



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

**Facultad de Ciencias Agropecuarias**

**MAESTRÍA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL**

**“Evaluación de la involución, salud uterina y retorno de la actividad ovárica  
con la adición de zeolita 2% en la dieta basal de vacas lecheras”**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGÍSTER EN  
REPRODUCCIÓN ANIMAL**

**AUTOR: Dr. Juan Pablo Garzón Prado. MVZ.**

**C.I. 0602897951**

**DIRECTOR: Andrés Galarza Lucero. MVZ. Mg. Sc.**

**C.I. 0103912846**

**CUENCA, ECUADOR**

**2016**

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de zeolita (Clinoptilolita) adicionado en la dieta basal de vacas lecheras durante 105 días, 60 días pre-parto (dap) y 45 días post-parto (dpp) y su influencia en la involución (IU) y salud uterina (SU), el retorno de la actividad ovárica (AO) y la condición corporal (CC). El proyecto se realizó en tres ganaderías de la comunidad de Soldados del Cantón Cuenca – Azuay, en 50 vacas secas, con una CC  $\geq 3,5$ , entre 2 a 5 partos, clínicamente sanas y todas en las mismas condiciones sanitarias y de manejo; fueron divididas en un grupo control ( $n_1=25$ ), alimentadas con dieta basal y un experimental ( $n_2=25$ ), con dieta basal + 2% de Zeolita del consumo de materia (CMS). Se evaluó retorno de AO considerando folículos  $\geq 10$  mm de diámetro a los 15, 22, 35 y 45 dpp por Ultrasonografía transrectal, SU ( $>10$  PMN) a los 35 dpp por cytobrush, IU considerando posición del útero con respecto a la pelvis (PU), simetría de los cuernos (SCU), y diámetro del cérvix (DC), a los 22 y 45 dpp por palpación rectal, y finalmente la CC a los 15 dap, parto y 45 dpp. Se usó un diseño completamente al azar (DCA) y los resultados fueron analizados con el programa estadístico SPSS *versión 22.0*, posteriormente fueron aplicados los estadísticos de “U de Mann Withney y Kruscall Wallis”. Se obtuvo eficacia en el GE con mayor porcentaje de vacas que retornaron su AO (respectivamente, para GC y GE fueron: 35 dpp 29,6% vs. 70,4%; 45 dpp 44,4% vs. 55,6%;  $p<0,05$ ). La IU fue a los 45 dpp, los valores obtenido para GC y GE fueron: respectivamente, PU 40,0% vs. 76,0%, SCU 32,0% vs. 76,0% y DC 28,0% vs. 68,0%, ( $p<0,05$ ). Y en SU también mostró eficacia en el GE obteniendo un 3,4% vs. 22,2% de PMN en comparación con el GC, ( $p<0,05$ ). Finalmente, se comprobó diferencias significativas ( $p<0,05$ ) en la CC al parto y 45 dpp con eficacia atribuida al GE. En conclusión, la adición de zeolita al 2% en la dieta basal mostró eficacia en la involución y salud uterina, retorno de la actividad ovárica y la condición corporal en vacas en transición, recomendando su uso en las ganaderías lecheras.

**Palabras Clave:** Actividad Ovárica, Clinoptilolita, Involución, Salud Uterina, Vaca post-parto.



## ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the effect of zeolite (clinoptilolite) added in the basal diet of dairy cows for 105 days, 60 days pre-partum (dap) and 45 days post-partum (dpp), and its influence on return of ovarian activity (AO), involution (IU) and uterine health (SU), and body condition (CC). The project was conducted in three herds in the community of Soldados of the Cuenca - Azuay in fifty dry cows, with  $CC \geq 3.5$ , between 2-5 births, clinically healthy and all in the same health and management conditions; were divided into a control group ( $n_1 = 25$ ), fed with basal diet and experimental ( $n_2 = 25$ ), with basal diet + 2% Zeolite of dry matter intake (DMI). Return of AO was evaluated considering follicles  $\geq 10$  mm of diameter at 15, 22, 35 and 45 dpp by transrectal ultrasonography, SU ( $> 10$  PMN) at 35 dpp for cytobrush, IU considering position of the uterus relative to the pelvis (PU), symmetry of the horns (SCU) and diameter of the cervix (DC) at 22 and 45 dpp by rectal palpation, and finally CC to 15 dap, at calving and 45 dpp. The experimental design was completely random (DCA) and the results were analyzed with *SPSS version 22.0*, they were subsequently applied statisticians "*Mann Whitney and Kruskal Wallis*". I have obtained effectiveness in GE the highest percentage of cows returning their AO (GC and GE respectively were: 35 dpp vs. 70.4% vs. 29.6%; 44.4% vs. 45 dpp 55.6%;  $p < 0.05$ ). The IU was at 45 dpp, the values obtained for GC and GE were respectively 40.0% vs. PU 76.0%, 32.0% vs. SCU 76.0% and 28.0% vs. DC 68.0% ( $p < 0.05$ ). And YOUR also showed effectiveness in getting GE vs. 3.4% vs. 22.2% of PMN compared to GC, ( $p < 0.05$ ). Finally, significant differences ( $p < 0.05$ ) was found in DC childbirth and 45 dpp effectively attributed to GE. In conclusion, the addition of zeolite 2% in the basal diet showed efficacy in involution and uterine health, return of ovarian activity and body condition in cows in transition, recommending its use in dairy herds.

