sc. Carlos Ramiro Santos Calderón

ASESOR

:


M.Sc. Mery Luz Aliaga Tapia

Área : Salud animal

Tema : Diagnóstico y tratamiento de endometritis subclínica en vacas Holstein

Fecha de Sustentación: 14/12/2018

DEDICATORIA

A mis amados padres Hugo y Rina por su ayuda y confianza incondicional, inmenso amor, aliento para seguir nuevos retos en mi formación y vida profesional.

A mis abuelos Luz Marina, Juan Cancio, Matilde, y Pablo.

A mis queridas hermanas Yngrid Kukuli y Thurid Illari por ser mis cómplices, mi motivación, por su apoyo consejos y estar siempre cuando más las necesito. A mi Tía Yorca y a mi querida y numerosa familia.

A las buenas personas que se cruzaron en mi camino desde que inicie con esta hermosa carrera, me apoyaron y contribuyeron a formarme como una persona con buenos valores con un futuro profesional.

AGRADECIMIENTO

Al Ing. Carlos Ramiro Santos Calderón, mi amigo y asesor director de la Estación Experimental Tunshi, por la confianza incondicional que depositó en mí al aceptar guiarme en este largo camino, por sus consejos amables, constante presencia, predisposición, optimismo y sobre todo paciencia durante el diseño y desarrollo del trabajo, también por todas las facilidades brindadas y conocimiento compartido en cuanto al agua de mar y la vía aorta abdominal.

Al Dr. Ciro M. Traverso por su sabiduría y enseñanza no solo en este trabajo si no en mi formación profesional, su apoyo y paciencia fueron claves para lograr culminar con éxito esta etapa.

A la Dra Mery L. Aliaga por aceptar ser mi asesora su apoyo incondicional y confianza son parte de este logro.

A los señores miembros del jurado Dr. Felipe Amachi, M. Sc. Rubén Zabaleta y la M. Sc. Abigail T. De la Cruz, por su paciencia, sobre todo correcciones y sugerencias durante la ejecución del trabajo de investigación.

A la Estación Experimental Tunshi Área Pecuaria de la Escuela Superior Politécnica del Chimborazo Ecuador, por permitirme realizar esta investigación, por el apoyo de su personal administrativo, trabajadores y pasantes, en especial al Dr. Pedro Castillo Castillo e Ing. Sandra Yambay, por su amistad, apoyo incondicional, conocimiento compartido y ánimos para la ejecución del trabajo de investigación.

A la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, escuela profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en especial para su plana docente que son fuente de sabiduría y cultura quienes forman profesionales de gran sabiduría científica y técnica en las ciencias de la Medicina Veterinaria y Zootecnia.

A mis amados y queridos padres Hugo y Rina, mis queridas hermanas Thurid y Kukuli que son el motor de mi vida, sin ellos nada de esto sería posible, su apoyo incondicional en cada etapa de mi vida ha sido pieza clave, su confianza y palabras para asumir nuevos retos fueron parte de este logro, los amo con mi vida.

Con gratitud a Justo Silva por su amistad, por ser el vínculo en hacer las prácticas fuera del país y así ser el nexo para este trabajo de investigación.

A la Sra Yolanda Velásquez Pacco, Srta Elisabeth Choque Sallo, Sr. Carlos Quispe Chipana, trabajadores administrativos, por su amistad y sobre todo paciencia.

A todas las personas que han formado y forman parte de mi vida, mi amiga Gianella Zirena, Antony Coa, Guido Pino, Cesar Mamani, Armando Centeno, Yashmeny Cutipa, Angelina Puma, Juan Carlos Paca e Isaias Camacho, aunque algunas no estén presentes agradezco los aprendizajes dejados para mi vida profesional.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	5
ÍNDICE DE FIGURAS.....	7
ÍNDICE DE TABLAS.....	8
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS.....	9
RESUMEN	10
ABSTRACT	11
I. INTRODUCCIÓN.....	12
1.1. Objetivos de la investigación.....	14
1.1.1 Objetivo general.....	14
1.1.2 Objetivos específicos	14
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	15
2.1. Anatomía y fisiología del aparato reproductor de la hembra bovina	15
2.1.1. Genitales externos	15
2.1.2. Genitales internos	16
2.2. Tejido del útero	17
2.2.1. Endometrio.....	17
2.2.2. Miometrio	18
2.2.3. Perimetrio	18
2.3. Endometritis subclínica	18
2.3.1. Diagnóstico de la endometritis subclínica.....	23
2.4. Técnica de tinción para el Cytobrush	25
2.4.1. Tinción Giemsa	25
2.5. Administración Aorta Abdominal, Aorto punción o Endoarterial.....	26
2.6. Antibióticos.....	28
2.6.1. Macrólidos	29
2.6.2. Sulfonamidas	31
2.7. Agua marina.....	33
2.7.1. Propiedades.....	33
2.7.2. Principios de acción terapéutica.....	33
2.7.3. Aplicación inespecífica.....	35
2.7.4. Aspecto funcional de los oligoelementos.....	36
2.7.5. Procesos infecciosos e inmunidad.	36
2.7.6. Inflamación y radicales libres.	37
2.8. Viabilidad económica	38
2.9. Antecedentes	39
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	49

3.1. Lugar de estudio	49
3.2. Duración del estudio	49
3.3. Material experimental.....	49
3.3.1. De los animales	49
3.4. Manejo de las vacas	51
3.4.1. Alimentación	51
3.4.2. Reproducción.....	52
3.4.3. Sanidad.....	52
3.5. Materiales	53
3.5.1. Materiales e Insumos para la toma de muestra citológica.	53
3.5.2. Materiales e insumos para la tinción y observación de neutrófilos.	53
3.5.3. Materiales e insumos para la Técnica Aorta abdominal.....	54
3.5.4. Otros materiales.....	54
3.5.5. Equipos.....	54
3.6. Metodología	54
3.6.1. Diagnóstico de endometritis subclínica	54
3.6.2. De los tratamientos	59
3.6.3. Análisis estadístico.....	62
3.6.4. Viabilidad económica	63
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	65
4.1. Diagnóstico de endometritis subclínica en vacas Holstein, mediante el uso de Cytobrush.	65
4.2. Efecto del agua marina y antibiótico en sus respectivos grupos.....	69
4.3. Comparación del efecto del agua marina y efecto del antibiótico en el tratamiento de la endometritis subclínica.	79
4.4. Viabilidad económica.	82
4.4.1. Producción de leche durante los tratamientos.....	82
4.4.2. Costo de los productos utilizados.....	84
V. CONCLUSIONES	86
VI. RECOMENDACIONES.....	87
VII. REFERENCIAS	88
ANEXOS	98

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Procedimiento de la vía aorta abdominal.....	27
Figura 2: Diferencia de medias entre el grupo control y alternativo post tratamiento.....	80
Figura 3: Producción de leche durante los tratamientos.....	83

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Distribución de vacas según el tratamiento.	51
Tabla 2: Días post parto y % de polimorfonucleares neutrófilos	59
Tabla 3: Porcentaje de PMN-N en vacas Holstein con endometritis subclínica de la EETAP - 2018.	65
Tabla 4: Evaluación del efecto del agua marina en el tratamiento de la endometritis subclínica en vacas Holstein – 2018.....	69
Tabla 5: Evaluación del efecto de la asociación tilosina + sulfametoxipiridazina, en el tratamiento de la endometritis subclínica en vacas Holstein – 2018.	76
Tabla 6: Evaluación del agua marina y tilosina + sulfametoxipiridazina al final del tratamiento de la endometritis subclínica de vacas Holstein – 2018.....	79
Tabla 7: Producción de leche durante el tratamiento.	82
Tabla 8: Costo de leche por litro.	83
Tabla 9: Costo del tratamiento.	84

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

%	: Porcentaje
ADN	: Acido Desoxirribonucleico
ARN	: Ácido Ribonucleico
ATP	: Adenosintrifosfato
C°	: Grados centígrados
CB	: Cytobrush
Cm	: Centímetros
DEL	: Días en leche
dpp	: Días post parto
DS	: Desviación estándar
EC	: Endometritis Clínica
EE	: Media del error estándar
EETAP	: Estación Experimental Tunshi Área Pecuaria
ES	: Endometritis Subclínica
ESPOCH	: Escuela Superior Politécnica del Chimborazo
f	: Frecuencia
g	: Gramos
Km	: Kilómetro
L	: Litro
m	: Metro
m.s.n.m.	: Metros sobre el nivel del mar
MIC	: Concentración mínima inhibitoria
mL	: Mililitros
mm	: Milímetros
PBS	: Fosfato buffer salino
PMN -N	: Polimorfo nucleares - neutrófilos
PMN	: Polimorfo nucleares
PP	: Post parto
UI	: Unidades Internacionales
µL	: Micro litro

RESUMEN

El presente estudio se realizó en la Estación Experimental Tunshi Área Pecuaria, en la Unidad Académica y de Investigación en Bovinos Lecheros, propiedad de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) de Ecuador entre los meses de julio a octubre del 2018, con el objetivo de diagnosticar y tratar la endometritis subclínica con antibióticos frente al agua marina vía aorta abdominal en vacas Holstein, se identificaron 20 vacas con endometritis subclínica mediante la técnica de citología endometrial, posteriormente se realizó la tinción con Giemsa para evaluar el porcentaje de polimorfonucleares-neutrófilos y diagnosticar la enfermedad. Se efectuó los tratamientos, y los resultados fueron sometidos a la prueba de t de Student para comparación de medias independientes y relacionadas. El porcentaje promedio de neutrófilos hallados fue de 8.35% con valores extremos de 6.00% y 13.00%, demostrando que todas las vacas del estudio fueron positivas a endometritis subclínica. El grupo de tratamiento con agua marina tuvo una reducción de neutrófilos significativamente menor, de una media de 7.9 ante a una media de 1, después del tratamiento, hallándose diferencia ($P \leq 0.05$), de igual forma los vacunos tratados con tilosina más sulfametoxipiridazina tuvieron una reducción de neutrófilos significativa ($P \leq 0.05$) de una media de 8.8 antes a una media de 2.1 post tratamiento, al comparar los resultados post tratamiento de ambos grupos no se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$). Así mismo, del total de la producción de leche durante el tratamiento con antibiótico el 65% fue para la venta y el 35% de la producción fue descartada a comparación al grupo de tratamiento con agua marina la pérdida de leche por retiro fue nula, por lo tanto el uso del agua marina es económicamente más rentable porque no produce pérdida en la producción de leche.

Palabras clave: Agua de mar, citología endometrial, cytobrush, neutrófilos.

ABSTRACT

The present study was carried out in the Experimental Station Tunshi Cattle Area, in the Academic and Investigation Unit in Dairy Bovines, property of the Polytechnical Superior School of Chimborazo (ESPOCH) of Ecuador between the months of July to October of the 2018, with the objective of diagnosing and treating subclinical endometritis comparing antibiotic with seawater via abdominal aorta in Holstein cows, 20 cows with subclinical endometritis were identified by means of the endometrial cytology technique, later staining with Giemsa was performed to evaluate the percentage of polymorphonuclear neutrophils and diagnose the illness. The treatments were carried out, and the results were subjected to the Student t test for comparison of independent and related means. The average percentage of neutrophils found was 8.35% with extreme values of 6.00% and 13.00%, showing that all the cows in the study were positive for subclinical endometritis. The seawater treatment group had a significantly lower neutrophil reduction, from an average of 7.9 compared to a mean of 1, after treatment, finding a difference ($P \leq 0.05$), likewise the cattle treated with tylosin plus sulfamethoxypyridazine had a significant neutrophil reduction ($P \leq 0.05$) from a mean of 8.8 before a mean of 2.1 post treatment, when comparing the post-treatment results of both groups no significant difference was found ($P \geq 0.05$). Likewise, of the total milk production during the antibiotic treatment, 65% was for sale and 35% of the production was discarded compared to the seawater treatment group, the loss of milk by withdrawal was null, therefore the use of seawater is economically more profitable because it does not produce loss in milk production.

Keywords: Seawater, endometrial cytology, cytobrush, neutrophils.

I. INTRODUCCIÓN

En los sistemas de producción de ganado lechero, es indispensable tener una alta eficiencia reproductiva para el éxito económico de la ganadería lechera. El mayor valor de una vaca lechera está dado por su capacidad reproductiva, en los últimos años, la capacidad reproductiva de las vacas lecheras está siendo amenazada por diferentes factores principalmente nutricionales, genéticos, sanitarios y de crianza del ganado vacuno (Leblanc, 2002).

Las enfermedades uterinas postparto comprometen severamente la eficiencia reproductiva, siendo la endometritis la inflamación del endometrio usualmente debido a la persistencia de una infección moderada o al retraso en la involución uterina. Las vacas repetidoras de ciclo estrual, probablemente sean las que muestran un alto porcentaje de endometritis subclínica, aspecto que repercute en la producción y reproducción del rebaño (Palmer, 2008). Las endometritis han sido clasificadas en clínicas y subclínicas, siendo la incidencia de 53% entre los días 40 y 60 postparto (De la Sota, 2014). El diagnóstico de endometritis subclínica en vacas lecheras se basa fundamentalmente en el cálculo porcentual de Polimorfo Nucleares (Neutrófilos) (%PMN - N) presentes en los frotis obtenidos por medio de la técnica citológica de cepillado de la mucosa uterina (Cytobrush) (Rinaudo, 2012), que se caracteriza por ser rápida, específica, sensible y económica, lo que la hace una herramienta valiosa para la investigación sobre el rol y la importancia de la endometritis (Gilbert *et al.*, 2005; Palmer, 2006).

El agua de mar contiene numerosos elementos minerales, con conocidos efectos antioxidantes e inmunomoduladores, tales como silicio, selenio, hierro, calcio,

magnesio, cobre y zinc, entre otros. Estos elementos están íntimamente implicados en muchos de los mecanismos que el sistema inmunológico utiliza habitualmente para llevar a cabo la mayor parte de sus funciones, tanto defensivas como homeostáticas, también contiene sodio y cloro, fundamentales para el normal funcionamiento de todas las células del organismo, incluidas las células implicadas en la respuesta inmunológica (Gracia y Bustos, 2005).

La terapia con agua de mar es una técnica de nutrición celular aplicada en la clínica hospitalaria, durante los cuales se han puesto en marcha numerosos estudios que han permitido demostrar claros efectos beneficiosos para la salud, a distintos niveles, que podrían estar mediados en parte por distintas acciones sobre el sistema inmunológico (Domínguez,2011).

Por lo tanto, el agua de mar resultaría una terapia útil, accesible, de bajo costo y sin efectos secundarios para restablecer las condiciones de homeostasis necesarias para que el organismo reaccione adecuadamente y pueda superar mejor las patologías que le afecten, este trabajo de investigación es un aporte sobre el tratamiento de la endometritis subclínica en vacas a los 40 y 45 días post parto, en el cual se tuvo resultados placenteros con el uso de agua de mar, que comparado con el uso de antibióticos muestra lo mismo, a diferencia que el costo con el tratamiento con agua marina es económico y de fácil acceso, es así que este trabajo de investigación abre camino a futuras investigaciones en el área de la clínica en ciencias veterinarias para las distintas especies animales en el tratamiento terapéuticas de posibles complicaciones infecciosas y/o carenciales.

1.1. Objetivos de la investigación

1.1.1 Objetivo general

- Diagnosticar y tratar la endometritis subclínica con antibióticos frente al agua marina por vía aorta abdominal en vacas Holstein en Chimborazo – Ecuador.

1.1.2 Objetivos específicos

- Diagnosticar la endometritis subclínica en vacas Holstein, mediante el uso de Cytobrush.
- Comparar el efecto del agua marina con el efecto del antibiótico.
- Evaluar el efecto del agua marina y antibiótico en sus respectivos grupos.
- Evaluar la viabilidad económica del agua marina en el tratamiento de endometritis subclínica.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Anatomía y fisiología del aparato reproductor de la hembra bovina

El aparato genital de la vaca es el órgano de reproducción que está capacitado para la producción de ovocitos y facilita su unión con los espermatozoides, así como el posterior alojamiento del embrión y el feto hasta el nacimiento. Para su estudio el aparato reproductivo de la hembra se ha clasificado en órganos genitales externos e internos (Gázquez y Blanco, 2004).

2.1.1. Genitales externos

A. Vestíbulo

El vestíbulo de la vaca se extiende hasta el sitio donde el orificio uretral externo se abre en su superficie ventral. La pared del vestíbulo es similar al de la zona posterior de la vagina, aunque existe mayor cantidad de tejido linfoide nodular en la zona superficial de la lámina propia-submucosa. (Gázquez y Blanco, 2004).

B. 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 (Quintela *et al.*, 2006).

2.1.2. Genitales internos

A. Vagina

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

B. Cérvix

Es un órgano de paredes gruesas, que establece la conexión entre la vagina y el útero. Es un órgano fibroso formado predominantemente por tejido conectivo con pequeñas cantidades de tejido muscular liso. Esta estructura anatómica se encuentra perfectamente cerrada excepto durante el estro (Duchens, 2010).

C. Útero

Consta de dos cuernos uterinos y un cuerpo. Tiene un tabique que separa los dos cuernos, y un cuerpo uterino prominente. 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 (Sisson *et al.*, 2005).

D. Oviductos

Puede dividirse en cuatro segmentos funcionales: las fimbrias, en forma de ola, el infundíbulo, abertura abdominal en forma de

embudo cerca del ovario; el ampolla, dilatada y más distal; el istmo (Gázquez y Blanco, 2004).

E. Ovarios

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 está 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 médula es la zona central del ovario, compuesta por tejido conectivo laxo con fibras musculares lisas y abundante inervación y vascularización (Gázquez y Blanco, 2004).

2.2. Tejido del útero

2.2.1. Endometrio

El endometrio o mucosa- submucosa, está formado por dos capas, una superficial y otra profunda. La capa superficial posee un epitelio cilíndrico simple y/o cilíndrico pseudoestratificado, pudiendo llegar a ser cúbico en zonas aisladas, estas células de revestimiento se continúan con el epitelio de las glándulas uterinas. Las glándulas son de tipo tubular, se abren en la superficie de la mucosa uterina y se extienden en el espesor del estroma endometrial, terminando en extremos ciegos. Por debajo del epitelio se encuentra la lámina propia o corion formada por tejido conjuntivo laxo altamente

vascularizado con fibroblastos, macrófagos y mastocitos. Hacia la profundidad de la capa superficial el tejido conjuntivo se va haciendo menos celular (Dellmann y Brown, 1993).

2.2.2. Miometrio

Está constituido por dos capas de músculo liso, una circular interna muy gruesa y otra longitudinal externa más fina, entre ambas se desarrolla una zona con gran cantidad de vasos sanguíneos (Hafez, 2005).

2.2.3. Perimetrio

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

2.3. Endometritis subclínica

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; 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 y los estrógenos favorecen la fagocitosis bacteriana como también 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 (Sheldon, 2004).

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 celulares y humorales. La interacción coordinada de estos factores se manifiesta claramente aumentada durante períodos de mayor peligro de incursión de microorganismos (Rodríguez Martínez, 2007).

Existen diferentes elementos que han sido asociados a la infección uterina, como factores de riesgo. La involución uterina es un proceso dinámico que se sucede alrededor de los 30 a 50 días postparto, siendo más demorado en vacas multíparas que en novillas de primer parto. El puerperio normal es un proceso indiscutiblemente de carácter séptico durante el cual el útero está sujeto a sufrir infecciones por la penetración de diversos patógenos, sin embargo las infecciones tienden a ser autolimitantes y su presencia y duración depende de factores tales como estado inmunológico de los animales, virulencia de los organismos involucrados, retención de membranas fetales, infecciones secundarias, partos distócicos y presencia de enfermedades metabólicas (Markusfeld, 2001).

El principal problema de la endometritis no radica en la infección como tal, sino en el mal diagnóstico que se realiza de la misma, lo que provoca, en la mayoría de los casos un tratamiento errado que conlleva a que las infecciones se tornen crónicas. Esta situación afecta directamente la capacidad reproductiva de los animales (Gilbert, 2008).

El útero de todas las vacas se contamina con bacterias después del parto, pero esto no implica necesariamente infección, ni desarrollo de enfermedad uterina. Las vacas normalmente logran controlar esta contaminación e inclusive las infecciones más severas en el transcurso de la involución del útero, pero si la contaminación se traduce en infección y está persiste, se desarrollará enfermedad uterina (Lewis, 2007).

Las vacas con problemas en el período peri parto presentan una capacidad reducida para controlar las infecciones uterinas. En general, cualquier condición que altere la inmunidad posparto, como por ejemplo la administración de progesterona o glucocorticoides, se convierte en un factor predisponente. Entre otros factores de riesgo establecidos para estas infecciones se incluye la higiene en el ambiente, cesárea, retención de placenta y traumatismos del tejido genital durante la distocia o manipulación. Algunas condiciones metabólicas tales como la fiebre de la leche, cetosis y desplazamiento de abomaso a la izquierda también han sido asociadas a estos problemas (Dobson, 2006).

La endometritis se caracteriza por la presencia de un aumento en el número de neutrófilos en el útero. En muchos casos, el propio sistema inmunológico celular de la vaca es capaz de eliminar la infección dentro de unos días o semanas posparto, sin embargo, en algunos animales, pueden desarrollarse endometritis agudas o subclínicas, que en condiciones desfavorables se transforman en endometritis crónicas con presencia de células polimorfos nucleares en constante destrucción, aunque ya no haya agentes infecciosos presentes (Gilbert, 2008).

La endometritis posparto tiene un efecto negativo en la eficiencia reproductiva, aumentando el número de servicios por concepción, intervalo parto primer servicio y parto concepción, los cuales se combinan para disminuir el porcentaje de preñez general sosteniendo que el 40% de los animales desarrollan endometritis en los primeros 20 días, y que luego de este periodo la sostiene un 20% de las vacas, pero el 40% desarrolla endometritis subclínicas aún en los 60 días posteriores al periodo Post parto (Gilbert *et al.*, 2005).

La infección uterina bacteriana depende en parte de la situación endócrina; en particular la progesterona actúa como supresor de las defensas inmunitarias uterinas. La formación del primer cuerpo lúteo (CL) luego del parto y el incremento de progesterona precede al surgimiento de la enfermedad uterina, demostró que la infusión con *Arcanobacterium pyogenes* y *Escherichia coli* durante el posparto en vacas en condiciones experimentales, no se producía ninguna

afección uterina siempre y cuando los niveles plasmáticos de progesterona se mantuvieran bajos y tardaran en aumentar. Aun así, muchas infecciones uterinas se establecen en la tercera semana después del parto antes de la ovulación del primer folículo dominante (Leblanc, 2002).

Los PMN son la primera barrera de defensa ante la invasión bacteriana. Estas células con capacidad fagocítica, son reclutadas desde la circulación periférica hacia la luz uterina para fagocitar a las bacterias tratando así de controlar la invasión bacteriana. Sin embargo, la capacidad funcional de los PMN se encuentra reducida en el postparto de muchas hembras. Esta disminución puede favorecer y predisponer al establecimiento de afecciones uterinas tanto clínicas como subclínicas. La inflamación subclínica del endometrio necesita, para poder ser diagnosticada, de algún método complementario como el análisis citológico, ya que como se comentó, el animal no presenta ningún signo local o general que oriente a pensar en la existencia de una patología uterina (Barlund *et al.*, 2008).

La inmunidad innata de los neutrófilos es la respuesta primaria en el útero y es la principal afectada. La inflamación y la infección del endometrio retrasan la involución uterina normal; esta es la causa principal de alteraciones en los índices reproductivos (Palmer, 2006).

2.3.1. Diagnóstico de la endometritis subclínica

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 rápida, específica, sensible y económica, lo que la hace una herramienta valiosa para la investigación sobre el rol y la importancia de la endometritis (Palmer, 2006).

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 (Kasimanickam *et al.*, 2005).

Un caso de endometritis subclínica está definido como el hallazgo de una cantidad de neutrófilos mayor al 18% en muestras citológicas colectadas del útero entre los 21 y 33 días posparto o una proporción de neutrófilos mayor a 4% en muestras colectadas entre los 40 y 60 días posparto, en la ausencia de endometritis clínica (Gilbert, 2008; Madoz *et al.*, 2008).

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) (Maurino, 2012).

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 Polimorfonucleares (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 *et al.*, 2009).

La recolección de células del útero se realiza utilizando un citocepillo modificado para obtener muestra del lumen uterino, y evaluar mediante un frotis coloreado, el porcentaje de neutrófilos hallados contando 100 células. Para ello se utiliza un Cytobrush, al cual se corta el mango a los 3 a 4 cm de la parte del cepillo, se ensarta en un vástago de acero de 4 mm de diámetro y 65 cm de longitud, cubierto por un tubo de acero de diámetro interno 5 mm y de 50 cm de longitud. El tubo externo cubre la parte del cepillo, todo cubierto por una camisa sanitaria. Al introducirlo y al sacarlos del tracto genital, el cepillo está protegido por el vástago de acero; solo sale el cepillo dentro del útero para tomar la muestra (Kasimanickam *et al.*, 2004).

La metodología consiste en realizar la limpieza de la zona perineal y especialmente vaginal con un papel toalla húmedo, introducción del Cytobrush hasta el lumen uterino, extracción del cepillo del tubo de acero protector, rotar sobre la pared del cuerno de mayor tamaño, volver a cubrir con el tubo protector, extraer de la vaca y hacer un

frotis sobre una lámina porta objetos limpio y desengrasado; colorear con Giemsa, finalmente se hace la observación al microscopio óptico 400X, este método es efectivo para el diagnóstico de las endometritis subclínicas, así como es interesante su utilización en vacas repetidoras para un diagnóstico de presencia de anidaciones bacterianas que es una de las causas de repetición. Es importante poder determinar que el útero está infectado para instaurar un tratamiento precoz y poder asegurar un acortamiento del intervalo parto gestación y así lograr el objetivo de una lactancia y un ternero por año, siendo la sensibilidad de la Citología Uterina de 95% (Rutter, 2015).

2.4. Técnica de tinción para el Cytobrush

2.4.1. Tinción Giemsa

Es un tipo de tinción policromática que se utiliza en la coloración de células sanguíneas y cuyo procedimiento es: primeramente se realiza el fijado con una solución de alcohol metílico por un tiempo de 3 minutos, luego se seca al medio ambiente para ser sumergido en el colorante Giemsa diluido (un volumen de colorante para nueve a quince volúmenes de agua o de amortiguador de pH 6.8), por un tiempo de 15 minutos a una hora; luego será lavada con agua destilada y secada al medio ambiente (Lynch *et al.*, 1987).

Las muestras obtenidas por Cytobrush pueden ser coloreadas utilizando la tinción Giemsa (Kasimanickam *et al.*, 2004).

2.5. Administración Aorta Abdominal, Aorto punción o Endoarterial

La medicación endoarterial a través de la técnica de Aorto punción se basa en el mantenimiento de un equilibrio antagonista de las partes simpáticas y parasimpáticas del sistema nervioso autónomo de los órganos afectados, en el que el estímulo fuerte, producido por la distrofia es sustituido por un estímulo débil que normaliza la inervación trófica, y la enfermedad adquiere un curso favorable al mejorar la circulación sanguínea, el metabolismo general e intracelular, disminuir la permeabilidad capilar, activarse el sistema de fagocitosis de mononucleares, las reacciones inmunológicas y otros aspectos relacionados con la defensa del organismo, logrando una recuperación del estado general del animal. Dichos beneficios se logran con soluciones de Novocaína diluidas entre 0,25 a 0,5% concentraciones mayores conllevan a la analgesia, la aorto punción se práctica con fines terapéuticos en caso de diferentes patologías de los órganos de las cavidades abdominales y pélvicas, así como en los casos de mastitis, metritis, endometritis, y en afecciones podales de los miembros posteriores (Gontarenko,1969; Rizo *et al.*, 1981).

La técnica de administración aorta abdominal, aorta punción o endoarterial, tiene el siguiente procedimiento

- El bovino debe situarse en un potro o, en su defecto, sujetarse firmemente con cuerdas e inmovilizar la cola. La aguja se introduce por el lado derecho, en el 3er, 4to o 5to espacio entre las vértebras lumbares.

- La aguja debe pasar por el medio del espacio entre la punta de la apófisis espinosa y la apófisis transversa de la vértebra lumbar seleccionada.
- La piel se perfora y la aguja se dirige oblicuamente en un ángulo aproximado de 25 grados hasta topar con la apófisis transversa de la vértebra. Se extrae ligeramente y pasando entonces sagitalmente la aguja por la vértebra se consigue puncionar la aorta abdominal. Cuando la punción se hace correctamente, por la aguja brota un chorro pulsante de sangre. Entonces a la aguja se le acopla una jeringa y se le inyecta a presión y lentamente el antibiótico seleccionado.
- Para prevenir la hemorragia procedente de la aorta se retira la aguja lentamente, colocándola en una posición vertical hasta que cese de correr la sangre por la aguja, se espera 2-5 minutos y se extrae por completo (Castro, 2013).

Figura 1: Procedimiento de la vía aorta abdominal.





Fuente: Castro, 2013

2.6. Antibióticos

Las propiedades que se buscan en un antibiótico para ser utilizado en el tratamiento de enfermedades infecciosas son:

- Elevada actividad antimicrobiana, eficaz y selectiva; y que no se vea reducida por la biotransformación que sufra en el cuerpo.
- Las características farmacocinéticas deben proporcionar valores en los lugares de acción altos, y ser mantenidos durante tiempos largos.
- Baja toxicidad para el huésped.
- Que sea eficaz por vía tópica, oral o parenteral.
- De alta penetrabilidad.
- Que sea estable, no lábil.

- Fácil de producir en grandes cantidades y a bajo costo.

Reunir todas las características en una única sustancia, es prácticamente imposible, por lo que se recurre a combinaciones de antimicrobianos para mejorar la efectividad de los tratamientos. Sin embargo, no todas las combinaciones de estas sustancias son viables debido a la incompatibilidad química de su estructura (Löscher, 1994).

2.6.1. Macrólidos

Está constituido por un conjunto de compuestos estructuralmente emparentados, que se caracterizan por poseer un anillo lactónico macrocíclico de 12 a 20 átomos de carbono. Estos anillos se encuentran unidos desoxiazúcares mediante enlaces glucosídicos. Los macrólidos son activos frente a la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias “gram positivas” (con limitada o nula actividad frente a la mayoría de bacterias “gram negativas”), están indicados en el tratamiento de infecciones de las vías respiratorias superiores, bronconeumonía, enteritis bacteriana, metritis, piodermatitis, infecciones urinarias, artritis y otras. Los miembros del grupo incluyen principalmente: Tilosina, Eritromicina, Espiramicina y Tilmicosina (Occhi, 2012).

A. Tilosina

La tilosina, antibiótico de amplio uso en medicina veterinaria, posee 16 anillos de carbono en su estructura, presenta una acción esencialmente bacteriostática frente a bacterias Gram-positivas y

algunas Gran-negativas, así como otros organismos como micoplasma, espiroquetas, clamidia y rickettsia (Nieto, 2016).

- **Farmacocinética**

Se caracteriza por una absorción extensa y rápida, seguida de una distribución y eliminación lenta. La concentración máxima en plasma es de 0.5 µg/mL, esto se alcanza 30 minutos después de administrada la dosis. Presenta una distribución subcelular que se manifiesta en un 70- 80% a nivel lisosomal. Los Macrólidos se acumulan en pulmón y los procesos infecciosos e inflamatorios aumentan su penetración tisular. En bovinos, luego de la administración subcutánea, el fármaco se absorbe rápidamente y se distribuye extensamente en todos los tejidos. Penetra rápidamente a leche por su afinidad a células epiteliales y alcanza concentraciones altas, su elevado volumen de distribución es la prueba más clara de su gran penetrabilidad tisular. Presenta valores de concentración mínima inhibitoria (MIC) entre 0,2 y 1 µg/mL frente a varias bacterias y micoplasmas patógenos susceptibles (Nieto, 2016).

- **Farmacodinamia**

Tienen una fuerte interacción con fagocitos (monocitos, macrófagos y neutrófilos de sangre, pulmón y glándula mamaria), ya que el fármaco se concentra en grandes cantidades en las células más que en el plasma. Actúa inhibiendo la síntesis de proteínas en la bacteria, tradicionalmente se considera a los macrólidos como agentes

bacteriostáticos, sin embargo, pueden ser bactericidas en altas concentraciones, contra microorganismos susceptibles, ejercen sus efectos mediante la unión a la subunidad ribosomal 50s. Esta unión inhibe la translocación del aminoacil RNA de transferencia y por ende la síntesis de polipéptidos bacterianos (Madigan, 2003).

2.6.2. Sulfonamidas

Las sulfonamidas, sulfamidas o drogas sulfas, fueron los primeros agentes quimioterápicos usados en la prevención y el tratamiento de enfermedades bacterianas, y su utilización supuso una disminución drástica de la morbilidad y mortalidad por enfermedades infecciosas (Fernández, 2009).

Estos quimioterapéuticos inhiben las bacterias “gram negativas” y “gram positivas”, algunas Clamidias, *Nocardia*, *Actinomyces spp*, y diversos protozoos. Las sulfamidas más activas pueden actuar frente varias especies de *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Pasteurella* e incluso *Escherichia coli*. Las sulfonamidas se usan normalmente para tratar o evitar enfermedades sistémicas o locales. Entre las infecciones que se tratan con estos fármacos, se destacan coccidiosis, mastitis, metritis, colibacilosis, poliartritis, infecciones respiratorias y toxoplasmosis (Merck y Co, 2000).

B. Sulfametoxipiridazina

Es una sulfonamida de acción retardada, por lo que ayuda en su combinación con otros antibióticos, insoluble en agua, que origina sulfademia prolongada y sulfamiduria (Nieto, 2016).

- Farmacocinética

Presentan buena absorción por vía oral (entre 70 a 100%). Las concentraciones pico en plasma se obtienen entre 2 y 6 horas. Se unen en diferente grado a las proteínas plasmáticas, especialmente a la albúmina. Se distribuyen por el agua corporal total y todos los tejidos del cuerpo. Penetran los espacios pleural, peritoneal, sinovial y ocular presentando concentraciones del fármaco cercanas a las séricas. Las sulfonamidas atraviesan la placenta y pasan a la circulación fetal, como también a glándula mamaria. Sufren metabolismo principalmente hepático, produciendo metabolitos no activos pero que sí poseen toxicidad. Su eliminación es principalmente por el riñón ya sea sin ser metabolizadas o como metabolitos inactivos. Pequeñas cantidades son eliminadas por las heces, bilis y leche, el 40 al 60% de la dosis total administrada es eliminada por la orina y aproximadamente el 0.5 a 2 % en la leche (F.W, 2000).