**Keywords:** Ovarian activity, Clinoptilolite, involution, uterine health, postpartum cow



## TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	1
ABSTRACT .....	2
LISTA DE TABLAS.....	5
LISTA DE CUADROS.....	5
LISTA DE FIGURAS.....	5
DERECHOS DE AUTOR.....	6
AGRADECIMIENTOS .....	8
DEDICATORIA .....	9
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	11
Objetivo general .....	13
Objetivos específicos.....	13
Hipótesis.....	13
CAPÍTULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	14
2.1 Período de Transición y Condición Corporal en vacas lecheras.....	14
2.2 Involución uterina, salud uterina y actividad ovárica en vacas lecheras.....	16
2.3. Uso de la zeolita (Clinoptilolita).....	23
CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
3.1 Materiales.....	27
3.1.1. Materiales Biológicos.....	27
3.1.2. Materiales Físicos.....	27
3.1.2.1 Materiales de Campo.....	27
3.1.2.1 Materiales de Laboratorio .....	27
3.2 Ubicación.....	27
3.3 Caracterización de la unidad de análisis.....	27
3.4 Metodología.....	28
3.4.1 Pesaje de las vacas.....	28
3.4.2 Dieta basal y manejo de los grupos.....	29
3.4.3 Adición de zeolita (Clinoptilolita).....	31
3.4.4 Mediciones y evaluaciones de las variables en estudio.....	32
3.4.4.1 Retorno de la actividad ovárica (AO).....	32
3.4.4.2 Evaluación de la involución uterina (IU).....	32
3.4.4.3 Evaluación de la salud uterina (SU).....	32



3.4.4.4 Condición corporal (CC).....	33
3.4.5 Diseño experimental y estadístico .....	34
CAPÍTULO IV: RESULTADOS .....	37
4.1. Condición Corporal (CC).....	37
4.2. Retorno de la actividad ovárica.....	38
4.3. Involución Uterina.....	39
4.4 Salud Uterina (SU) .....	40
4.5 Correlación de las variables. ....	41
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN .....	42
5.1 Condición Corporal:.....	42
5.2 Retorno de la actividad ovárica (RAO) por presencia de folículo $\geq$ a 10 mm:.....	42
5.3 Involución uterina:.....	43
5.4 Salud Uterina: .....	44
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	46
6.1 Conclusiones .....	46
6.2 Recomendaciones .....	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	47
ANEXOS.....	57
ANEXO 2. Análisis de Zeolita utilizada.....	59
ANEXO 3. Condición Corporal (Prueba estadística no paramétrica).....	60



## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Ingredientes de la dieta CMS/kg/día y aporte de Mcal/ENL/día. ....	30
Tabla 2. Necesidades energéticas Mcal/ENL/día de vacas secas y vacas en producción de leche. ....	30
Tabla 3. Operacionalización de las variables. ....	35

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Estadísticos descriptivos de la condición corporal durante el período en estudio de los dos tratamientos .....	37
Cuadro 2. Valores porcentuales del retorno de la actividad ovárica (AO) por tamaño de folículos $\geq 10$ mm. ....	39
Cuadro 3. Involución uterina: posición del útero con relación a la pelvis (PU), simetría de los cuernos uterinos (SCU) y diámetro del cérvix (DC) a los 22 dpp.....	39
Cuadro 4. Involución uterina: posición del útero con relación a la pelvis (PU), simetría de los cuernos uterinos (SCU) y diámetro del cérvix (DC) a los 45 dpp.....	40
Cuadro 5. Valores promedios y variabilidad de la salud uterina expresada en % PMN a los 35 dpp.....	40

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Curvas de CC durante el período de estudio de los tratamientos .....	38
--	----



## DERECHOS DE AUTOR



Universidad de Cuenca  
Clausula de derechos de autor

---

Juan Pablo Garzón Prado, autor de la tesis “Evaluación de la involución, salud uterina y retorno de la actividad ovárica con la adición de zeolita 2% en la dieta basal de vacas lecheras”, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Magister en Reproducción Animal. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 13 de junio de 2016.



---

Juan Pablo Garzón Prado.

C.I: 0602897951.



Universidad de Cuenca  
Clausula de propiedad intelectual

---

Juan Pablo Garzón Prado, autor de la tesis "Evaluación de la involución, salud uterina y retorno de la actividad ovárica con la adición de zeolita 2% en la dieta basal de vacas lecheras", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 13 de junio de 2016.



---

Juan Pablo Garzón Prado

C.I: 06028097951.





## AGRADECIMIENTOS

Un eterno agradecimiento a mi director Dr. Andrés Galarza. MSc. y Dr. Ricardo Alberio. PHD, por brindar su capacidad y experiencia científica sin límites, por su confianza y aporte al aprendizaje hacia mi persona.

De la misma manera, quiero agradecer muy especialmente al INIAP – Estación Experimental del Austro, Ing. Maximiliano Ochoa y Dr. Víctor Barrera, quienes fueron mis coautores, y brindaron todo su apoyo y confianza, e igual manera a cada uno de mis compañeros de la Estación.

A la empresa La Colina S.A e Ing. Amador Suin, quienes fueron un pilar fundamental para el desarrollo de la investigación, con su entusiasmo confiaron y apoyaron en las ideas de lo propuesto.

A los docentes y personal administrativo de la Universidad de Cuenca – Facultad de Ciencias Agropecuarias – Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia un agradecimiento eterno.

A los productores ganaderos Paolo Montenegro, Leonardo Guerrero e Iván Espinoza quienes nos facilitaron los animales y sus instalaciones para realizar la investigación en sus unidades productivas lecheras.

A mis padres, hermanos que a pesar de la distancia, siempre estuvieron con su apoyo incondicional.