- Farmacodinamia

Su mecanismo de acción es complejo ya que actúan bloqueando distintas enzimas entre las que se encuentran las implicadas en la síntesis de las bases púricas y otros procesos celulares, tienen efecto bacteriostático porque interfieren en la asimilación del ácido p-aminobenzoico, necesario para la producción del ácido fólico por las bacterias, lo que deprime la síntesis de ADN. dando lugar a la supresión de la síntesis proteica, alteración de los procesos

metabólicos e inhibición del crecimiento y multiplicación de los microorganismos (Sumano y Ocampo, 1997).

2.7. Agua marina

2.7.1. Propiedades

Es un disolvente natural que tiene nuestro planeta, disuelve variedad de sólidos, líquidos y gases. Es antibiótico y bactericida hasta 72 horas después de aplicarse. Impide la proliferación bacteriana, eliminando las bacterias nocivas, y conservando las bacterias benéficas, algo que no pueden hacer los antibióticos, químicos farmacéuticos que matan indiscriminadamente a las células malas y también las buenas especialmente a la bacteria que habita en todas nuestras células produciendo la energía del ATP (adenosintrifosfato) que son el 90 % de la energía que necesitamos para la vida (mitocondrias), además es un nutriente porque sus elementos son esenciales para la constitución de los carbohidratos, las grasas y las proteínas, imprescindibles para la vida de los organismos, entre los cuales están el hidrógeno, nitrógeno, oxígeno, magnesio, manganeso, sodio, potasio, calcio, hierro, fósforo, flúor, sílice y yodo (Goeb, 2011).

2.7.2. Principios de acción terapéutica.

La acción terapéutica puede considerarse en torno a tres ejes: la acción plástica y mecánica del agua marina, que garantiza una reposición hidroeléctrica; la acción catalítica y funcional de los oligoelementos; y la regeneración celular (Goeb, 2011).

A. La recarga hidroelectrolítica.

Esquemáticamente, las sales, a través de mecanismos de presión osmótica y de la regulación renal, van a asegurar el balance hídrico del organismo. El efecto mecánico del agua marina como agente de rehidratación es inmediato, el sodio es la sal que regula la entrada de agua en el protoplasma y el núcleo celular y sin duda permite secundariamente asimilar o retener las otras sales. Sin embargo, su acción es mucho más profunda que la obtenida con una simple solución de cloruro de sodio al 9%, todo sucede como si con las inyecciones de agua de mar fuera restablecida la capacidad de los tejidos para retener agua, esta acción afecta directamente a los problemas de nutrición, de asimilación y de eliminación. Permite asegurar un tratamiento hidro electrolítico en las patologías agudas siguientes: deshidratación, diarreas agudas, shocks hipovolémicos, quemaduras y reanimación pre y postoperatoria, permite también regular las patologías crónicas graves con carencias, desmineralización y espasmos (Goeb, 2011).

B. El reequilibrio funcional enzimático.

Mientras la recarga hidro electrolítica afecta directamente al medio interno, la acción funcional del agua marina se sitúa en la actividad citoplasmática. Los oligoelementos afectan al conjunto de ciclos metabólicos, generales y específicos, por ejemplo, modificando las estructuras, las secreciones hormonales y la producción de anticuerpos. Los minerales marinos tienen una biodisponibilidad excepcional, el agua marina contiene los 92 elementos utilizados por

el metabolismo, de una forma completa, equilibrada y asimilable (Gracia, 2001).

C. La regeneración celular.

Renovando el medio interno e induciendo el equilibrio mineral, el agua marina contribuye a reforzar el equilibrio del organismo, las modificaciones del medio interno serán transmitidas gradualmente hasta la mitocondria, el cromoplasto y, por supuesto, el núcleo, donde ocurrirán de nuevo cambios en el micro entorno de las secuencias del ADN. La dinamización de los elementos marinos y la calidad de su presencia es más determinante que en ninguna otra parte, la acción de los elementos metálicos en el material genético y la importancia de la forma de los oligoelementos necesarios para un desarrollo óptimo de la transcripción ADN-ARN (Goeb, 2011).

2.7.3. Aplicación inespecífica.

Al actuar sobre la base de los mecanismos fisiológicos, la acción del agua marina es inespecífica, el mismo mecanismo se encuentra en diferentes procesos. La de administración de agua marina en solución isotónica e hipertónica viene determinada por la similitud de las causas, no de los síntomas, así interviene en los mecanismos que se encuentran en diferentes procesos patológicos (inflamación, infección) por el aspecto funcional de los oligoelementos (Goeb, 2011).

2.7.4. Aspecto funcional de los oligoelementos.

Estructuran la materia viva. Por ejemplo, el zinc por medio de las proteínas dedo (finger) de zinc, influye en la regulación de los genes y por tanto en la multiplicación y la diferenciación celular. Los oligoelementos tienen un efecto catalítico, sus funciones están ligadas al de las enzimas y constituyen la clave de la química interna, más del 25% de todos los enzimas conocidos contienen iones metálicos, es más: requieren la presencia de estos iones para ejercer su actividad. Los iones también pueden tener una función reguladora, en particular en las reacciones donde el ATP sirve de sustrato. Más allá de la simple recarga mineral para la que es muy eficaz, el agua marina tiene un impacto funcional considerable, reúne el conjunto de aspectos para una actividad óptima de los oligoelementos en el organismo. Esto muestra la profundidad de su actividad integral para un fin específico, en combinación con un tratamiento para el equilibrio general de los oligoelementos (Goeb, 2011).

2.7.5. Procesos infecciosos e inmunidad.

Ciertos oligoelementos tienen una función fundamental en los mecanismos celulares que regulan los procesos inmunitarios. Actúan en el nivel de la actividad citotóxica macrofágica y de la función inmunomoduladora. Su carencia o insuficiencia de su utilización por los enzimas puede encontrarse en numerosas afecciones que van de la gripe al cáncer. El desencadenamiento de las defensas inmunitarias humoral y celular (fagocitosis) aumenta

las necesidades de ciertos elementos implicados en la lucha contra la destrucción celular. Los macrófagos liberan compuestos oxigenados, es decir radicales superóxidos, tóxicos para las células. Estos radicales retardan los intercambios y conducen a una alteración de la membrana de los corpúsculos celulares. En los procesos infecciosos, el agua marina actúa tanto a nivel funcional sobre el terreno orgánico (Goeb, 2011).

2.7.6. Inflamación y radicales libres.

La inflamación, conjunto de fenómenos complejos que responden a una agresión local, desencadena automáticamente una serie de reacciones inespecíficas, cualquiera que sea la etiología: mecanismo vascular, mecanismo celular. Los fenómenos inmunitarios tienen una función importante e incluso pueden convertirse en el factor desencadenante (Gracia, 2001).

Diversos oligoelementos están implicados en este proceso como cobre, zinc, selenio, manganeso e intervendrán a diferentes niveles, sea modificando el auto mantenimiento del sistema pro inflamatorio o impulsando la acción antiinflamatoria. En general, la intensidad de la respuesta está correlacionada con la capacidad de activación local de las reacciones de defensa como: La secreción de citoquinas (participan Cu y Zn); la liberación de mediadores lipídicos (participa Se); la producción de radicales libres oxigenados (participan Cu, Zn, Mn y Se). Las citoquinas ejercen una regulación intracelular entre la inducción y la inhibición de la producción de radicales libres. Cuando

la concentración celular de radicales libres no se puede controlar o en caso de cronicidad, se producen daños en las células y sus constituyentes esenciales. El estudio sucinto del proceso inflamatorio muestra de nuevo la importancia de los circuitos de regulación y del mantenimiento de la homeostasis, un complejo conjunto de reacciones encuentra ahí su equilibrio en función de la acción relativa de diversos oligoelementos. Estos fenómenos subrayan la importancia de un aporte equilibrante como el del agua marina. Además, éste constituye un factor de modificación del terreno necesario en los tratamientos de las patologías inflamatorias agudas y crónicas (Goeb, 2011).

2.8. Viabilidad económica

Condición que evalúa la conveniencia de un sistema, proyecto o idea al que califica, atendiendo a la relación que existe entre los recursos empleados para obtenerlo y aquellos de los que se dispone. En muchas ocasiones, los recursos de los que se dispone para evaluar la viabilidad económica, vienen determinados por los que produce el propio sistema, proyecto o idea que se está evaluando, por lo que en realidad se lleva a cabo un análisis de rendimiento o rentabilidad interna. Para ello se enfrenta lo que se produce con lo que se gasta, en términos económicos. La justificación económica es generalmente la consideración fundamental para la mayoría de sistemas, se debe tener en cuenta: el análisis de costo/beneficio, las estrategias de ingresos de la empresa a largo plazo, el impacto en otros productos o centros de beneficios, costo de recursos

necesarios para el desarrollo y crecimiento potencial del mercado (García, 2008).

2.9. Antecedentes

- El estudio menciona que las vacas cuyos frotis endometriales obtuvieron % de PMN $N \geq 5$, fueron diagnosticadas como positivas a Endometritis subclínica ES, independientemente del período posparto en que fueron muestreadas. El 49 % de las vacas observadas independientemente del momento presentaron algún grado de inflamación uterina ya sea clínica como subclínica. Entre los 21-33 DEL el 58,5 % de las vacas poseen EC y ES, siendo los animales con EC (55,4%) los que representan el 94,7% del total de endometritis. Entre los 34-46 DEL el 32,5% de las vacas poseen EC y ES, disminuyendo la EC a un 25,0% y la ES aumentando a un 7,5%, sin embargo, aún la EC representa el 76,9% de ambas endometritis. En el período entre los 47-56 DEL el 50,4% de las vacas poseen EC y ES, disminuyendo la EC a un 18,8% y aumentando la ES a un 31,6%, invirtiendo la representación de las endometritis totales con supremacía de las ES (63,1%). Por lo expuesto se puede observar que el comportamiento es diferente de la EC y ES según los DEL. Existe un marcado descenso del porcentaje de vacas con EC a medida que avanzan los DEL, por el contrario, se observa un comportamiento inverso de la ES. Las vacas sanas mostraron mayor estabilidad presentándose entre el 50 y 68% en todo el período estudiado (Rinaudo *et al.*, 2010).
- El objetivo de esta investigación fue analizar si la endometritis subclínica, durante el posparto, afectaba la eficiencia productiva y reproductiva de la

vaca lechera en establecimientos del sur de la provincia de Santa Fe. Los resultados obtenidos mostraron que la endometritis subclínica en las vacas estudiadas afectó de manera significativa ($p < 0,05$) la performance reproductiva de las mismas, las vacas con endometritis subclínica necesitaron 4 servicios para lograr la preñez en contraposición a los 2 que requirieron las vacas sanas ($p < 0,0001$). Por ende, las vacas enfermas tuvieron mayor cantidad de días de intervalo parto concepción (166) que las vacas sin endometritis subclínica (113) ($p = 0,0004$). Por otro lado, se observó que la presencia de endometritis subclínica no se ve influenciada por la mejor o peor condición corporal de la vaca, por el número de partos, y por la producción láctea total de la vaca de manera significativa ($p > 0,05$). El sistema de producción mostró una predisposición a una mayor prevalencia de endometritis subclínica sobre el final del período de espera voluntario (38-56 días postparto) en el sistema estabulado o *Free Stall* (20%), que en el sistema a pastoreo con suplementación (14,9%). ($p < 0,05$) (Rinaudo, 2012).

- El objetivo de este trabajo de investigación fue evaluar los efectos terapéuticos del agua de mar isotónica microfiltrada al frío como terapia complementaria en modelos biológicos con anemia inducida experimentalmente por dietas pobres en proteínas, vitaminas y minerales, y por medicamentos. Materiales y métodos: se contó durante ocho semanas con 50 ratones cepas NMRI, de ambos géneros y en edad adulto-joven. Se dividieron en cuatro grupos experimentales de 10 ratones cada uno, incluyendo un grupo control. Fueron evaluados al inicio y final del experimento los parámetros hematológicos, pH salival, cobre y zinc.

Al final del experimento fueron sacrificados por dislocación cervical y autopsiados para examinar bazo, hígado y riñón. Resultados: los modelos experimentales bajo ingesta de agua de mar con relación al grupo sin agua de mar, independiente del tipo de anemia inducida, evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) con restablecimiento de los parámetros hematológicos. El bazo se observó en tamaño y condiciones normales evidenciando restablecimiento del daño inmunológico ocasionado. Órganos como riñón e hígado no mostraron daños morfológicos. Conclusiones: el agua de mar isotónica resultó útil como terapia complementaria en los modelos experimentales, en casos de anemias causadas por dietas pobres en proteínas, vitaminas y minerales, desencadenadas por medicamentos (Di Bernardo, 2014).

- La presente investigación se realizó en el distrito La Esperanza, provincia de Trujillo, región La Libertad; con el objetivo de determinar el efecto de tres niveles agua de mar sobre los parámetros productivos de pollos de engorde línea Cobb 500. Se utilizaron 240 pollos distribuidos en cuatro tratamientos bajo un diseño completamente al azar. Los tratamientos fueron: T0: Agua de bebida sin agua de mar, T1: 150 mL de agua de mar más agua de bebida, T2: 250 mL de agua de mar más agua de bebida y T3: 350 mL de agua de mar más agua de bebida. El agua de mar fue sometida a una temperatura de 80° C por 3 a 5 minutos antes del suministro a los pollos. Los resultados fueron evaluados estadísticamente con ANVA, la prueba de Duncan y Chi-Cuadrado. Se calcularon diferencias estadísticas altamente significativas ($P < 0.01$) para el peso final y el incremento del peso. Siendo los mayores valores de T2 (2.64 kg

y 2.59 kg); y los valores más bajos de T0 (2.33 kg y 2.28 kg). Para el consumo de alimentos total se determinó diferencia estadística altamente significativa ($P > 0.01$), siendo mejor el T2 (4.45 kg) y peor el T0 (4.05 kg). En el índice de conversión alimenticia no se calcularon diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$) pero si numérica. Siendo mejor el valor del T2 con 1.72. Para el porcentaje de mortalidad, el T3 obtuvo 0% y los demás tratamientos obtuvieron 1.67 %, sin diferenciarse estadísticamente ($P > 0.05$). El índice de eficiencia productiva para el T2 obtuvo el mejor valor con 359.35, seguido de T3, T1 y T0. Para la relación beneficio/costo el mejor valor lo obtuvo el T2 con 1.42 seguido de 1.33; 1.37 y 1.38 para T0, T1 y T3 respectivamente. Se concluye que la adición de agua de mar en el agua de bebida mejora los parámetros productivos de pollos de engorde Cobb 500, siendo el mejor tratamiento el T2 (Guevara, 2014).

- El trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de la utilización de la solución hipertónica (agua de mar) en el tratamiento de la mastitis bovina en la finca “Guadalupana”, antes “San Clemente” del Municipio de Nagarote, departamento de León, utilizaron 18 animales en un diseño completamente al azar distribuido aleatoriamente en tres tratamientos. Tratamiento I: agua de mar 5mL; Tratamiento II: Tratamiento testigo: DI-ERITROMAST M.A; Tratamiento III: agua de mar 10mL. Se encontró una prevalencia de mastitis en el hato del 72%, de ésta un 38% correspondió a mastitis subclínica, un 34% a mastitis clínica y un 28% de las vacas resultaron negativas; el cuarto más afectado fue el anterior derecho con el 100% de reacción positiva. Según el examen bacteriológico realizado a las muestras enviadas al laboratorio, los

microorganismos causantes de la mastitis en la finca, fueron: *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae* y *Pseudomonas*. Los tratamientos I y III presentaron los mejores resultados en el control de la mastitis bovina, donde el tratamiento I (agua de mar 5ml) alcanzó su efectividad a los 14 días con un 100% y, el tratamiento III (agua de mar 10mL) alcanzó su efectividad a los 21 días con un 100%. En tanto, para el tratamiento II no se observó efectividad en el transcurrir de las 8 semanas analizadas (Solís, 2007).

- Se evaluó la utilización del Agua de Mar como suplemento nutritivo de sales minerales, como alternativa en la ganancia de peso en terneros al destete en la Finca Sta. Rita, comarca el Castillo, municipio de Mulukukú, Región Autónoma del Atlántico Norte, ubicada en las coordenadas: 13° 10' 08'' N y 085° 05' 18'' W, elevación sobre el nivel del mar de 137m. Se empleó un diseño completamente al azar, donde fueron utilizados 30 animales distribuidos aleatoriamente en tres grupos de 10 animales. Tratamiento I: 1 000 mL de agua de mar 1 vez al día por 30 días; Tratamiento II: 1 000 mL de agua de mar 2 veces al día por 30 días; Tratamiento III: Tratamiento testigo (no se aplicó ningún suplemento mineral). Los resultados obtenidos en ganancia de peso vivo, demostraron que no hubo diferencia significativa entre tratamientos, a pesar de esto se observó una pequeña diferencia teniendo los mejores resultados el Tratamiento I seguido del Tratamiento II y por último el Tratamiento III. De igual forma no se obtuvieron diferencias significativas en la ganancia media diaria entre tratamientos, obteniendo el Tratamiento I 0.4089 kg /Animal/día, para el Tratamiento II fue de 0.3717 kg y para el

Tratamiento III fue de 0.3585. Al realizar el análisis financiero observamos que el tratamiento que mayor rentabilidad nos proporcionaría es el Tratamiento I, obteniendo una utilidad neta de \$894.96 dólares, el que se emplea en la finca es el Tratamiento III y este nos deja una utilidad neta de \$751.02 dólares, al comparar estas utilidades encontramos una diferencia de \$143.94 dólares (Mejia y Sing, 2008).