Juan Pablo



## DEDICATORIA

A Dios por brindarme la vida, y a mis hijos Juan Esteban y Juan Francisco quienes son mi mayor tesoro y fuente de inspiración.

Juan Pablo.



## ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

BEN: balance energético negativo.

CC: condición corporal.

CMS: consumo de materia seca.

DEL: días en leche.

dap: días antes del parto.

dpp: días post-parto.

ES: endometritis subclínica.

GE: grupo experimental.

GC: grupo control.

IPC: Intervalo parto concepción.

IPP: Intervalo parto parto.

IP1S: Intervalo primer servicio.

mm: milímetros.

NEFA: ácidos grasos no esterificados.

NCL: clinoptilolita natural.

PVE: período voluntario de espera.

TC: Tasa de concepción.



## CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

En vacas lecheras después de su periodo de transición y finalizado el periodo voluntario de espera (PVE), su eficiencia reproductiva esta expresada por una pronta gestación y lactancia subsiguiente, dependiente de una adecuada involución uterina lograda por una regeneración del endometrio y eliminación de la contaminación bacteriana, y, de esta manera, le acompaña un óptimo estado de salud uterina y un temprano retorno de la actividad ovárica.

En el conocido periodo de transición, la vaca lechera enfrenta un gran desafío metabólico asociado a desequilibrios homeostáticos, siendo la característica más importante la disminución del consumo de materia seca (CMS) acompañado de un balance energético negativo (BEN), y consecuentemente el aumento progresivo de la producción de leche hacia el pico de lactancia (Chapinal *et al.*, 2012), (Madoz., 2012).

En el período de transición se presentan deficiencias y/o variaciones nutricionales que dan origen de las llamadas “enfermedades de la producción” que, conjuntamente incluyen a los clásicos desórdenes metabólicos (cetosis, hígado graso, hipocalcemia puerperal, tetania hipomagnesémica), las mismas que vienen acompañadas de un conjunto de afecciones clínicas y subclínicas (Corbellini *et al.*, 2008)

La deficiente condición corporal o el BEN en sus primeros días de lactancia da como resultados problemas en el desempeño reproductivo, y puede afectar negativamente a la eficacia del sistema inmunológico (Chapinal *et al.*, 2012).

Para disminuir los factores de riesgo del período de transición hay que tratar de lograr una progresiva adaptación del rumen en las dietas donde existe el desafío de cantidad y calidad de alimento en la lactancia temprana, una vez recuperado el óptimo desenvolvimiento del ecosistema ruminal y su metabolismo general, es importante pensar en maximizar la recuperación del consumo voluntario de materia seca (CMS) que se ve deprimido durante este periodo, también implementar estrategias de suplementación vitamínico-mineral o los llamados nutrientes antioxidantes que mitiguen el estado de inmunosupresión y estrés que caracteriza a este período (Corbellini 1998).



La salud reproductiva constituye el eje del estudio de la mayor parte de las investigaciones por desempeñar un importante rol para lograr una correcta eficiencia reproductiva (LeBlanc 2008).

Un aspecto muy importante para considerar una completa salud uterina es la ausencia de endometritis subclínica (ES) en las vacas post parto, dentro de las enfermedades uterinas la ES constituye un grave problema económico y productivo de gran importancia (Rinaudo, 2012), esto puede explicarse porque ES está asociada a una disminución de la tasa de concepción en la inseminación artificial (IA) siguiente, siendo del 53% en vacas con ES y del 47% de las vacas sin ES (Maurino *et al.*, 2012); la ES se la ha definido como la inflamación endometrial determinada por citología, en ausencia de signos sistémicos, y está asociada con una involución uterina deficiente que tiene un efecto negativo sobre el retorno de la actividad ovárica la misma que altera los índices reproductivos (Sheldon *et al.*, 2006).

Celi *et al.*, (2010) mencionan que en vacas lecheras, la gestación y lactancia son consideradas estados fisiológicos para inducir estrés metabólico, es decir, las vacas lecheras pueden experimentar estrés oxidativo, que puede estar relacionada con enfermedades metabólicas durante el período de transición. Ipek *et al.*, (2012) en su estudio proponen que el mejoramiento de la situación oxidativa de vacas se puede conseguir mediante la modificación de las prácticas de nutrición (proteínas, energía, vitaminas y minerales), la suplementación de aditivos para piensos con propiedades antioxidantes que mitigue los efectos nocivos de estrés oxidativo y tenga un impacto directo sobre el comportamiento productivo y reproductivo.

En estudios realizados en últimas décadas Church *et al.*, (2009) manifiestan que la zeolita natural (Clinoptilolita), se ha adicionado en la dieta en la cría de animales para muchos propósitos, por ejemplo para mejorar varios rendimientos productivos como: calidad de carcasa, rendimiento de huevos, ganancia diaria de peso, mejorar la conversión alimenticia, disminuir problemas de diarreas, control de la humedad y olores, así como una mejora en el rendimiento reproductivo de cerdas (Flowers *et al.*, 2009), sin embargo, poco se conoce sobre las potencialidades de la zeolita (Clinoptilolita) en el desempeño reproductivo de vacas de leche en el periodo de transición.



Algunos estudios han demostrado que tienen propiedades alcalinas altas (acción de amortiguación), y ya se utilizan en medicina para regular adecuadamente el equilibrio del pH del cuerpo (Wu *et al.*, 2015), estimula el sistema inmunológico (Ivkovic *et al.*, 2004); se ha reportado que tiene efectos como un antioxidante, lo que significa que atrapa radicales libres, inactivando y eliminándolos (Yarovan, 2008), (Dogliotti *et al.*, 2012), (Wu *et al.*, 2015). En estudios recientes Karatzia *et al.*, (2013) reportan que durante los últimos 2 meses de gestación y la lactancia subsiguiente ha mejorado el estado de energía y el comportamiento reproductivo de las vacas lecheras expresadas en sus índices reproductivos. Mientras que estudios en el mejoramiento de la salud uterina, involución uterina y retorno de la actividad ovarica en el periodo de transición es escasa.

De esta manera para el estudio se planteó los siguientes objetivos:

### **Objetivo general**

Evaluar el efecto de zeolita (Clinoptilolita 2%) adicionada a la en la dieta basal de vacas lecheras durante 105 días (60 días pre-parto y 45 días post-parto) y su influencia en la involución y salud uterina, el retorno de la actividad ovárica y la condición corporal.

### **Objetivos específicos**

1. Evaluar la adición de Zeolita (Clinoptilolita) al 2% por día en la dieta basal de vacas y su efecto en el comportamiento uterino: involución uterina (palpación rectal), salud uterina (cytobrush) y retorno de la actividad ovárica (ultrasonografía) durante los 45 días post parto.
2. Evaluar la influencia de la adición de zeolita (Clinoptilolita) en la Condición corporal de las vacas antes, al parto y después del parto.

### **Hipótesis.**

La utilización de zeolita (Clinoptilolita) al 2%/vaca/día en la dieta basal de vacas durante 105 días (60 días preparto y 45 días posparto) influye positivamente en involución y salud uterina, retorno de la actividad ovárica y la condición corporal.



## CAPÍTULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Periodo de Transición y Condición Corporal en vacas lecheras.

Corbellini *et al.*, (2008) definen al periodo de transición como el intervalo entre los 30 - 40 días antes parto y 35 - 45 días después del parto. Por otra parte Grummer (1995), Drackley, (1999) y Chapinal *et al.*, (2012) concretan que el periodo de transición oscila entre 3 semanas antes a 3 semanas después del parto. Drackley, (1999) explica que el periodo de transición es de vital importancia para la salud uterina, la producción y la rentabilidad de las vacas lecheras, y que la mayoría de los trastornos de la salud se producen en este periodo en comparación con las otras etapas del ciclo de lactancia. Durante este período, se presentan deficiencias y/o variaciones nutricionales que suelen dar origen a las denominadas “enfermedades de la producción”, y se incluyen los clásicos desórdenes resultantes de los desbalances nutricionales o de regulación hormonal, como la hipocalcemia puerperal, la tetania hipomagnésica, la cetosis/hígado graso y las enfermedades de los estómagos (acidosis ruminal, impactación ruminal, desplazamiento del abomaso), y a todo un conjunto de afecciones clínicas y, sobre todo, subclínicas (Corbellini *et al.*, 2008). Madoz, (2012) añade que las hembras bovinas de leche enfrentan un gran desafío durante el periodo de transición, dado que es una etapa de máximos requerimientos nutricionales, y a parte de existir aumento progresivo de la producción láctea hacia el pico de lactancia, se incluye la involución uterina, el retorno a la ciclicidad y el establecimiento de una nueva gestación.

Chapinal *et al.*, (2012) manifiestan durante este periodo se produce un aumento en la demanda de energía causado por el crecimiento fetal y el inicio de la lactancia, mientras que a menudo disminuye el consumo de materia seca CMS, en consecuencia inmediatamente después del parto todas las vacas en producción lechera experimentan cierto grado de balance energético negativo (BEN o deficiente CC); en estudios anteriores se ha determinado que la duración media del BEN es de 45 días post parto, con una desviación estándar de 21 días (Herdt, 2000), (Grummer & Rastan, 2004).

En general, el consumo de materia seca disminuye en aproximadamente 30% durante el periodo preparto, al comienzo del periodo seco llega a un 2% de consumo de MS de acuerdo a su peso corporal en kilogramos, luego en la última semana



antes del parto disminuye hasta a 1,4% de consumo de materia seca (CMS) conforme su peso corporal, y después del parto el consumo de materia seca aumenta a un ritmo de 1,5 a 2,5 kg por semana (Chapinal *et al.*, 2012).

Para las vacas lecheras, la etapa gestación final, lactancia temprana son considerados estados fisiológicos que inducen a un estrés metabólico que conlleva a un estrés oxidativo (Celi *et al.*, 2010), (Lange *et al.*, 2016); en consecuencia, la mayoría de vacas lecheras experimentan un aumento de producción de radicales libres que de hecho puede estar relacionada con las enfermedades metabólicas del período de transición, también se podría argumentar que la gestación se caracteriza por ser un estado pro inflamatorio debido a que la actividad de los monocitos y macrófagos se ve incrementada (Celi & Gabai, 2015). Estas adaptaciones metabólicas son probablemente la razón para que se produzcan los cambios inmunológicos contribuyendo a que aproximadamente entre el 30 a 50% de las vacas lecheras experimenten enfermedades metabólicas y enfermedades infecciosas en el período inmediatamente después del parto (Lange *et al.*, 2016).

El mejoramiento de la situación oxidativa de vacas se puede conseguirse mediante modificaciones en las prácticas de nutrición (proteínas, energía, vitaminas y minerales), utilizando suplementación con aditivos que tengan propiedades antioxidantes que disminuyan los efectos nocivos de estrés oxidativo que tienen un impacto directo sobre el comportamiento productivo y reproductivo (Ipek *et al.*, 2012), (Sordillo, 2016).