- El agua de mar como promotor de crecimiento en pollos de engorde Arbor acres de cero a seis semanas, La Unión, Pasaquina, El Salvador, tuvo como objetivo establecer tratamientos diferentes con promotores de crecimiento y uno de ellos fue el Agua de Mar implementado como Promotor Natural (PN), el cual fue aplicado en el agua de bebida. El estudio permitió determinar una dosis específica de 250mL, lo que conllevó a obtener resultados como el consumo de alimento en los pollos de engorde con (PN) fue de 461.56kg, y de 460.95kg para (PQ), conversión alimenticia menor en el (PN) con un promedio de 2.51kg mientras que en el PQ (súper promotor) demostró un promedio de 2.69kg, alcanzando un peso el (PN) de 2.07kg. Siendo menor el peso alcanzado (PQ) con 1.83kg. así como la condición organoléptica de la carne con PN resulto con categoría de muy buena (MB), demostrando con este estudio el efecto positivo del Agua de Mar como promotor de crecimiento (Bonilla, 2007).
- El presente estudio se realizó con el objetivo de evaluar el efecto de la utilización de la solución hipertónica (agua de mar) en el tratamiento de la mastitis bovina en la finca “Las Cañas” del Municipio de la Trinidad,

departamento de Estelí. Trabajaron con 18 hembras bovina con dos y tres meses de lactación, positivas a mastitis subclínicas, mediante la prueba de Mastitis California Test. Los tratamientos evaluados fueron Tratamiento 1 Agua de mar 10 mL; Tratamiento dos 2 químico Cloxacilina-Ampicilina (Masticen Pomada®) 10 mL. Durante todo el muestreo el cuarto más afectado fue el cuarto anterior izquierdo con (35.25%). Según el examen bacteriológico realizado a las muestras enviadas al laboratorio, los microorganismos identificados de la mastitis en la finca, fueron: Streptococcus spp, Staphilococcus aureus, y Pseudomonas spp, E. coli). Los dos tratamientos presentaron buenos resultados en el control de la mastitis bovina, donde el tratamiento TI (agua de mar 10mL) alcanzó su mayor efecto a la quinta semana con un (34.3%) con respecto a mastitis subclínica y con un (11.4%) Con respecto a mastitis clínica-crónica y el Tratamiento TII (Masticen Pomada 10mL) alcanzó su mayor efecto a la quinta semana con un (33.3%) con respecto a mastitis sub clínica y con un (8.3%) con respecto a mastitis clínica-crónica (Rodriguez y Alvarado, 2016).

- Se efectuó el estudio en la ciudad de Babahoyo, en la Granja Experimental San Pablo en la Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Babahoyo, que se encuentra ubicada en el km 7 1/2 de la vía a Montalvo de la Provincia de Los Ríos. Los objetivos planteados fueron: Establecer el consumo de alimento, ganancia de peso, conversión alimenticia y mortalidad, determinar el consumo de agua por tratamiento y analizar económicamente mediante relación costo- beneficio la

rentabilidad utilizando “Agua de Mar” cómo promotor de crecimiento en pollos de engorde. Los animales se los distribuyó en cuatro grupos de la misma edad y cada grupo contó con 50 pollos, en total 200 pollos broilers, los pesos fueron tomados semanalmente y los datos fueron evaluados mediante el diseño completamente al azar, que determinó que no hubo significancia estadística ($P \geq 0.05$). La conversión alimenticia acumulada en el grupo T3 (1.54), fue la mejor, el porcentaje de mortalidad en los 4 grupos fue igual el (0%) respectivamente, finalmente el análisis económico determinó que el grupo T3 obtuvo una mejor utilidad, aplicando la formula resulto el coeficiente de correlación lineal igual 0,9931 lo que representa una correlación positiva alta, se le toma el valor absoluto porque es un caso de conversiones, mientras más baja sea la conversión es mejor la utilidad. Por ello recomienda utilizar Agua de Mar como promotor de crecimiento en pollos de engorde, ya que su utilización nos da un mayor porcentaje de peso, una mejor conversión alimenticia, lo cual se traduce en incremento y mejoras de los parámetros productivos, además son más resistentes a enfermedades por su poder curativo natural (Castillo, 2011).

- Se evaluó la posible toxicidad del agua de mar de Coveñas (costa atlántica colombiana). Materiales y métodos: se incubaron células humanas en agua de mar recogida en Coveñas para determinar fragilidad osmótica de eritrocitos, viabilidad celular y daño en el ADN de linfocitos (ensayo cometa); además, se determinó su capacidad antioxidante. Resultados: los eritrocitos en agua de mar presentaron hemólisis significativamente mayor respecto a la observada en amortiguador PBS

hipertónico de concentración similar (4,3 y 2,8% respectivamente, ($P = 0,00001$); sin embargo, la diferencia de los promedios fue muy pequeña. La viabilidad celular de los linfocitos en agua de mar fue de 95%, similar a la observada en PBS isotónico. Dicha agua de mar tampoco produjo daño en el ADN de linfocitos humanos, según los resultados de los promedios del momento de Olive del ensayo cometa. Tampoco presentó actividad antioxidante ni prooxidante. Conclusiones: según estos ensayos, el agua de mar obtenida en Coveñas presentó bioseguridad para el consumo humano; sin embargo, se deberá evaluar en el futuro la toxicidad de su componente orgánico concentrado y la genotoxicidad en personas que la consuman (Soler *et al.*, 2005).

- Desde el punto de vista biológico se han llevado a cabo diferentes experimentos, en particular la medida de la actividad y de la supervivencia de glóbulos blancos en varios tipos de soluciones salinas. El tiempo de supervivencia de los glóbulos blancos en el agua de mar correctamente preparada es superior al observado en cualquier otro preparado mineral y el único medio en que los glóbulos blancos se han multiplicado. El agua marina actúa como un todo, como una sinergia de todos los minerales, catalizando el metabolismo e induce el equilibrio mineral, regenerando el medio interno y es ahí donde se ve su acción sobre el glóbulo blanco, lo cual favorece la actividad celular y toda la economía del organismo se ve reforzada. Los ámbitos de aplicación incluyen diferentes especialidades médicas, tales como inmunología, obstetricia, pediatría, dermatología, patologías digestivas e infecciosas, neurología, reumatología y estética (Goeb, 2011; Suárez *et al.* 2013)

- Se encontró que en América del Norte se está empleando para corregir diversos problemas de próstata, psoriasis, quemaduras, alopecia, artritis, osteoporosis, bronquitis, asma, gingivitis, problemas gastrointestinales o desequilibrios del sistema nervioso central, entre otras patologías. Incluso se ha demostrado su eficacia para tratar casos de drogodependencia, alcoholismo, hemofilia y como normalizador de las deficiencias nutricionales (Palacin, 2013).
- También se estableció que en Centroamérica es ampliamente utilizada como terapia complementaria en casos de desnutrición, diabetes, hipertensión arterial, problemas menstruales, infecciones y cuadros anémicos, entre otros, con excelentes resultados, reportando en algunos casos que han retirado por completo el medicamento. Es importante agregar que no se le realiza ningún tratamiento físico ni químico al agua recolectada, solo análisis microbiológico en el Ministerio de Salud, donde siempre sale libre de agentes tóxicos y patógenos (Hilari, 2013).
- En América del Sur, Colombia, Venezuela y Ecuador la emplean en centros de medicina complementaria y Dispensarios Marinos; la recomiendan en casos de obesidad, diabetes, hipertensión arterial, trastornos gastrointestinales, infecciones, anemia, estados de cansancio, sinusitis, anorexia o desnutrición. En Europa, España la emplea con éxito en diversas enfermedades y como suplemento nutricional para mejorar el performance de atletas de alta competencia (Di Bernardo, 2014; Pozas y Taragaza, 2012).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de estudio

El presente estudio se realizó en la Estación Experimental Tunshi Área Pecuaria (EETAP); en la Unidad Académica y de Investigación en Bovinos Lecheros, propiedad de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) conducido por la Facultad de Ciencias Pecuarias, ubicada en la vía Pungala kilómetro 12 perteneciente a la parroquia Licto del Cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo-Ecuador, con una altitud de 2754 m.s.n.m. Las coordenadas geográficas son 1°44,8'0" latitud sur y 78°37'0" longitud oeste (SINAT,2018).

3.2. Duración del estudio

El estudio fue realizado entre los meses de julio a octubre del año 2018, período durante el cual se tomaron las muestras de citología uterina mediante la técnica de Cytobrush, se aplicaron los tratamientos con agua marina y antibióticos, el análisis de resultados de estos posts tratamientos.

3.3. Material experimental

3.3.1. De los animales

El número de animales fue determinado por hallazgo, debido a que el hato de vacunos Holstein en producción de la EETAP es de 115, de los cuales 20 animales cumplen con los criterios de inclusión y exclusión, que representan el 17 % de la población, corroborando lo

manifestado por los autores Dubuc, (2011); Leblanc *et al.*, (2002b) los que consideran que de 10% al 20% de vacas pueden presentar un cuadro de endometritis subclínica bajo buenas condiciones de manejo.

A. Criterios de inclusión

- Vacas de raza Holstein entre el segundo y tercer parto,
- Vacas post parto entre 40 a 45 días (Madoz *et al.* 2008).
- Vacas positivas con endometritis subclínica, que fueron evaluadas por la técnica de citología endometrial.

B. Criterios de exclusión

- Vacas que estén recibiendo un tratamiento con antibiótico por cualquier otra enfermedad.
- Vacas primíparas y mayores a tres partos.
- Así como todas aquellas cuyos días post parto sean menores a 21 días y mayores a 60 días.

Tras estos criterios se tomaron 20 vacas diagnosticadas con endometritis subclínica, las cuales fueron asignadas a cada uno de los tratamientos tal como figura en la tabla 1, para identificarlas del resto de animales se les colocó cintas de color rosado y celeste, para el agua marina y antibiótico respectivamente.

Tabla 1: Distribución de vacas según el tratamiento.

	TRATAMIENTO 1	TRATAMIENTO 2	TOTAL
PRODUCTO	ANTIBIOTICO (Tilosina + Sulfametoxipiridazina) 20 mL/3 DÍAS	AGUA MARINA 1000 mL / 1 DÍA	
NÚMERO DE ANIMALES	10	10	20

Fuente: Elaboración propia.

3.4. Manejo de las vacas

3.4.1. Alimentación

En la Unidad Académica y de Investigación en Bovinos Lecheros de la EETAP; el sistema de alimentación estuvo dado bajo las mismas condiciones con un sistema de crianza semi estabulado, el cual se organizó de la siguiente manera:

- Durante cada ordeño (4:00 am y 2:30 pm) en la sala de espera se proporcionó 188g de sal, para posteriormente proporcionarles 2 Kg de alimento balanceado con un 16 % de proteína total y 2950 kcal/Kg de ración en la sala de ordeño.
- Una vez concluido el ordeño las vacas son pastoreadas durante 8 horas y media; desde las 6:00 am hasta las 2:30 pm aproximadamente, en potreros de pastos cultivados, algunos de la asociación alfalfa (*Medicago sativa*), rye grass (*Lolium multiflorum*), pasto azul (*Dactylis glomerata*), trébol blanco (*Trifolium repens*) y kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) el cual

corresponde aún 60% leguminosas y 40% gramíneas, durante todo el año.

- Finalizado el ordeño se administra suplemento alimenticio, un aproximado de 9.5 Kg de ensilado o cancha picada de maíz (*Zea maíz*) durante época de lluvias, y en época seca hasta 20 kg por día.
- En cuanto al consumo de agua, las vacas en producción tuvieron acceso de agua *ad libitum*.

3.4.2. Reproducción

El manejo reproductivo fue en base a inseminación artificial, usando toros registrados de la raza Holstein.

La detección del estro se realizó por el método de observación directa, realizado por personal capacitado.

3.4.3. Sanidad

Antes del parto, las vacas fueron llevadas al corral de maternidad para realizarse el seguimiento obstétrico para que posterior a este, se realice en paralelo tanto en la madre como en la cría, a la madre se aplica una solución inyectable de calcio, fosforo y magnesio vía intraperitoneal y en la cría la desinfección del ombligo.

El personal estuvo al tanto si el total de la placenta fue expulsada.

Los terneros permanecieron con su madre 24 horas. Durante este tiempo a las madres se les extrae el calostro o se les da de mamar a los terneros en los corrales de maternidad con condiciones de

higiene aceptables. Los partos espontáneos se dieron en los potreros de pastoreo, los partos distócicos reciben asistencia con cuerdas obstétricas (sogas) y manos de los operadores limpias.

3.5. Materiales

3.5.1. Materiales e Insumos para la toma de muestra citológica.

- Pistola de inseminación
- Citocepillos (Cytobrush)
- Guantes Ginecológicos
- Guantes de exploración
- Amonio cuaternario
- Camisetas sanitarias
- Catéter de inseminación

3.5.2. Materiales e insumos para la tinción y observación de neutrófilos.

- Porta objetos
- Cubre objetos
- Colorante Giemsa
- Fosfato buffer salino (PBS)
- Alcohol metílico 90 %
- Agua destilada
- Puente de coloración
- Goteros
- Aceite de inmersión

3.5.3. Materiales e insumos para la Técnica Aorta abdominal.

- Agujas hipodérmicas N° 18G x 1½'
- Agujas hipodérmicas N° 16G x ½'
- Aguja para punción Aorta abdominal N° 16G x 20 cm
- Jeringas de 10mL, 20mL y 100mL
- Lidocaína 2 %
- Ts2 (Tilosina + Sulfametoxipiridazina)
- Agua marina (Microfiltrata en placas de cerámico)
- Hoja de afeitar
- Tijera

3.5.4. Otros materiales

- Jabón carbólico
- Papel toalla
- Cámara fotográfica
- Formato de registros de evaluación
- Botas
- Mameluco
- Marcador indeleble

3.5.5. Equipos

- Microscopio óptico biocular.

3.6. Metodología

3.6.1. Diagnóstico de endometritis subclínica

Para el diagnóstico, se realizó la técnica de citología endometrial por el método de Cytobrush en todas las vacas que mostraron estar

entre 40 a 45 días post parto, siendo ellas 65 vacas, de las cuales 20 resultaron ser positivas a la endometritis subclínica, tal como se detalla a continuación.

A. Toma de muestras de citología endometrial: Técnica del citocepillo (*Cytobrush*)

Para realizar la técnica se adaptó el protocolo desarrollado por Kasimanickam *et al.* (2004) el que se describe a continuación:

a) Preparación del *Cytobrush*-citocepillo

- Se utilizaron cepillos para citología endometrial de uso humano, sin ser retirados de su envoltura original para evitar contaminación, se recortaron a 3 cm de longitud.
- Estos fueron acoplados a la parte posterior del mandril de la pistola de inseminación artificial, se hizo coincidir el extremo cortado del cepillo con la punta del mandril y por presión suave se insertó en el mismo.
- Una vez fijado el cepillo a la punta del mandril, se insertó el conjunto dentro de del catéter de inseminación artificial y se cubrió con una camiseta sanitaria, quedando lista para ser utilizada.

b) Preparación del animal para el muestreo

- Para la toma de muestra se colocó a la vaca en el brete de sujeción.
- Con la mano enguantada y debidamente lubricada se procedió con la evacuación de las heces del recto del animal.

- Se realizó la higiene y desinfección de la región perianal con abundante agua con amonio cuaternario y secada posteriormente con papel toalla.

c) Toma de muestra con *Cytobrush*-citocepillo

- Con la mano cubierta por un guante obstétrico y debidamente lubricado, se introdujo la mano suavemente por el recto del animal, para realizar la palpación de tracto reproductivo.
- Seguidamente para la toma de muestras, se introdujo el citocepillo preparado, por la vagina del animal, una vez que el extremo anterior del citocepillo se puso en contacto con el primer anillo de la cervix se retiró la camiseta sanitaria por tracción simple en sentido contrario, se hizo pasar el dispositivo a través de la cervix, una vez en la luz del cuerpo del útero se liberó el citocepillo de la funda de inseminación artificial, para poder realizar una rotación sobre la pared uterina en el sentido de las agujas del reloj, con la finalidad de que los bordes del cepillo tomarán las células del epitelio uterino, terminado el procedimiento se introdujo nuevamente el cepillo dentro de la funda de inseminación artificial y se retiró del tracto reproductivo del animal.
- Una vez obtenida la muestra de las citologías endometriales, éstas se procesaron en el laboratorio de salud animal de la EETAP, y la realización de la coloración con Giemsa.
- Después de 20 días de post tratamiento se volvió a realizar la toma de muestras mediante la técnica de Cytobrush, a fin de

confirmar la respuesta al tratamiento 1 (con antibióticos) y al tratamiento 2 (con agua marina).