Castro, (2011) explica que durante este periodo, el útero, los ovarios y el eje hipotálamo-hipófisis deben restablecer su actividad, además se esperan la maduración hormonal del eje hipotálamo-hipófisis, los cambios morfológicos e histológicos en el útero y el establecimiento de la nueva población folicular en el ovario que conducirán a la primera ovulación, todo esto puede ser afectado por el BEN. Una combinación de efectos asociados con el BEN incluye cambios en la concentración de hormonas y metabolitos circulantes que pueden interactuar con los centros altos del cerebro, hipotálamo e hipófisis (Drackley, 1999).

Edmonson *et al.*, (1989) se refieren a que la condición corporal (CC) es un método subjetivo, que permite evaluar el grado de reservas corporales (energía metabolizable) independiente de la estructura, peso vivo y tamaño del animal, siendo





una herramienta útil para pronosticar el desempeño productivo y reproductivo, la escala utilizada en bovinos de leche es de 1 a 5. García, (2012) hace referencia que la CC nos permite estimar la cantidad de energía metabólica que se almacena como grasa subcutánea, y su reducción en el periodo de transición es debido a los cambios metabólicos, es así que se pueden deducir las fluctuaciones del balance de energía en el animal, las cuales son más severas en el período de transición, relacionándose con la aparición de enfermedades posparto y el rendimiento reproductivo.

De esta manera Corbellini, (1998) sugiere que para disminuir los factores de riesgo durante el período de transición hay que lograr una progresiva adaptación del rumen en las dietas donde existe el desafío de cantidad y calidad de alimento en la lactancia temprana, una vez recuperado el óptimo desenvolvimiento del ecosistema ruminal y su metabolismo general, es importante pensar en maximizar la recuperación del consumo voluntario de materia seca (CMS) que se ve deprimido durante este periodo, también implementar estrategias de suplementación vitamínico-mineral o los llamados nutrientes antioxidantes que mitiguen el estado de inmunosupresión y estrés que caracteriza a este período.

Factores dietéticos tales como antioxidantes y balance de energía es probable que sean importantes para la función de neutrófilos y la respuesta inmune (Sheldon *et al.*, 2008). Una nutrición apropiada es un requisito para el exitoso funcionamiento del aparato reproductor bovino, la pérdida de las reservas corporales durante el periodo de transición y las variaciones en el consumo de materia seca puede afectar de manera negativa el reinicio de la actividad ovárica y la tasa de concepción (Cordoba *et al.*, 2014).

## **2.2 Involución uterina, salud uterina y actividad ovárica en vacas lecheras.**

Después del parto y antes de que sea establecido con éxito la siguiente gestación, cuatro eventos concomitantes deben ser completados: la involución uterina, la regeneración del endometrio, el retorno de la actividad cíclica ovárica, y la eliminación de la contaminación bacteriana (Sheldon *et al.*, 2008).

La eficiencia reproductiva de las vacas lecheras de alto rendimiento está influenciada por el intervalo postparto (IPP), involución uterina, primera ovulación, primera I/A, y la concepción (Aungier *et al.*, 2014).



La involución uterina normal es fundamental para proporcionar un contexto de la clasificación exacta de los hallazgos después del parto para definir su comportamiento fisiológico o patológico (LeBlanc, 2008). La involución uterina es la recuperación del útero de su período gestacional y de los efectos del parto, a una etapa pre gestacional, describiendo como un retorno a la normalidad en cuanto a su ubicación, a su tono, consistencia, tamaño (Rutter, 2002), simetría de sus cuernos (Domínguez, 2008) y aptitud para una nueva preñez (Castro, 2011).

Los acontecimientos en la involución uterina empiezan desde la eliminación de los loquios entre los 14 a 23 días en leche DEL, mientras que la involución cervical es más lenta que la del útero, de manera que por los 15 días en leche DEL, el diámetro del cuello del útero normalmente excede al de los cuernos del útero (LeBlanc, 2008).

Una involución uterina completa ayuda a la resolución de infecciones uterinas (Castro, 2011). En estudios anteriores, Domínguez *et al.*, (2008) mencionan que en vacas Holstein el tiempo requerido para completar la involución uterina es de 29,6 a 35,8 días, y a través del monitoreo con ultrasonido se han observado rangos entre 23 a 42 días. Los tiempos reportados por LeBlanc, (2008) para una completa involución del útero y cuello uterino oscilan de 25 a 47 días, mientras que la completa involución microscópica, demora más tiempo que la involución palpable, puede extenderse de 42 a 50 días.

La eficiencia reproductiva está manifestada en una rápida gestación y lactancia subsiguiente en vacas lecheras después del parto, esto es dependiente de una adecuada involución uterina (regeneración del endometrio y eliminación de la contaminación bacteriana) y, por lo tanto, del estado de salud del útero acompañada de un pronto retorno de la actividad ovárica, finalizado el periodo voluntario de espera (PVE) (LeBlanc, 2008). De esta manera Pascottini *et al.*, (2015) sugieren que las vacas productoras de leche deben parir a intervalos regulares para incrementar la producción individual y total del hato, añadiendo que cualquier problema reproductivo repercutirá directamente sobre la producción.

LeBlanc, (2008), manifiesta que la salud reproductiva constituye el eje del estudio de la mayor parte de las investigaciones por desempeñar un importante rol para lograr una correcta eficiencia reproductiva.