B. Tinción de muestras de citología uterina con Giemsa

- Se volvió a exponer la muestra obtenida en el citocepillo y se hizo un frotis muy suavemente sobre la lámina porta objetos.
- Se dejó secar la lámina al medio ambiente, una vez secas las láminas estas fueron fijadas con alcohol metílico al 90 % y lavadas con agua destilada transcurrido tres minutos.
- Seguidamente se cubrió la muestra con la ayuda de un gotero, primero el colorante Giemsa sin diluir 3 mL, luego agua destilada 1mL, se mezcló con la ayuda del gotero muy suavemente hasta que se forme una escarcha metálica, se dejó actuar esta coloración durante 20 minutos; ya que este fue el tiempo de mejores resultados que se obtuvieron, luego de varios pre ensayos, los tiempos pueden variar de acuerdo al que procesa las muestras y la maduración del colorante exactamente que van de 15 minutos hasta una hora (Lynch *et al.*, 1987).
- Seguidamente se lavó la placa con agua destilada, hasta que se retire el exceso de colorante.
- Se adicionó 2 mL de PBS (Fosfato buffer salino) de pH 7, con el fin de preservar las características normales de las células, se decantó luego de un minuto para ser secadas al medio ambiente en posición vertical.

- Se colocó una gota de aceite de inmersión y se arrebujo con un cubre objetos, finalmente las muestras fueron rotuladas con el número de arete de cada vaca, para culminar con su posterior lectura en el microscopio óptico.

C. Evaluación de las láminas

La lectura de las láminas se realizó haciendo uso de un microscopio óptico con el procedimiento siguiente:

- Las láminas fueron colocadas en la platina del microscopio, se ubicó al azar el campo de lectura utilizando el objetivo de menor potencia (10X).
- Una vez fijado el campo, se utilizó el objetivo de 40X para realizar la lectura de la lámina.
- La lectura consistió en evaluar 100 células, entre células epiteliales y polimorfo nucleares-neutrófilos. La determinación del porcentaje de polimorfonucleares- neutrófilos fue sobre el total de células contadas (%PMNN). Según este porcentaje y la cantidad de días postparto que tiene la vaca, se clasificó a las hembras en positivas o negativas a Endometritis subclínica.

Con la siguiente fórmula:

$$\%PMNN = \frac{\text{Número de PMNN}}{\text{TCC}} * 100$$

Donde:

%PMNN : Porcentaje de Polimorfonucleares-Neutrófilos

Número de PMNN : Cantidad de Polimorfos nucleares Neutrófilos presentes en la preparación.

TCC : Total de Células Contadas (100 Células Epiteliales y PMNN)

D. Interpretación de resultados

Para la interpretación de resultados se consideró uno de los rangos establecidos por Madoz *et al.* (2008), menciona que entre los días 40 a 60, la cantidad para declarar positiva con endometritis subclínica a una vaca es de >4 % de polimorfo nucleares-neutrófilos, en el estudio se tomaron los días entre 40 y 45 que entra dentro de los parámetros descritos.

Tabla 2: Días post parto y % de polimorfonucleares neutrófilos

DÍAS POST PARTO (DPP)	% POLIMORFONUCLEARES-NEUTROFILOS (%PMNN)
De 40 a 45 días	>4%

Fuente: Adaptado de (Madoz *et al.* ,2008)

3.6.2. De los tratamientos

Se utilizaron dos tratamientos ambos fueron administrados por la misma vía aorta abdominal.

A. Tratamiento 1

Conformado por 10 vacas diagnosticadas con Endometritis Subclínica, a las cuales se les administró 20 mL de Tilosina + Sulfametoxipiridazina que equivale a 4000mg y 800mg respectivamente durante tres días cada 24 horas, por vía aorta

abdominal. La dosis fue la misma para todas las vacas de este grupo.

B. Tratamiento 2

Conformado por 10 vacas diagnosticadas con Endometritis Subclínica, a las cuales se les administro con 1000 mL de agua marina a dosis única por vía aorta abdominal.

La dosis administrada, fue en base de ensayos piloto realizados por los técnicos de la EETAP, probando que la dosis de 1000 mL obtuvo buenos resultados.

- El agua de mar fue recolectada desde una embarcación, entre los 200 m y 1,000 m de la costa (mar adentro), se recolectaron en bidones plástico estéril de 1 galón, se procedió a rellenar cada uno de ellos a una profundidad de 10m y se cerraron inmediatamente.
- Posteriormente el agua fue micro filtrada en placas de cerámica en la Empresa Esencia Marina.
- El agua de mar se mantuvo almacenada en envases de vidrio del color ámbar a fin de mantener sus propiedades.
- El agua de mar debidamente tratada (hipertónica), fue adquirida de la Empresa Esencia Marina con registro sanitario vigente, para su utilización en el tratamiento de la endometritis subclínica.

VIA DE ADMINISTRACIÓN AORTA ABDOMINAL O AORTO PUNCIÓN

Procedimiento:

- Se colocó a la vaca en el brete, para distraerlas se le proporciono alimento balanceado en un recipiente.
- Se ubicó la zona de punción en el lado izquierdo del animal, guiandonos por las apófisis transversas y apófisis espinosas de las vértebras 1 y 2 lumbares, en el medio de ellas se ubica un espacio vacío el cual indica el sitio de punción aorta abdominal.
- Luego se realizó la tricotomía y el rasurado de la zona de punción, seguidamente se realizó la antisepsia con alcohol yodado al 2%.
- Se administró 5 mL de lidocaína 2% que equivale a 100mg en la zona de punción, para luego de 5 minutos hacer una perforación en la piel con la aguja N° 16 G x 1/2.
- Seguidamente se introdujo la aguja aorta-abdominal entre el espacio de la punta de las apófisis espinosas y las apófisis transversas de la 1ra y 2da vértebra lumbar seleccionada.
- La aguja para punción aorta abdominal N° 16G x 20 cm se introdujo en el espacio donde se perforo la piel con la aguja N° 16G x 1/2, esta se dirigió oblicuamente en un ángulo aproximado de 25 a 30 grados a razón del cuerpo, pasando sagitalmente la aguja por la vértebra se consigue realizar la punción en la aorta abdominal, cuando la punción se hace correctamente, por la aguja brota un chorro pulsante de sangre.

- Posteriormente a la aguja se le acopló una jeringa de 20 mL y de 100 mL, para el antibiótico y agua marina respectivamente, se le inyectó a presión y lentamente el antibiótico y el agua marina respectivamente.
- Una vez administrado el antibiótico y agua marina en cada grupo de tratamiento, se retiró la aguja lentamente, para luego hacer un ligero masaje en la zona de punción.
- Finalmente se lavó la zona de punción con abundante agua y se realizó la desinfección con alcohol yodado al 2%.

3.6.3. Análisis estadístico

Los datos fueron procesados utilizando el programa IBM SPSS Statistics versión 22, comparando las medias intragrupo y las medias entre grupos, se empleó la prueba estadística de la T de Student, para muestras relacionadas y para muestras independientes.

a) T de Student para muestras relacionadas:

$$t = \frac{\bar{d}}{\frac{\sigma_d}{\sqrt{N}}}$$

Donde:

t: Valor estadístico del procedimiento.

\bar{d} : Valor promedio o media aritmetica de las diferencias entre los momentos antes y después.

σd : Desviación estándar de las diferencias entre los momentos antes y después.

N: Tamaño de la muestra.

b) T de Student para muestras independientes:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sigma_{x_1x_2} \cdot \sqrt{\frac{2}{N}}}$$

Donde:

T: Valor estadístico del procedimiento.

$\bar{X}_1 - \bar{X}_2$: Valor promedio o media aritmética de las diferencias entre el grupo del atibiótico y el grupo de agua marina.

$\sigma_{x_1x_2}$: Desviación estándar combinada del antibiotico y del agua marina.

N: Tamaño de la muestra.

La eficacia de los tratamientos fue considerada con un nivel de significancia de $p < 0.05$.

3.6.4. Viabilidad económica

Para el tratamiento 1, se administró 60 mL de antibiótico (TS2) en tres dosis cada 24 horas con un costo de 3.23 dólares por dosis.

Para el tratamiento 2, se administró agua marina en una única dosis de 1000 mL con un costo de 4.41 dólares.

Se hizo el registro de la producción de leche de todas las vacas que se sometieron al tratamiento 1 y 2, tomando en cuenta el inicio del tratamiento y los 20 días post tratamiento, en el caso del grupo 1

(tratamiento con antibiótico) se registró los 7 días de retiro de leche,
se consideró el costo por litro 0.35 dólares.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Diagnóstico de endometritis subclínica en vacas Holstein, mediante el uso de Cytobrush.

Tabla 3: Porcentaje de PMN-N en vacas Holstein con endometritis subclínica de la EETAP - 2018.

n	Promedio	D.S	VALORES EXTREMOS
	Recuento de PMN-N		
20	8.35	1.9	6.00 - 13.00

n = Número de muestras

D.S. = Desviación Estándar

Fuente : Base de datos de la investigación

En la tabla 3, se pueden apreciar los resultados obtenidos del porcentaje de neutrófilos encontrados al realizar la lectura de las láminas que contenían las muestras citológicas obtenidas haciendo uso de la técnica de citocepillo. El promedio general enfocado en porcentaje de neutrófilos hallados, demostrando que todos los objetos de estudio son positivos a endometritis subclínica, las observaciones realizadas son similares a las descritas por Kasimanickam *et al.*, (2004), Sheldon *et al.*, (2006) y Madoz *et al.*, (2008), quienes consideran a una muestra positiva cuando el número de PMN-N es superior al 5%. La información vertida es similar a la descrita por Barlund *et al.* (2008), que evaluaron la efectividad de esta técnica de diagnóstico, en un estudio realizado en vacas, y menciona que la técnica de citocepillo es el método más preciso para el diagnóstico de endometritis, debido a que se obtiene no sólo un mayor número de células sino también muy bien preservadas en cada muestra, lo que hace de ésta una prueba de gran confianza y de resultados repetibles, tanto para tomar de cérvix y de pared uterina, este mismo hecho se realizó en las vacas que se

sometieron a estudio, en el cual la técnica de Cytobrush, la consideramos como una de las alternativas más confiables para la detección de enfermedades subclínica en vacas a los 40 y 45 días post parto.

Según Gilbert (2008), manifiesta que el problema de la endometritis subclínica no radica en la infección, sino en el mal diagnóstico, lo que provoca en la mayoría de los casos el mal tratamiento, por ello en el presente estudio se realizó la técnica del Cytobrush que mostró ser la técnica más confiable ya que muestra una sensibilidad de 95% (Rutter, 2015), en este diagnóstico, a fin de realizar el tratamiento con antibióticos y el agua marina. Por otro lado, la endometritis subclínica incrementa la respuesta inflamatoria, incrementando la función de los neutrófilos (Sheldon, 2004; Gilbert, 2008), tal como se obtuvo en las vacas que mostraron endometritis subclínica al realizar la técnica del Cytobrush, ya que los PMN son la primera barrera de defensa ante la invasión bacteriana, a pesar que la capacidad funcional de los PMN se encuentra reducida en el post parto de muchas hembras, que esta disminución puede favorecer y predisponer al establecimiento de afecciones uterinas subclínicas (Barlund *et al.*, 2008), es probable que en las vacas que se sometieron al diagnóstico de la endometritis subclínica se esté presentando esta misma característica, es por ello que se tuvo un promedio considerable de PMN en las vacas diagnosticadas con endometritis subclínica, ya que la inflamación de la endometritis necesita para poder ser diagnosticada de algún método complementario como el análisis citológico (Barlund *et al.*, 2008), en la investigación se realizó mediante el examen citológico del

Cytobrush que fue una técnica confiable y de seguridad en el diagnóstico de la endometritis subclínica.

Cabe indicar que, Dellmann y Brown (1993), mencionan que la capa superficial del endometrio posee un epitelio cilíndrico simple y/o cilíndrico pseudoestratificado, pudiendo llegar a ser cúbico en zonas aisladas, las mismas que fueron encontradas en el frotis coloreado con Giemsa, que en ella se encontraron células epiteliales las cuales vendrían a ser respuesta al proceso inflamatorio, por lo tanto 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 (Sheldon, 2004), igualmente Rodríguez Martínez (2007), indican que un mecanismo fisiológico de defensa es el aumento en el nivel de anticuerpos celulares por ello en el estudio encontramos presencia de PMN-N que representan un mecanismo de defensa frente al proceso inicial o agudo de la endometritis subclínica, es menester indicar que según Kasimanickam *et al.*, (2004), las muestras obtenidas por citocepillo se pueden colorear utilizando la tinción Giemsa, y es la misma coloración que se aplicó después de obtenida las muestras por el Cytobrush en el estudio.

Concordando con lo que manifiesta Gilbert *et al.* (2005), mencionan que después de 20 días pp el 40% de las vacas desarrollan endometritis subclínicas incluso en los 60 días posteriores al periodo post parto, lo que

se asemeja con los resultados obtenidos con el uso de la técnica del Cytobrush donde diagnosticamos al 17% de la población positiva a endometritis subclínica entre los días 40 y 45 post parto en las vacas Holstein, este mismo autor, Gilbert (2008) y Madoz *et al.*, (2008), concuerdan en que la endometritis subclínica está definida como el hallazgo de una cantidad de neutrófilos mayor al 18% en muestras citológicas colectadas del útero entre los 21 y 33 días posparto o una proporción de neutrófilos mayor a 4% en muestras colectadas entre los 40 y 60 días posparto, los resultados obtenidos en la investigación fueron a los 40 y 45 días post parto indistintamente, en las que se diagnosticó en forma eficaz la endometritis subclínica en las vacas de la raza Holstein, este tiempo se asemejan al rango de 40 y 60 días.

Cabe recalcar, que la técnica de Cytobrush 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 de la mucosa endometrial (Kasimanickam *et al.*, 2005), por esta razón fue utilizada en el trabajo de investigación, por qué es de fácil realización y es una técnica muy confiable para la determinación de la endometritis subclínica en las vacas que se sometieron a estudio, y 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 *et al.*, 2009), esta fue la misma forma en que obtuvimos el diagnóstico de

endometritis subclínica en las vacas diagnosticadas con esta alteración inflamatoria del útero.

Es importante poder determinar que el útero está infectado para instaurar un tratamiento precoz y poder asegurar un acortamiento del intervalo parto gestación y así lograr el objetivo de una lactancia y un ternero por año (Rutter, 2015) a partir del diagnóstico es posible aplicar los tratamientos que faciliten una recuperación adecuada del proceso inflamatorio de la endometritis subclínica.

4.2. Efecto del agua marina y antibiótico en sus respectivos grupos.

A. Efecto del agua marina en el tratamiento de la endometritis subclínica.

Tabla 4: Evaluación del efecto del agua marina en el tratamiento de la endometritis subclínica en vacas Holstein – 2018.

Tratamiento	n	Promedio D. S. Recuento de PMN-N	E.E.	Valor de “P”
Inicio	10	7.9 ± 1.969	0.623	P≤0.05
Final		1 ± 1.333	0.422	

n = Número de muestras
D.S. = Desviación Estándar
E.E. = Error experimental
P = Probabilidad

En la tabla 4, se muestran los resultados del efecto que tiene el agua marina sobre el recuento (%) de PMN-N a través de la prueba de Cytobrush, se observa el promedio y la media del error estándar del porcentaje de PMN - N de las vacas diagnosticadas con endometritis subclínica.

Se encontró promedios superiores al 4% el cual indica la presencia de endometritis subclínica (7.9%), y valores inferiores al 4% en la fase final del tratamiento el cual indica que el proceso inflamatorio de la endometritis con el tratamiento del agua marina tuvo resultados satisfactorios.

De estos resultados se deduce, que posterior al tratamiento con agua marina por vía aorta abdominal, se muestra una disminución en el promedio de PMN-N, los vacunos que experimentaron este tratamiento, tuvieron una reducción de neutrófilos significativa ($P \leq 0.05$), en el cual solo se hizo una sola aplicación de este tratamiento alternativo como es el agua marina, cabe indicar que el puerperio normal es un proceso indiscutiblemente de carácter séptico durante el cual el útero está sujeto a sufrir infecciones por el ingreso de diversos patógenos, sin embargo las infecciones tienden a ser autolimitantes y la presencia y duración depende de factores tales como estado inmunológico de los animales, patogenicidad de los organismos involucrados, retención de membranas fetales, infecciones secundarias, partos distócicos y presencia de enfermedades metabólicas (Markusfeld, 2001), es probable que estos factores también se hayan encontrado en las vacas que se sometieron al tratamiento de la endometritis subclínica.

En general, cualquier condición que altere la inmunidad posparto, como por ejemplo la administración de progesterona o glucocorticoides, se convierte en un factor predisponente a la presencia del proceso inflamatorio del endometrio de las vacas (Dobson, 2006), es así que la infección uterina bacteriana depende en parte de la situación endócrina; en particular la progesterona actúa como supresor de las defensas inmunitarias uterinas.