Un aspecto muy importante para considerar una completa salud uterina es la presencia de endometritis subclínica (ES) en las vacas post parto, dentro de las enfermedades uterinas la ES constituye un grave problema económico y productivo de gran importancia (Rinaudo, 2012), esto puede explicarse porque la ES está asociada a una reducción de la tasa de concepción (TC) en la inseminación artificial (IA) siguiente, presentando un 53% en vacas con ES y del 47% de las vacas sin ES (Maurino *et al.*, 2012); la ES se la ha definido como la inflamación endometrial determinada por citología, en ausencia de signos sistémicos, y está asociada con una involución uterina deficiente que tiene un efecto negativo sobre el retorno de la actividad ovárica la misma que altera los índices reproductivos (Sheldon *et al*, 2006).

Algunas investigaciones anteriores descrita por De Boer *et al.*, (2015) demuestran que después del parto, la mayoría de las vacas tienen bacterias presentes en el útero, sin embargo, la mayoría de las vacas se someten a un proceso de espontáneo de auto reparación e involución del útero y endometrio en determinado tiempo. Una amplia diversidad de especies bacterianas están presentes en el útero de las vacas, pero las diferencias entre especies bacterianas aisladas se da entre vacas sanas y aquellas con enfermedad del tracto reproductivo.

La contaminación uterina con bacterias está presente en la vaca lechera posparto, casi la mitad de todas las vacas lecheras posparto desarrollan enfermedad clínica que resulta en la metritis y endometritis, y producen una disminución en la producción de leche y la fertilidad (Bromfield *et al.*, 2015). La infección e inflamación del útero y del cuello uterino afectan aproximadamente a uno de cada tres vacas lecheras, con impactos sustanciales sobre la probabilidad y el momento de gestación (LeBlanc *et al.*, 2011). Las bacterias que se consideran potencialmente patógenas para el tejido uterino son *Escherichia coli* y *Pyogenes trueperella* (De Boer *et al.*, 2015).

La inmunidad innata de leucocitos PMN (neutrófilos) es el mecanismo predominante de la defensa inmune temprana tanto en la ubre y el útero (LeBlanc, 2014). Los neutrófilos (PMN), células fagocíticas, son la primera línea de defensa frente infecciones, reclutados desde circulación periférica hacia la luz uterina para fagocitar y controlar la invasión bacteriana (Sheldon & Dobson, 2004).



La función de los neutrófilos se encuentra reducida en las vacas después del parto; y esto puede predisponer al establecimiento de la enfermedad uterina (Sheldon & Dobson, 2004). El Balance energético negativo, las concentraciones circulantes de NEFA, la gravedad de la resistencia a la insulina, acompañado de un bajo consumo de materia seca y la pérdida de peso contribuyen con la reducción del grado y duración la defensa inmune general (LeBlanc *et al.*, 2011).

Está claro que existen interacciones entre el estado de energía y la función inmune. Por ejemplo, hay evidencia de que las concentraciones de NEFA circulantes en las vacas alrededor del parto están asociados con la función deteriorada de los PMN (LeBlanc, 2014). Este alto riesgo de enfermedad puede atribuirse, en parte, a la reducción de la función inmune desde aproximadamente 2 semanas antes a 3 semanas después del parto (LeBlanc *et al.*, 2011)

La demanda de energía metabolizable para la producción de leche en vacas posparto conduce a un aumento significativo de la movilización de lípidos, y esta movilización de lípidos se asocia a menudo con trastornos metabólicos y reproductivos, incluyendo la enfermedad uterina (Healey *et al.*, 2015).

La vaca lechera experimenta un período de equilibrio de nutrientes negativos después del parto debido a las altas exigencias dietéticas de energía para la síntesis de leche; la homeostasis energética y del metabolismo está estrechamente relacionados con la eficacia del sistema inmunológico para combatir infecciones; es así que estudios recientes han dado peso al argumento de que las vacas con los marcadores del catabolismo tisular más exacerbado a causa de balance energético negativo son más propensos a desarrollar enfermedades uterinas (Bromfield *et al.*, 2015).

Los factores de riesgo para la enfermedad uterina ha sido descrito por varios autores, incluyen, baja condición corporal al momento del parto, hipercetonemia, la enfermedad periparto – trastornos metabólicos, retención de placenta, gemelos, distocia, la paridad y la estación (Dubuc *et al.*, 2010), (De Boer *et al.*, 2015).

Mariño *et al.*, (2015) citan en las últimas décadas, el conocimiento de la fisiopatología de los trastornos clínicos, por ejemplo, metritis, endometritis, y endometritis subclínica (SE) se ha incrementado de manera significativa; sin embargo, a pesar del elevado número de investigaciones al respecto siguen sin



estar totalmente claros algunos factores del problema (Madoz *et al.*, 2013) (Pothmann *et al.*, 2015). Uno de estos factores resulta ser el tratamiento, donde se puede dilucidar que no existen muchos trabajos sobre este tema y los pocos que existen, o bien no obtienen resultados favorables (Pothmann *et al.*, 2015), y si los han obtenido, al momento de ser expuestos generan controversia o no son concluyentes (Kasimanickam *et al.*, 2004), (Prieto *et al.*, 2012).

Dentro de las diferentes enfermedades de las vacas lecheras en la etapa post-parto, la endometritis ocupa un papel importante por las pérdidas económicas y productivas que esta genera en las unidades productivas (Madoz, 2012), (De la Sota *et al.*, 2014).

De acuerdo a sus manifestación de signos clínicos las endometritis se clasifican en clínica (EC) y subclínica (ES), sólo en el primer caso el animal muestra signos de enfermedad (descargas uterinas anormales o purulentas), mientras que en la ES no se evidencian signos clínicos, sólo se detecta por citología endometrial, por la presencia de neutrófilos (PMN) en la luz uterina (De la Sota *et al.*, 2014); la ES está asociada con una involución uterina deficiente misma que tiene un efecto negativo por alterar los índices reproductivos (Moura *et al.*, 2012).