La formación del primer cuerpo lúteo luego del parto y el incremento de progesterona precede al surgimiento de la enfermedad uterina (Leblanc, 2002), frente a este punto cabe indicar que la disminución de la respuesta inmune ya sea humoral o celular, se comportan como factores que involucran el proceso inflamatorio del endometrio, que estas al estar relacionadas con otros factores se puede desencadenar la enfermedad, tal como lo obtuvimos en la presente investigación, que de 20 vacas diagnosticadas todas mostraron PMN-N elevados, el cual indica la presencia del proceso inflamatorio del endometrio.

La inmunidad innata de los neutrófilos es la respuesta primaria en el útero y es la principal defensa del proceso inflamatorio especialmente en el útero (endometrio), que estas presentan agregación neutrofílica por la presencia de enzimas proteolíticas como son la citosinas, que estas últimas son mediadoras para la migración de neutrófilos en los tejidos lesionados por procesos inflamatorios como es el útero en la endometritis subclínica, por lo tanto la inflamación y la infección del endometrio retrasan la involución uterina normal; esta es la causa principal de alteraciones en los índices reproductivos (Palmer, 2006), que al realizar el tratamiento adecuado, se presenta resolución del proceso inflamatorio, el agua marina fue uno de los indicados para el tratamiento de la endometritis subclínica en las vacas que se sometieron a estudio, que una de las ventajas fue que se aplicó una sola dosis y por vía aorta abdominal, que la vías de aplicación, y el tratamiento alternativo con el agua marina, la enfermedad adquiere un curso favorable al mejorar la circulación sanguínea, el metabolismo general e intracelular, disminuir la permeabilidad capilar, activarse el sistema de fagocitosis de

mononucleares, las reacciones inmunológicas y otros aspectos relacionados con la defensa del organismo, logrando una recuperación del estado general del animal, la aorto punción con agua marina, se practicó en las vacas que se sometieron a estudio con fines terapéuticos, sin considerar las diferentes patologías de los órganos de endometritis subclínica, estando de acuerdo con lo que manifiesta Gontarenko,(1969); Rizo *et al.*, (1981), ya que las vacas a las que se practicó el tratamiento con agua marina, tuvieron resultados satisfactorios por ser una vía específica para el tratamiento de la endometritis subclínica e incluso para el tratamiento de alteraciones infecciosas a nivel pélvico.

Se debe reiterar que el agua marina es considerado como antibiótico y a la vez es bactericida hasta 72 horas después de aplicarse por vía sistémica, impide la proliferación bacteriana, eliminando las bacterias nocivas y conservando las bacterias benéficas, algo que no pueden hacer los antibióticos químico farmacéuticos Goeb (2011), por lo que los oligoelementos que se encuentran en el agua de mar, afectan al conjunto de ciclos metabólicos, generales y específicos, por ejemplo, modificando las estructuras, las secreciones hormonales y la producción de anticuerpos, así mismo los minerales marinos tienen una biodisponibilidad excepcional, el agua marina contiene los 92 elementos utilizados por el metabolismo, de una forma completa, equilibrada y asimilable (Gracia, 2001), que al realizar el tratamiento de la endometritis subclínica con este líquido elemento marino se tuvo resultados buenos ya que la respuesta al tratamiento fue medido por la presencia de los PMN-N.

La dinamización de los elementos marinos y la calidad de su presencia es determinante en la regeneración celular, renovando el medio interno e induciendo el equilibrio mineral, y contribuye a reforzar el equilibrio del organismo (Goeb, 2011), que esta característica se estaría dando al administrar agua marina en el tratamiento de la endometritis subclínica en las vacas que se sometieron a estudio, por lo tanto el agua marina en solución hipertónica, viene determinada por la similitud de las causas, no de los síntomas, así interviene en los mecanismos que se encuentran en diferentes procesos patológicos (inflamación, infección) por el aspecto funcional de los oligoelementos.

En cuanto a las propiedades del agua marina, los iones también pueden tener una función reguladora, en particular en las reacciones donde el ATP sirve de sustrato. Más allá de la simple recarga mineral para la que es muy eficaz, el agua marina tiene un impacto funcional considerable, reúne el conjunto de aspectos para una actividad óptima de los oligoelementos en el organismo, esta estaría contribuyendo a la regeneración celular en el tratamiento de la endometritis, el cual tuvo buenos resultados de resolución del proceso inflamatorio del endometrio en las vacas que se sometieron a estudio, ya que ciertos oligoelementos tienen una función fundamental en los mecanismos celulares que regulan los procesos inmunitarios, actúan en el nivel de la actividad citotóxica macrofágica y de la función inmunomoduladora.

El agua marina también es un elemento líquido que interviene en el desencadenamiento de las defensas inmunitarias humoral y celular

(fagocitosis) aumenta las necesidades de ciertos elementos implicados en la lucha contra la destrucción celular, por lo que diversos oligoelementos están implicados en este proceso como cobre, zinc, selenio, manganeso e intervendrán a diferentes niveles, sea modificando el auto mantenimiento del sistema proinflamatorio o impulsando la acción antiinflamatoria. En general, la intensidad de la respuesta está correlacionada con la capacidad de activación local de las reacciones de defensa como: la secreción de citoquinas (participan Cu y Zn); la liberación de mediadores lipídicos (participa Se); la producción de radicales libres oxigenados (participan Cu, Zn, Mn y Se) (Goeb, 2011), estando de acuerdo con lo que indica este autor, en la que las propiedades del agua marina tienen respuesta inmunológica en el tratamiento de la endometritis subclínica, tal como se reportó en las vacas que fueron estudiadas en esta investigación. el estudio sucinto del proceso inflamatorio muestra de nuevo la importancia de los circuitos de regulación y del mantenimiento de la homeostasis, un complejo conjunto de reacciones encuentra ahí su equilibrio en función de la acción relativa de diversos oligoelementos. Estos fenómenos subrayan la importancia de un aporte equilibrante como el del agua marina, además, éste constituye un factor de modificación del terreno necesario en los tratamientos de las patologías inflamatorias agudas y crónicas (Goeb, 2011).

Comparando con investigaciones realizadas con agua marina, se menciona que los modelos experimentales bajo ingesta de agua de mar con relación al grupo sin agua de mar, independiente del tipo de anemia inducida, evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) con

restablecimiento de los parámetros hematológicos, el agua de mar isotónica resultó útil como terapia complementaria en los modelos experimentales, en casos de anemias causadas por dietas pobres en proteínas, vitaminas y minerales, y desencadenadas por medicamentos (Di Bernardo, 2014), a diferencia que en el tratamiento de la endometritis se utilizó solución hipertónica y por vía aorta abdominal el cual tuvo resultados alentadores en el tratamiento de la endometritis subclínica.

Al evaluar la toxicidad del agua de mar, a fin de determinar la fragilidad osmótica de los eritrocitos, viabilidad celular y daño en el ADN de los linfocitos y la determinación de la capacidad antioxidante ni prooxidante, no presentaron hemólisis significativa, viabilidad celular de linfocitos en un 95%, y no hay daño del ADN en linfocitos, que según estos ensayos, el agua de mar presentó bioseguridad para el consumo humano (Soler *et al.*, 2005), que al administrar en vacas con presencia de endometritis subclínica, no se mostró toxicidad alguna después del tratamiento aorta abdominal.

El agua marina actúa como un todo, como una sinergia de todos los minerales, catalizando el metabolismo e induce el equilibrio mineral, regenerando el medio interno y es ahí donde se ve su acción sobre el glóbulo blanco, lo cual favorece la actividad celular y toda la economía del organismo se ve reforzada. Los ámbitos de aplicación incluyen diferentes especialidades médicas, tales como inmunología, obstetricia, pediatría, dermatología, patologías digestivas e infecciosas, neurología, reumatología y estética (Goeb, 2011; Suárez *et al.* 2013), coincidiendo con estos autores ya que el tratamiento de la endometritis subclínica en las vacas de la raza

Holstein y con procesos inflamatorios dentro de los 40 a 45 días post parto, mostraron tener efectividad terapéutica y antiinflamatoria en la que el 100% de los animales que recibieron este tratamiento.

B. Efecto del antibiótico en el tratamiento de la endometritis subclínica.

Tabla 5: Evaluación del efecto de la asociación tilosina + sulfametoxipiridazina, en el tratamiento de la endometritis subclínica en vacas Holstein – 2018.

Tratamiento	N	Promedio D.S. Recuento de PMN-N	E.E.	Valor de "p"
Inicio	10	8.8 ± 1.932	0.611	P≤0.05
Final		2.1 ± 1.449	0.458	

En la tabla 5, se muestran los resultados de porcentaje de PMN-N en muestras obtenidas de vacas Holstein diagnosticadas con endometritis subclínica y posteriormente tratadas con la asociación de un macrólido más una sulfonamida (tilosina + sulfametoxipiridazina), donde es posible observar que antes del tratamiento este grupo presentó promedios considerables de PMN-N, que después del tratamiento con antibióticos, hay una disminución notable de los PMN-N, mostrando una diferencia significativa ($P < 0.05$).

El útero de todas las vacas se contamina con bacterias después del parto, pero esto no implica necesariamente infección, ni desarrollo de enfermedad uterina (Lewis, 2007), los PMN son la primera barrera de defensa ante la invasión bacteriana. Estas células con capacidad fagocítica, son reclutadas desde la circulación periférica hacia la luz uterina para fagocitar a las

bacterias tratando así de controlar la invasión bacteriana (Barlund *et al.*, 2008), que cualquier alteración que se presente sobre estos mecanismos, conlleva al proceso inflamatorio del endometrio, tal como se diagnosticó en las vacas que se sometieron a estudio mediante la técnica de Cytobrush, siendo este método efectivo para el diagnóstico de las endometritis subclínicas, así como es interesante su utilización en vacas repetidoras para un diagnóstico de presencia de anidaciones bacterianas que es una de las causas de repetición del ciclo estral. Es importante poder determinar que el útero está infectado para instaurar un tratamiento precoz (Rutter, 2015), por ello que la técnica del Cytobrush, fue la más confiable para el diagnóstico de la endometritis subclínica en las vacas en estudio.

Cabe indicar que al realizar el tratamiento con antibióticos en las vacas que presentaron endometritis subclínica fue la aorta punción, que se practicó con tres repeticiones cada 24 horas, que fueron con fines terapéuticos, para el tratamiento de la endometritis subclínica (Gontarenko, 1969; Rizo *et al.*, 1981), las vacas fueron evaluadas antes de realizar el tratamiento con antibióticos, considerando que un antibiótico debe tener una elevada actividad antimicrobiana, eficaz y selectiva además las características farmacocinéticas deben proporcionar valores en los lugares de acción altos, y ser mantenidos durante tiempos largos, reunir todas las características en una única sustancia, es prácticamente imposible, por lo que se recurre a combinaciones de antimicrobianos para mejorar la efectividad de los tratamientos (Löscher, 1994), en el trabajo de investigación de uso la asociación de tilosina más sulfametoxipiridazina, administrada por vía aorta

abdominal, puesto que solo se consideró la presencia de los PMN – N y mas no el agente etiológico del proceso inflamatorio.

La razón por la que se utilizó la combinación de estos fármacos en el tratamiento de la endometritis subclínica en las vacas Holstein, es que los macrólidos son activos frente a la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias “gram positivas” y mínima en bacterias “gram negativas”, están indicados en el tratamiento de metritis (Occhi, 2012), y la tilosina, tiene una acción esencialmente bacteriostática frente a bacterias Gram-positivas y algunas Gram-negativas, así como otros organismos como micoplasma, espiroquetas, clamidia y rickettsia (Nieto, 2016), por lo tanto los macrólidos penetran rápidamente a la leche por su afinidad a células epiteliales y alcanza concentraciones altas, su elevado volumen de distribución es la prueba más clara de su gran penetrabilidad tisular, y tienen una fuerte interacción con fagocitos (monocitos, macrófagos y neutrófilos de sangre, pulmón y glándula mamaria), ya que el fármaco se concentra en grandes cantidades en las células más que en el plasma (Madigan, 2003) y las sulfonamidas inhiben las bacterias “gram negativas” y “gram positivas”, algunas Clamidias, *Nocardia*, *Actinomyces spp*, y diversos protozoos. Las sulfamidas más activas pueden actuar frente varias especies de *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Pasteurella* e incluso *Escherichia coli.*, se usan normalmente para tratar metritis (Merck y Co, 2000), la sulfametoxipiridazina es de acción retardada, por lo que ayuda en su combinación con otros antibióticos (Nieto, 2016) a parte que las sulfonamidas atraviesan la glándula mamaria. Pequeñas cantidades son eliminadas por las heces, bilis y leche, el 40 al 60% de la dosis total

administrada es eliminada por la orina y aproximadamente el 0.5 a 2 % en la leche (F.W, 2000), esta es la razón por la que se realizó la combinación de estos fármacos en el tratamiento de la endometritis subclínica en los animales que se sometieron a estudio, de las cuales se tuvo resultados buenos en cuanto al tratamiento de la endometritis subclínica de las vacas.

El tratamiento con antibióticos para la endometritis subclínica, tuvo buenos resultados, el inconveniente es que, este tipo de tratamiento resulto ser caro, que demanda mayor mano de obra por tener que realizarse el tratamiento por tres veces consecutivas cada 24 horas y, además, que se tiene que descartar la producción de leche por el tiempo de retiro que muestra estas drogas.

4.3. Comparación del efecto del agua marina y efecto del antibiótico en el tratamiento de la endometritis subclínica.

Tabla 6: Evaluación del agua marina y tilosina + sulfametoxipiridazina al final del tratamiento de la endometritis subclínica de vacas Holstein – 2018.

Tratamiento	n	Promedio D.S. Recuento de PMN-N	E.E.	Valor de “p”
Agua marina	10	1 ± 1.33	0.422	P>0.05
Antibióticos	10	2.1 ± 1.449	0.458	

En la tabla 6, se puede apreciar el porcentaje de PMN-N en vacas Holstein diagnosticadas con endometritis subclínica tratadas con agua marina donde es notable la disminución de PMN - N, igualmente se observa disminución de PMN – N en el grupo control de vacas tratadas con la asociación de un macrólido más una sulfa (tilosina + sulfametoxipiridazina),

estas medias estadísticamente no mostraron diferencia significativa ($P > 0.05$).

En el presente diagrama de cajas se observa, que no hay diferencia significativa ($P \geq 0.05$), ambos tratamientos de antibiótico y agua marina tienen el mismo efecto reduciendo los PMN-N.

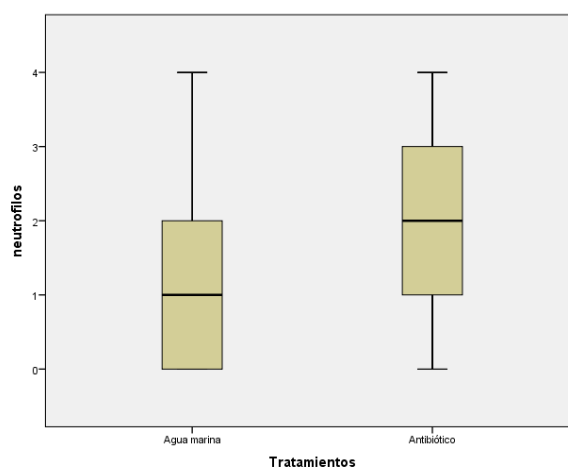


Figura 2: Diferencia de medias entre el grupo control y alternativo post tratamiento.

Viendo la efectividad del tratamiento de los antibióticos con el agua marina, y al no existir autores sobre el tratamiento de la endometritis, consideramos el tratamiento de la mastitis, en la que los tratamientos I (agua de mar 5mL) y III agua de mar 10mL) presentaron los mejores resultados en el control de la mastitis bovina con agua de mar 5mL alcanzó su efectividad a los 14 días con un 100% y, el tratamiento III con agua de mar 10mL alcanzó su efectividad a los 21 días con un 100%. En tanto, para el tratamiento II con antibiótico no se observó efectividad en el transcurrir de las 8 semanas analizadas (Solís, 2007), no estando de acuerdo con este autor puesto que con el tratamiento con antibióticos no

se mostró efectividad alguna, a diferencia que en el tratamiento de la endometritis la efectividad fue con el uso de los antibióticos y el agua marina.

Se evaluó el efecto de la utilización de la solución hipertónica (agua de mar) en el tratamiento de la mastitis en la finca “Las Cañas” del Municipio de la Trinidad, Los tratamientos evaluados fueron Tratamiento 1 Agua de mar 10 mL; Tratamiento dos 2 químico Cloxacilina-Ampicilina (Masticen Pomada®) 10 mL. Los dos tratamientos presentaron buenos resultados en el control de la mastitis bovina (Rodríguez y Alvarado, 2016), estos resultados fueron similares a los realizados en el tratamiento de la endometritis subclínica en las vacas de la raza Holstein que se sometieron a estudio. Frente a este punto, cabe indicar que el tratamiento con agua marina para la endometritis subclínica fue la que tuvo mayor efectividad comparado con el uso de antibióticos, ya que el agua marina al ser administrada en una sola dosis por vía aorta abdominal mostro ser de fácil aplicación y con resultados buenos sin que se haya mostrado alteración alguna en los animales que recibieron este tratamiento, se debe menciona que a los 2 días después del tratamiento con agua marina las vacas muestran mayor vivacidad, el pelaje se torna más lustre y se incrementa el apetito, de ello deducimos que el agua de mar es un restablecedor del equilibrio homeostático, a parte que se comporta con antibacteriano y antiséptico en el tratamiento de la endometritis subclínica en las vacas.

4.4. Viabilidad económica.

Se analizó el registro de producción de leche durante el tratamiento de agua marina y antibiótico en un total de 20 días, desde el diagnóstico para el tratamiento hasta el post diagnóstico, considerando 7 días de descarte de leche para el tratamiento con antibiótico, a su vez se consideró el costo del producto empleado en cada tratamiento.

4.4.1. Producción de leche durante los tratamientos.

Tabla 7: Producción de leche durante el tratamiento.

	PRODUCCIÓN DE LECHE DURANTE EL TRATAMIENTO (Litro)		DESCARTE DE LECHE (Litro)		LECHE TOTAL PARA VENTA(Litro)	
	f	%	f	%	F	%
Antibiótico	2530.8	100%	873.5	35%	1657.3	65%
Agua marina	2897.7	100%	0	0%	2897.7	100%

F= Frecuencia de producción de leche

Fuente: Base de datos de la investigación

La tabla 7 y gráfico 4, muestran los litros de leche y el porcentaje que representan durante ambos tratamientos. En el grupo de la asociación de antibióticos (tilosina + sulfametoxipiridazina), se observa que la leche para venta no es el total de la producción, ya que esta es descartada por los días en que se aplicó el antibiótico más los cuatro días post tratamiento.

Así mismo durante el tratamiento con agua marina, se observó que no hubo descarte de leche, por lo tanto, el total de producción de leche fue para la venta.

Demostrando así que el tratamiento con agua marina es mejor porque no produce pérdida en la producción de leche a comparación del tratamiento con antibiótico.

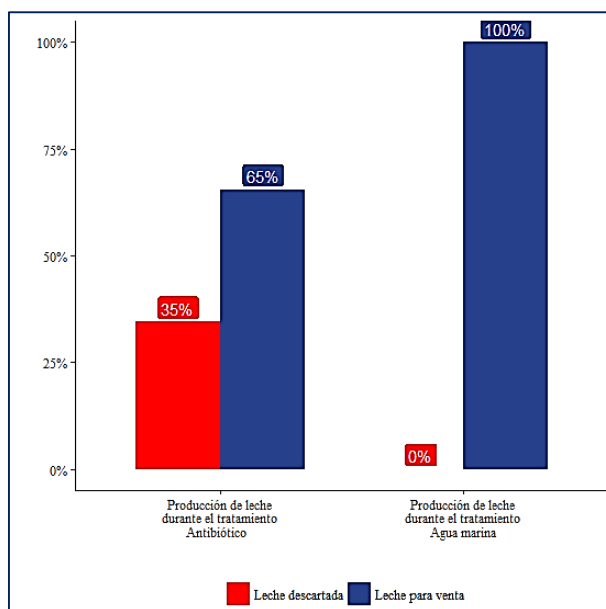


Figura 3: Producción de leche durante los tratamientos.

Tabla 8: Costo de leche por litro.

COSTO POR LITRO	PROMEDIO DE DESCARTE DE LECHE (L)	TOTAL
\$ 0.35	87.35	\$ 30.57

La tabla 8, muestra la pérdida que género en dólares la cantidad de leche descartada durante el tratamiento con la asociación de antibiótico (tilosina + sulfametoxipiridazina).

4.4.2. Costo de los productos utilizados.

Tabla 9: Costo del tratamiento.

TRATAMIENTO	COSTO POR DOSIS	NUMERO DE DOSIS	TOTAL
AGUA MARINA/VACA	\$ 4.41	1	\$ 4.41
ANTIBIOTICO/VACA	\$ 3.23	3	\$ 9.69

La tabla 9. Muestra la notable diferencia del costo por tratamiento del agua marina frente a la asociación de antibióticos (tilosina + sulfametoxipiridazina), lo que demuestra que el tratamiento terapéutico con agua marina resulta ser mucho más rentable económicamente a comparación del tratamiento quimioterapéutico regular, aunque los efectos terapéuticos sean similares, de igual forma los efectos relacionados con la salud pública están directamente implicados al reducirse al mínimo los días de retiro de leche para consumo humano e industrial, se analiza que se produce con lo que se gasta, en términos económicos, por lo que la justificación económica es generalmente la consideración fundamental para la mayoría de sistemas, se debe tener en cuenta: el análisis de costo/beneficio, las estrategias de ingresos de la empresa a largo plazo, el impacto en otros productos (García, 2008).

Agua de mar como suplemento nutritivo de sales minerales, como alternativa para el tratamiento de la endometritis subclínica en vacas y que también se utiliza en la ganancia de peso en terneros al destete, que al realizar el análisis financiero observamos que el tratamiento que mayor rentabilidad nos proporcionaría es el tratamiento I (1000mL de agua de

mar), obteniendo una utilidad neta de \$894.96 dólares, el que se emplea en la finca es el tratamiento III (testigo) y este nos deja una utilidad neta de \$751.02 dólares, al comparar estas utilidades encontramos una diferencia de \$143.94 dólares (Mejia y Sing, 2008), que comparando con el presente trabajo de investigación, resulto ser más económico el uso del agua marina en el tratamiento de la endometritis subclínica en las vacas que se sometieron a estudio, que al analizar económicamente mediante relación costo- beneficio la rentabilidad utilizando “Agua de Mar” se menciona el uso de este líquido elemento en el crecimiento en pollos de engorde, el análisis económico determinó que el grupo T3 obtuvo una mejor utilidad, por ello recomienda utilizar Agua de Mar, ya que su utilización nos da un mayor porcentaje de peso, una mejor conversión alimenticia, lo cual se traduce en incremento y mejoras de los parámetros productivos, además son más resistentes a enfermedades por su poder curativo natural (Castillo, 2011), por lo tanto, el agua de mar en el tratamiento de la endometritis subclínica en vacas diagnosticadas a los 40 a 45 días post parto y administrada en una sola dosis, resulto ser económicamente viable para la solución de problemas infecciosos en el útero de la vaca en forma subclínica.

V. CONCLUSIONES

- Se diagnosticó endometritis subclínica en 20 vacas Holstein, mediante la técnica de Cytobrush, encontrando un promedio de 8.35% de polimorfonucleares-neutrófilos.
- Se evaluó el efecto del agua marina y antibiótico en cada grupo de tratamiento, las vacas que recibieron el tratamiento con agua marina tuvieron una reducción significativa ($P \leq 0.05$) de polimorfonucleares-neutrófilos. Las vacas que recibieron el tratamiento con antibióticos tuvieron reducción de neutrófilos significativo ($P \leq 0.05$), siendo el tratamiento con agua marina el que demostró la mayor reducción de neutrófilo a los 20 días del post tratamiento.
- Se demostró que el efecto del agua marina y antibiótico son similares en la respuesta al tratamiento de la endometritis subclínica, ya que ambos tratamientos reducen la cantidad de PMN-N, las vacas que fueron sometidas al tratamiento del antibiótico con agua marina no tuvieron diferencias estadísticamente significativas ($P \geq 0.05$).
- El agua marina muestra una mejor viabilidad económica frente al antibiótico, ya que no representa pérdida en la producción de leche, y el costo del tratamiento es menor al antibiótico, el total de la producción de leche durante el tratamiento con el antibióticos, el 65% fue para la venta y el 35% fue descartada, así mismo del total de la producción de leche durante el tratamiento con agua marina el 100% fue para la venta, por lo tanto, el tratamiento con agua marina fue mejor porque no produce pérdida en la producción de leche.

VI. RECOMENDACIONES

- Usar el agua marina para el tratamiento de endometritis subclínica ya que muestra la misma efectividad que el uso de los antibióticos, siendo económicamente viable.
- Se recomienda proporcionar concentrados a las vacas al momento de la aplicación de los tratamientos por vía aorta abdominal, ya que esto facilita la correcta administración de los mismos sin generar estrés en ellos.
- Para la aplicación de los tratamientos con agua marina se recomienda utilizar jeringa dosificadora de capacidad de 500 mL.
- Capacitar sobre el uso de la punción vía aorta abdominal para administrar agua marina y/o antibiótico.

VII. REFERENCIAS

- Barlund, C. S., T. D. Carruthers, C. L. Waldner y C. W. Palmer. 2008. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. University of Saskatchewan, Canadá. 714-723
- Bonilla J. 2007. Agua de mar como promotor de crecimiento en pollos de engorde Arbor acres de cero a seis semanas, La Unión, Pasaquina, El Salvador (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria Managua, Nicaragua. Disponible en: <http://repositorio.una.edu.ni/1361/1/tnl52b715.pdf>
- Castillo C. 2011. Evaluación del uso de agua de mar como promotor de crecimiento en pollos de engorde en fase de crecimiento y acabado en la ciudad de Babahoyo (Tesis de posgrado). Universidad Técnica de Babahoyo, Ecuador. Disponible en: <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/160>
- Castro Betancort Lázaro A. 2013. Punción de la aorta abdominal en Bovinos. Cuba. Disponible en: <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/puncion-aorta-abdominal-bovinos-t30181.htm>
- Catena M., Cabodevilla J. 2006. Evaluación de semen bovino congelado Taurus.
- De La Sota, R.L., 2014. Endometritis sub clínica en vacas de tambo: diagnóstico, prevalencia e impacto sobre la eficiencia reproductiva. Actas VII Jornadas Taurus 2014. Buenos Aires, Argentina.
- Dellmann, D., Brown, E. 1993. Sistema Reproductor Femenino, In: Acribia (Ed.) Histología Veterinaria.
- Di Bernardo, María, Castro, Aribert, Morales, Yasmin, Boueiri, Sonia, Brito, Sulay, Rondón, Carlos, Ortiz, Rosa, & Hernández, Nathaly. 2014. Valoración terapéutica del agua de mar en modelos experimentales

como terapia complementaria en anemia. *Medicas UIS*, 27(3), 9-18.

Retrieved December 06, 2018, from

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-

[03192014000300002&lng=en&tlng=.](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-03192014000300002&lng=en&tlng=)

Dobson, H. 2006. Utilice de la vaca como un modelo animal grande de la infección uterina y la inmunidad. *Diario de Inmunología Reproductiva* 69: 13-22

Dohoo, I., Martin, W., Stryhn, H. 2009. *Veterinary epidemiology research*.

Dominguez, L. 2011. La cura marina y el plasma de Quinton: Laureano Domínguez rescata y promueve los Dispensarios Marinos para restablecer la memoria celular y recobrar la salud. Disponible: <http://www.mind-surf.net/dfir/page5.html>.

Drescher, K. R., Noris, D'endel D'enjoy y J.F. Avellaneda. 2014. Evaluación Ultrasonográfica Postparto de vacas Primíparas bos taurus x bos indicus (f1) en el trópico. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XXIV, N° 4*, 295 – 304.

Dubuc, J., T. Duffield, K. Leslie, J. Walton, S. Leblanc y G. Risk. 2010. Factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93(12):5764-71

Dubuc, J., T. F. Duffield., K. E. Leslie., J. S. Walton., y S. J. Lenlanc. 2011 Randomized clinical trial of antibiotic and prostaglandin treatments for uterine health and reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* doi: 10.3168/jds.20113757.

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

- F.W. (Fármaco web), Pontificia Universidad Javeriana. 2000. Tetraciclinas, cloranfenicol, eritromicina, y otros antibacterianos. En: Departamento ciencias fisiológicas, clases interactivas. Colombia. Disponible en: <http://med.javeriana.edu.co>
- Fernández, P. L. 2009. Velázquez. Farmacología Básica y Clínica (18ª ed.). Ed. Médica Panamericana.
- García PG. 2008. Estudios de Viabilidad. Disponible en: <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/2-12-1-PB.pdf>
- Gázquez A. y Blanco, A. 2004. Tratado de Histología Veterinaria. España: Barcelona, 2004.
- Gilbert, R. O., Shin, S. T., Guard, C. L., Erb H. N. y M. Frajblat. 2005. Prevalence of endometritis y its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 64: 1879–1888.
- Gilbert, RO. 2008. La incidencia de endometritis y fectos sobre el rendimiento reproductivo de las vacas lecheras. *Theriogenology*, 49: 251.
- Goeb P. 2011. Plasma marino y plasma humano, Su identidad fisiológica de cara a la regeneración del medio interior, Aplicación terapéutica. Disponible en: http://www.herbogeminis.com/IMG/pdf/plasma_marino_y_plasma_humano-2.pdf
- Gontarenko, V.S. 1969. Las investigaciones clínicas experimentales de la acción terapéutica de la novocaína inyectada intravitalmente en casos de endometritis puerperal del ganado bovino. Trabajos Científicos del Instituto Zootécnico de Jarkov, Rusia.

- Gracia A. 2001. La terapia con Plasma Marino. Disponible en:
[file:///C:/Users/USUARIO/Downloadas/DialnetLaTerapiaConPlamaMari
no4989312%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/USUARIO/Downloadas/DialnetLaTerapiaConPlamaMari%20no4989312%20(1).pdf)
- Gracia, A, Bustos H. 2005. El Poder curativo del agua de mar: Nutrición orgánica.
2nda ed. Editorial Morales Torres. España.
- Guevara L. 2014. Efecto de tres niveles de agua de mar sobre los parámetros
productivos de pollos de engorde línea Cobb 500 (Tesis de Pregrado).
Universidad Nacional de Trujillo.
- Hafez, E. 2005. Reproducción e inseminación artificial en animales. McGraw Hill.
México.
- Hilari T. 2013. Agua de mar: Dispensarios Marinos, experiencia en Nicaragua y
Guatemala. Disponible en:
[http://www.unmundodebrotes.com/2013/04/agua-de-mar-entrevista-a-
la-dra-maria-teresa-ilari](http://www.unmundodebrotes.com/2013/04/agua-de-mar-entrevista-a-la-dra-maria-teresa-ilari).
- Hjerpe, C.A. y Routen, T.A. 1976. Practical and theoretical considerations
concerning treatment of bacterial pneumonia in feedlot cattle, with
special reference to antimicrobial therapy. In: Proceedings of the
American Association of Bovine Practitioners. Annual Meeting, San
Francisco, USA. 97–140.
- 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. 2007.
- Kasimanickam, R., T. F. Duffield, R. A. Foster, C. J. Gartley, K. E. Leslie, J. S.
Walton y W. H. Johnson. 2004. Endometrial cytology y ultrasonography

- for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 62, 9–23
- Kasimanickam, R., T. F. Duffield, R. A. Foster, C. J. Gartley, K. E. Leslie, J. S. Walton, y W. H. Johnson. 2005. A comparison of the cytobrush y uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Can Vet J.* 46:255–259
- Leblanc, S.J., T. E. Duffield., K.E. Leslie., K.G. Bateman., G.P. Keefe., J.S. Walton., W. H. Johnson. 2002a. The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 2237-2249.
- Leblanc, S.J., T.E. Duffield., K. E. Leslie., K. G. Bateman., G.P. Keefe., J.S. Walton., W.H. Johnson. 2002b. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci* 85: 2223-2236.
- Lewis, GS. 2007. salud uterina y trastornos. *J Dairy Sci* 80: 984-994
- Löscher, W. 1994. Animal experiments in the development and evaluation of veterinary drugs. *Tierärztliche-Umschau.* 49: 67-68.
- Lynch, M., S. Raphael, L. Mellor, P. Spare y M. Inwood. 1987. *Métodos de laboratorio.* Segunda edición. Edit. Interamericana. México.
- Madigan M.T., J.M. Martinko and J. Parker, Brock. 2003. *Biology of Microorganisms.* 10th Edition, Prentice Hall. USA.
- Madoz, L.V.; Ploentzke, J.; Albarracin, D.; Mejia, M.; Drillich, M., Heuwieser, W. y De La Sota, R.L. 2008. Prevalence of clinical and subclinical endometritis in dairy cows and the impact on reproductive performance.,

- p.51. 16th International Congress on Animal Reproduction, Budapest, Hungary.
- Markusfeld, O. 2001. Los factores responsables de la metritis después parturienta en el ganado lechero (Resumen). *Veterinary Record* 114 (22): 539-542.
- Mateos, P. F. 2002. Agentes antimicrobianos y microorganismos. Curso de microbiología. Ingeniería de Alimentos.
- Maurino A. 2012. Prevalencia de endometritis subclínica antes y cuatro horas después de la inseminación artificial en vaquillonas. Instituto de Reproducción Animal Córdoba.
- Mejia Z. y Sing F. 2008. Estudio preliminar de la utilización del Agua de Mar como suplemento nutritivo de sales minerales, como alternativa para la ganancia de peso en terneros al destete en la Finca "Sta. Rita", Comarca el castillo, del Municipio de Mulukukú, RAAN (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria Managua, Nicaragua. Disponible en: <http://repositorio.una.edu.ni/1390/1/tnl51m516.pdf>
- Merck & CO. 2000. El manual Merk de Veterinaria. 5ª ed. Ed. Océano. Barcelona.
- Nieto I. 2016. Farmacocinética y depleción de residuos de tilosina en truchas (*Oncorhynchus Mykiss*) (Tesis de Doctorado). Universidad Complutense de Madrid, Madrid. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/38807/1/T37629.pdf>
- Ochi H. L. 2012. Métodos para la detección de residuos de antibióticos en leche para ser utilizado en el Tambo (Tesis de maestría). Universidad Nacional del Litoral, Argentina. Disponible: <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8080/tesis/bitstream/handle/11185/417/tesis.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