Está justificado, que independiente del sistema de producción, la EC y la ES afectan la eficiencia reproductiva de las hembras bovinas por aumentar los intervalos IP1S, IPC e IPP y, la cantidad de servicios necesarios para preñar (Madoz, 2012). La endometritis subclínica reduce la tasa de concepción (TC) al primer servicio y aumenta el intervalo parto concepción por 30 días (Madoz *et al.*, 2013). Debido a que la ES se presentan en vacas clínicamente sanas, es decir animales con flujo vaginal normal y sin signos clínicos evidentes, no es fácilmente diagnosticada, esto quiere decir que la mayoría de vacas que no manifiesten ningún signo de enfermedad del tracto reproductivo pueden estar cursando ES y como consecuencia su fertilidad puede verse afectada (De la Sota *et al.*, 2014).

Maurino *et al* en su estudio del 2012 citan varias investigaciones e indican que la endometritis subclínica está asociada a una reducción de la tasa de concepción (TC) en la inseminación artificial (IA) siguiente, presentado un TC del 53% en vacas con ES y del 47% de las vacas sin ES (Sasadel *et al.*, 2010). La disminución así como un mayor intervalo entre el parto y la concepción, podría explicarse debido a que la ES



modifica las concentraciones de esteroides ováricos afectando la calidad del ovocitos y esto podría explicar, en parte, las tasas de concepción más bajas y mayor intervalo entre el parto y tasa de concepción (Green *et al.*, 2011).

La inflamación subclínica del endometrio (ES) necesita, para poder ser diagnosticada, necesita de algún método complementario y este es el análisis citológico, debido a que el animal no presenta ningún signo local o general que oriente a pensar en la existencia de una patología uterina (Sheldon *et al.*, 2006). El análisis citológico (citología endometrial) es una práctica que recientemente se ha innovado y sus aplicaciones han sido para la evaluación de la salud uterina y defensa uterina en bovinos, es rápida, específica, sensible y económica, siendo útil para el desarrollo de la investigación en endometritis subclínicas (Madoz, 2012); también es interesante su utilizarla como herramienta de diagnóstico en vacas repetidoras para confirmar o no la presencia de contaminación bacteriana que es una sus causas (Rutter, 2015).

EL Citocepillo (Cytobrush) ha sido descrita como la mejor técnica para la obtención de la citología endometrial en vacas debido a su confianza y la falta de distorsión celular como suele suceder con el lavaje uterino (Kasimanickam *et al.*, 2005); es una técnica más sensible y consistente siendo la herramienta principal para diagnóstico de endometritis clínica y subclínica en bovinos (Rinuado, 2012).

Rutter, (2015) realiza un extracto de varias investigaciones sobre los puntos de corte, mismos que sirven de referencia para considerar una muestra (Cytobrush) positiva a endometritis sub clínica en vacas manejadas en sistemas lecheros intensivos bajo estabulación (Kasimanickam, 2004), (Kasimanickam, 2005) (Sheldon, 2006) siendo estos que:

Entre 20 – 33 días post parto > 18 % de polimorfos nucleares

Entre 34 – 47 días post parto > 10 % de polimorfos nucleares

Entre 40 – 60 días post parto > 5 % de polimorfos nucleares

Así mismo Rutter, (2015) cita que los puntos de corte encontrados por Madoz, (2012); De la Sota *et al.*, (2014) en vacas al pastoreo, considerándolas positivas cuando:

Entre 21 – 33 días post parto > 8 % de polimorfos nucleares



Entre 34 – 47 días post parto > 6 % de polimorfos nucleares

Entre 40 – 60 días post parto > 4 % de polimorfos nucleares

Estos datos pueden ser utilizados para evaluar el estado de salud uterina en vacas productoras de leche bajo diferentes sistemas de producción Rutter, (2015).

Estudios demuestran que después del parto, las concentraciones de hormonas esteroides se reducen a valores basales, y hay un incremento en la concentración plasmática de la hormona folículo estimulante (FSH) que estimula la aparición de la primera onda folicular; el primer folículo dominante se selecciona alrededor de 10-12 días después del parto. (Sheldon, 2004), (Sheldon *et al.*, 2009).

A partir de 6 a 8 días después del parto es posible observar los ovarios mediante ecografía transrectal, varios eventos se producen en todas las vacas después del parto, independientemente de la enfermedad uterina, medio ambiente o deficiencias en la dieta, sin embargo, el primer folículo dominante tiene tres posibles destinos: la ovulación acompaña con la formación del primer cuerpo lúteo post parto (retorno de actividad cíclica de ovario), la atresia con la aparición de una o más ondas foliculares sin ovulación (anestro), y por último la formación de una quiste folicular ovárico (Sheldon *et al.*, 2009).

Las vacas con infecciones microbianas en su tracto reproductivo tienen un crecimiento más lento de los folículos dominantes, menores concentraciones de estradiol y de progesterona en plasma, y son menos propensos a ovular (Sheldon *et al.*, 2009). Todavía hace falta mucho por investigar acerca de los factores determinantes de la función inmune en el ganado lechero en el período de transición y, en particular, sobre los medios específicos para prevenir la enfermedad uterina (LeBlanc *et al.*, 2011).

Numerosos estudios recientes han informado de que el comportamiento reproductivo de las vacas lecheras se ha visto comprometida principalmente en el retraso del retorno de la actividad ovárica posparto (Gautam *et al.*, 2010).