- Palacin M. 2013. El agua de mar cura diversas enfermedades. Disponible en:
<http://www.dsalud.com/indexphp?pagina=articulo&c=965>.
- Palmer, C., 2006. Metritis postparto en vacas lecheras. Conferencia en las jornadas de Actualización en Biotecnologías de la Reproducción en Bovinos del IRAC vol. 9. Huerta Grande. Córdoba. Argentina.
- Palmer, C., 2008. Endometritis en Vacas Lecheras. Taurus, 9, conferencia en las Jornadas de Actualización en Biotecnologías de la Reproducción en Bovinos del IRAC. Huerta Grande. Córdoba. Argentina.
- Peso, D., W. Garcia, F. Franco, W. Bravo, V. Alarcon y F. San Martin. 2014. Manual del Técnico Alpaquero. 2da edición. GMC Digital.
- Pozas P, Taragaza E. 2012. Oasis y dispensarios Marinos. ONDIMAR España.
- Prescott, J.F. y Baggot, J.D. 1993. Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. 2nd Ed. Ames: Iowa State University Press, Iowa, USA.
- Quintela et al, Diaz, C. Herradón, P. Peña, M. Becerra, J. 2006. Ecografía y reproducción en vaca. Santiago de Compostela, España: s.n.
- Rang, H.; Dale, M.; Ritter, J. 2000. Quimioterapia de enfermedades infecciosas y malignas. 742-748. In Farmacología, 4ª ed. Ed Harcourt. Madrid.
- Rinaudo A., Bernardi S. y Marini P. 2010. Prevalencia de endometritis clínica y subclínica en vacas lechera en postparto en un sistema intensivo estabulado.
Casilda. Disponible: <https://www.engormix.com/ganaderialeche/articulos/prevalencia-endometritis-clinica-subclinica-t32793.htm>
- Rinaudo, A. 2012. Endometritis subclínica en vacas lecheras: diagnóstico, tratamiento e incidencia productiva y reproductiva, Facultad de Ciencias

- Veterinarias – Universidad Nacional de Rosario UNR, Tesis Doctoral, Casilda - Argentina.
- Rizo JM, Gil A, Guirola R. 1981. Eficacia comparativa entre la administración bilateral y unilateral de medicamentos por vía ilíaca interna contra la endometritis de la vaca Holstein.
- Rizo, J.M.; Gil, A.; Gonzalez, J.L. 1981. Eficacia de la estreptopenicilina y novocaína vía aorta abdominal en el tratamiento de las endometritis de la vaca. Revista de Salud Animal. La Habana, Cuba. Vol. 3. Nº 1.
- Rodríguez L. y Alvarado Y. 2016. Utilización de la solución hipertónica (agua de mar), para el tratamiento de la mastitis bovina en la Finca “Las Cañas”, del municipio de la Trinidad, departamento de Estelí 2015 (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria Managua, Nicaragua. Disponible en: <http://repositorio.una.edu.ni/3352/1/tnl73r696u.pdf>
- Rodriguez-Martinez, H. Mckernna, D., Weston, P.G., Whitmore, H.L., Gustafsson, B.K. 2007. Uterine motility in the cow during the estrus cycle.
- Rutter, B. 2015. Diagnóstico de endometritis subclínica en vacas lecheras. 1er Congreso internacional de producción animal especializada en bovinos Facultad de Ciencia veterinarias. Universidad de Buenos Aires (UBA), Argentina.
- Rysaneck, M. 2013. Conferencia sobre trastornos inflamatorios del tracto reproductor femenino en bóvidos.
- Salazar A., Navarro J., Pallarés, F. 2012. Citología e Histología Veterinaria. Universidad de Murcia. Disponible en: <http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/citologia-e-histologia-veterinaria/material-declase-1/tema33-reproductor-femenino-ii.pdf>.

- Sheldon I.M., Lewis, S.L., Leblanc, S., Gilbert, R.O. 2004. Defining postpartum uterine disease in cattle.
- Sheldon, I. M., L. Gregory., S. Leblanc., R. Gilbert. 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65:1516–1530.
- Sheldon, I.M., D.E. Noakes y H. Dobson, 2002. Effect of regressing corpus luteum of pregnancy on ovarian folliculogenesis after parturition in cattle. *Biology of Reproduction*, 66, 266-271.
- SINAT (Sistema Nacional para la Administración de Tierras). 2018. Disponible en:http://geoportalide.sigtierras.gob.ec:10102/sinat_nacional_ide/index#
- Sisson, S., Grossman, J.D., Getty, R. 2005. Anatomía de los animales domésticos. 5ta Edición. Barcelona España: Masson S.A.
- Soler, T, Wilmer, Velásquez E, Nelly del Carmen, Miranda R, Luis Francisco, & Zuluaga G, Diana Cristina. 2005. Ausencia de genotoxicidad del agua de mar de Coveñas: estudio in vitro en eritrocitos y leucocitos humanos. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 23(2), 25-30. Disponible en:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120386X2005000200004&lng=es&tlng=es.
- Solís M. 2007. Utilización de la Solución Hipertónica (agua de mar) en el Tratamiento de la Mastitis Bovina en la Finca Guadalupana, del Municipio de Nagarote (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria Managua, Nicaragua. Disponible en:
<http://repositorio.una.edu.ni/1353/1/tnl73s687.pdf>

- Suárez, MF, Ordoñez JE, Aguilar de Plata C. 2013. Dietary zinc intake is inversely associated to metabolic syndrome in male but not in female urban adolescents. *Am J Hum Biol.*
- Sumano, H.; Ocampo L. 1997. Quimioterapia de las enfermedades microbianas. In *Farmacología Veterinaria*, 2ª ed. Ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid.
- Tejero, J. 2008. Diagnóstico ultra precoz de gestación en el ganado vacuno mediante la exploración ecográfica del cuerpo lúteo y determinación del sexo del feto mediante valoración de los niveles plasmáticos de testosterona. Tesis doctoral. Universidad de León, Facultad de Veterinaria. León. España.
- Tibary, A., Anouassi A. y M. Memon. 2001. Approach to Diagnosis of Infertility in Camelids: Retrospective Study in Alpaca, Lamas y Camels. Vol 8 No 2, p 167-179. Department of Veterinary Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, Washington State University, Pullman, WA 99164-6610, U.S.A.

ANEXOS

A

REGISTROS

TABLA A1. REGISTRO DEL GRUPO CON AGUA MARINA

		DIAGNOSTICO INICIO				POST TRATAMIENTO FINAL	
N° DE ARETE	N° DE PARTO	CONDICIÓN CORPORAL INICIO	% NEUTROFILOS	TRATAMIENTO	DOSIS	CONDICIÓN CORPORAL FINAL	% NEUTROFILOS
453	3 PARTOS	2.75	6	AGUA MARINA	1000ML	2.75	0
612	2 PARTOS	2.75	7	AGUA MARINA	1000ML	2.75	0
571	2 PARTOS	2.75	6	AGUA MARINA	1000ML	2.75	0
610	2 PARTOS	2.75	8	AGUA MARINA	1000ML	2.50	1
563	3 PARTOS	3.00	7	AGUA MARINA	1000ML	2.75	0
474	3 PARTOS	2.75	8	AGUA MARINA	1000ML	2.50	2
611	2 PARTOS	2.75	10	AGUA MARINA	1000ML	2.50	2
594	2 PARTOS	3.00	9	AGUA MARINA	1000ML	2.75	1
440	3 PARTOS	3.00	6	AGUA MARINA	1000ML	2.75	0
558	3 PARTOS	2.50	12	AGUA MARINA	1000ML	2.50	4

TABLA A2. REGISTRO DEL GRUPO CON ANTIBIOTICO

		INICIO				FINAL	
N° DE ARETE	N° DE PARTO	CONDICIÓN CORPORAL INICIO	% NEUTROFILOS	TRATAMIENTO	DOSIS 20 ML/3DÍAS	CONDICIÓN CORPORAL FINAL	% NEUTROFILOS
520	3 PARTOS	2.50	10	ANTIBIOTICO	60	2.50	3
539	2 PARTOS	2.75	8	ANTIBIOTICO	60	2.75	2
561	3 PARTOS	2.50	6	ANTIBIOTICO	60	2.50	0
595	2 PARTOS	2.75	9	ANTIBIOTICO	60	2.50	3
605	2 PARTOS	2.50	8	ANTIBIOTICO	60	2.50	2
604	2 PARTOS	2.50	8	ANTIBIOTICO	60	2.50	1
420	3 PARTOS	2.75	10	ANTIBIOTICO	60	2.50	4
488	3 PARTOS	2.75	9	ANTIBIOTICO	60	2.75	2
545	3 PARTOS	2.50	13	ANTIBIOTICO	60	2.50	4
583	2 PARTOS	3.00	7	ANTIBIOTICO	60	3.00	0

TABLA A3. RECORT PRODUCTIVO DE LECHE DURANTE EL TRATAMIENTO CON ANTIBIOTICO

#	ARETE	PRODUCCIÓN DE LECHE DURANTE EL TRATAMIENTO (20 DÍAS)	TOTAL, LECHE/LITROS	DESCARTE DE LECHE (7 DÍAS)	TOTAL, LECHE/LITROS DESCARTADA	LECHE TOTAL PARA VENTA
1	520	26/07/2018 al 14/08/2018	197.5	26/07/2018 al 01/08/2018	69.2	128.3
2	539	28/07/2018 al 16/08/2018	253.8	28/07/2018 al 03/08/2018	81.3	172.5
3	561	30/08/2018 al 18/09/2018	231	30/08/2018 al 05/09/2018	82.5	148.5
4	595	02/09/2018 al 21/09/2018	201.2	02/09/2018 al 08/09/2018	70.7	130.5
5	605	03/09/2018 al 22/09/2018	221.6	03/09/2018 al 09/09/2018	73.2	148.4
6	604	06/09/2018 al 25/09/2018	349.7	06/09/2018 al 12/09/2018	127.6	222.1
7	420	06/09/2018 al 25/09/2018	240.7	06/09/2018 al 12/09/2018	83	157.7
8	488	08/09/2018 al 27/09/2018	275.7	08/09/2018 al 14/09/2018	96.3	179.4
9	545	17/09/2018 al 06/10/2018	279.2	17/09/2018 al 23/09/2018	84.7	194.5
10	583	21/09/2018 al 10/10/2018	280.4	21/09/2018 al 27/09/2018	105	175.4

TABLA A4. RECORT PRODUCTIVO DE LECHE DURANTE EL TRATAMIENTO CON AGUA MARINA

#	ARETE	PRODUCCIÓN DE LECHE DURANTE EL TRATAMIENTO	TOTAL, LECHE/LITROS	DESCARTE DE LECHE (0 DÍAS)	LECHE TOTAL PARA VENTA
1	453	16/07/2018 al 04/08/2018	373.9	0	373.9
2	612	16/07/2018 al 04/08/2018	171.5	0	171.5
3	571	20/07/2018 al 08/08/2018	395.4	0	395.4
4	610	20/07/2018 al 08/08/2019	238.4	0	238.4
5	563	24/07/2018 al 12/08/2018	383.9	0	383.9
6	474	24/07/2018 al 12/08/2019	332.9	0	332.9
7	611	31/07/2018 al 19/08/2018	202.9	0	202.9
8	594	31/07/2018 al 19/08/2019	313.6	0	313.6
9	440	13/09/2018 al 02/10/2018	299	0	299
10	558	13/09/2018 al 02/10/2019	186.2	0	186.2

B

PANEL FOTOGRÁFICO

Fig. B.1 Identificación de los animales con cintas celestes para el grupo del antibiótico.



Fig. B.2 Identificación de los animales con cintas rosadas para el grupo de agua marina.



Fig. B.5 Citocepillo modificado para vacas.



Fig. B.6 Toma de muestras con el citocepillo.



Fig. B.7 Diagnóstico de Polimorfonucleares Neutrófilos y células endometriales.

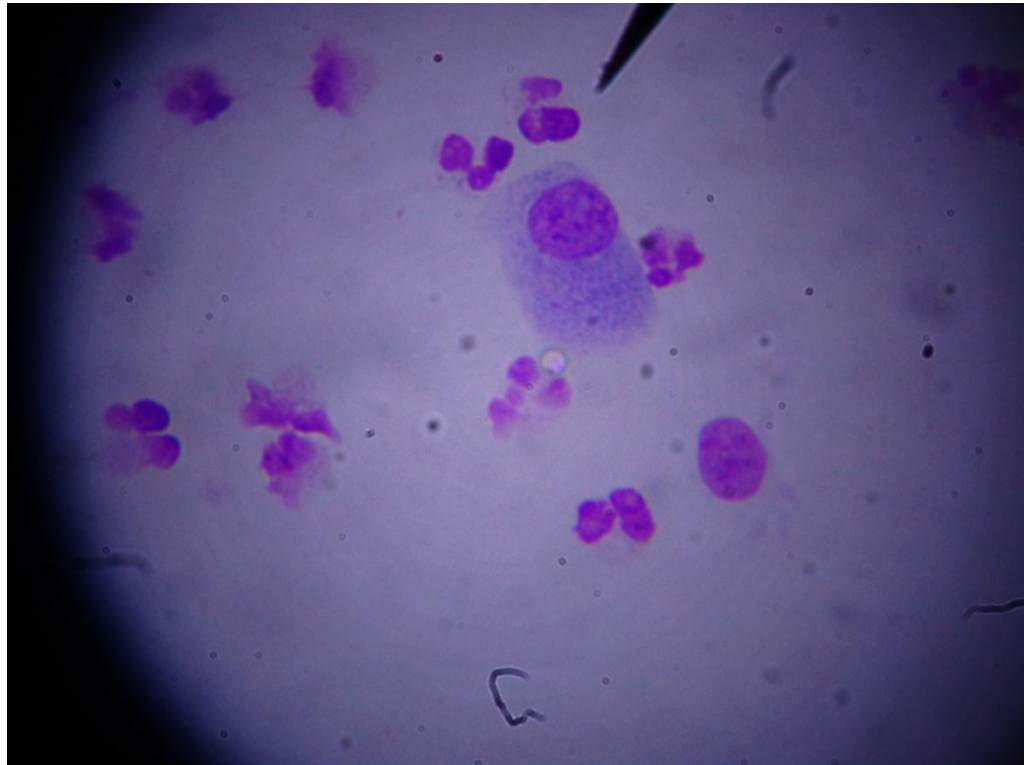


Fig. B.7 Polimorfonucleares Neutrófilos y células endometriales.

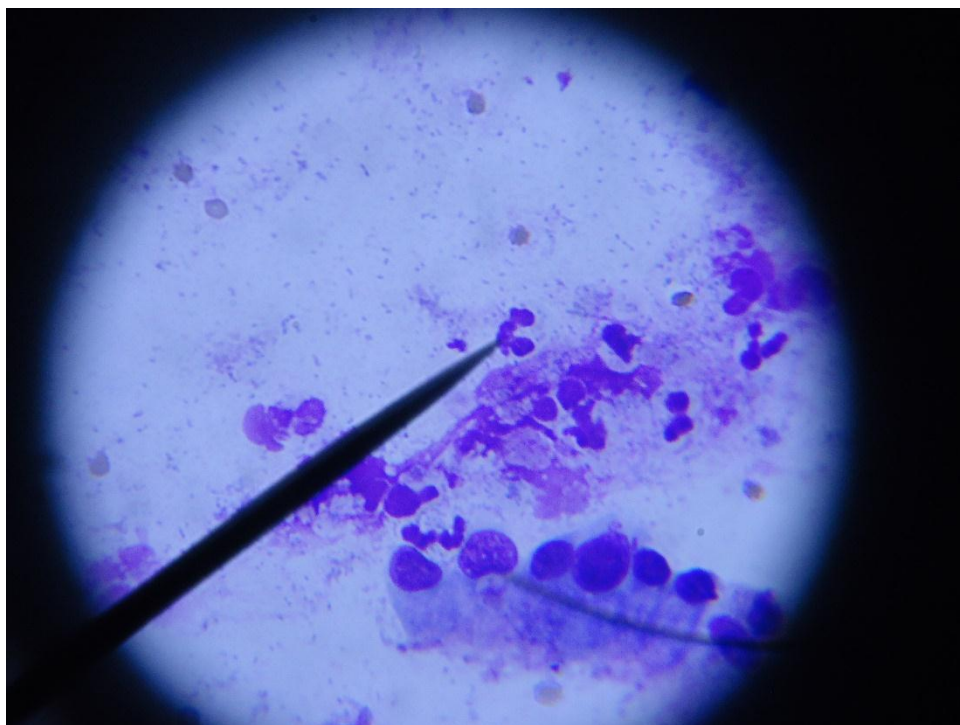


Fig. B.8 Aplicación de anestésico para la administración de tratamientos vía aorta abdominal.



Fig. B.9 Punción de la arteria aorta abdominal.



Fig. B.10 Punción de la arteria aorta abdominal.



Fig. B.11 Administración del agua marina.



Fig. B.12 Polimorfonucleares- Neutrófilos después de los tratamientos.