La reanudación de la ciclicidad ovárica es esencial en las vacas lecheras posparto para asegurar la siguiente preñez y la rentabilidad del hato. La duración de la anovulación posparto en vacas lecheras es variable, en promedio, la primera ovulación posparto se produce en 30 días post parto (Dubuc *et al.*, 2012).





Hay tres eventos fisiológicos claves que pueden ser detectados por ecografía durante el crecimiento folicular: emergencia de la onda folicular (~4 mm de diámetro), desviación folicular (~9 mm de diámetro), y la ovulación (variable entre estados fisiológico de 10 a 20 mm de diámetro) (Wiltbank *et al.*, 2002).

La reactivación ovárica se puede definir como la presencia de un folículo y/o un cuerpo lúteo mayor a 8 mm de diámetro entre 7 y 10 días posparto inmediatamente antes de la emergencia de un folículo dominante (Castro, 2011).

Heppelmann *et al.*, (2013) cita que el intervalo parto primera ovulación se ve afectada por la nutrición, condición corporal (Santos, 2009), el amamantamiento (Silveira, 1993), la paridad (Tanaka, 2008), y la enfermedad uterina (Sheldon, 2002), (Williams, 2007). En vacas sanas, el intervalo a la primera ovulación tiene una duración de 21 a 30 días (Heppelmann *et al.*, 2013). Las enfermedades uterinas puerperales pueden prolongar el intervalo anovulatorio por hasta 10 días (Heppelmann *et al.*, 2013).

### **2.3. Uso de la zeolita (Clinoptilolita).**

En las últimas décadas, zeolita natural (Clinoptilolita), se ha adicionado como aditivo con éxito a la nutrición en la cría de animales para muchos propósitos (Ipek *et al.*, 2012). Castaing (1998) cita que su uso a servido para mejorar varios rendimientos productivos como: calidad de carcasa, rendimiento de huevos, ganancia diaria de peso, mejorar la conversión alimenticia, disminuir problemas de diarreas, control de la humedad y olores de galpones de crianza producidos por las deyecciones.

Actualmente hay al menos 50 diferentes tipos de zeolitas conocidas, la Clinoptilolita natural (NCLI), es la más utilizada en un gran número de aplicaciones, contiene la mayor parte de los minerales principales y trazas que son esenciales para el crecimiento de los pollos, ganado y animales acuáticos (Wu *et al.*, 2013).

Las zeolitas son aluminosilicatos cristalinos hidratados de cationes alcalinos y alcalinotérreos, con marcos tetraédricos de  $\text{SiO}_4^{4-}$  y  $\text{AlO}_4^{5-}$  interrelacionados (Papaioannou *et al.*, 2005). Que confiere al mineral una carga neta negativa, esta carga negativa se equilibra mediante un catión intercambiable, normalmente sodio, potasio o calcio (Flowers *et al.*, 2009). Se presentan como un absorbente versátil, con propiedades de intercambio de cationes, deshidratación y rehidratación (Pavelic





*et al.*, 2002), y de efecto catalizador cualidad utilizada para múltiples usos en la industria, la agricultura y la alimentación animal (Wu *et al.*, 2015).

La clinoptilolita es probablemente más abundante en la naturaleza y ha despertado la atención en la nutrición animal por sus propiedades de enlaces de cationes, varias investigaciones en Japón, Rusia, Yugoslavia, Checoslovaquia, Estados Unidos y otros países proporcionan pruebas de mejoría en la ganancia de peso corporal y en la eficiencia de utilización del alimento de animales rumiantes y mono gástricos alimentados con dietas de 1 a 5% de clinoptilolita (Church *et al.*, 2009). Este mineral NCLI es destacado por tener ciertas cualidades únicas que podrían convertirlo en una alternativa prometedora a los agentes quelantes disponibles en la actualidad para eliminar metales pesados de la sangre, los tejidos y las reservas adiposas (Flowers *et al.*, 2009).

La inclusión de estos aluminosilicatos obedece a sus propiedades físico-químicas, que permiten mejorar la eficiencia nutricional en rumiantes, sobre todo cuando se utilizan raciones fibrosas de mala calidad (Gutiérrez *et al.*, 1999). Las zeolitas naturales incrementan bacterias celulolíticas ruminales y su actividad en rumiantes que consumen ensilaje como dieta fibrosa, en estudios desarrollados recientemente por Gutiérrez *et al.*, (2004) quedó demostrado que las zeolita y la bentonita sódica, también se pueden utilizar para manipular la proteólisis ruminal, ambos minerales ejercen efectos reductores en la fermentación las proteínas dietarías, aunque los mecanismos se diferencian entre sí (Galindo *et al.*, 2005).

Rivera, (2005) ha reportado algunos mecanismos de acción, la clinoptilolita actuaría como un intercambiador de iones por el amonio e iones metálicos y puede selectivamente absorber moléculas de gas simple y vapor; esta propiedad de intercambio iónico puede llevar a iones como el  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Na}^+$  a ser más útiles. Katsoulos *et al.*, (2006) citado por Karatzia *et al.*, (2013) manifiestan que la clinoptilolita mejora el estado energético de las vacas lecheras en torno al parto. Este efecto se atribuyó a la mayor producción de propionato en el rumen y/o el aumento de la digestión post-ruminal del almidón.

La estabilización del pH es uno de los beneficios que le caracterizan a la zeolita natural, las zeolitas pueden regular el pH en el sistema digestivo del animal, resultando en menos problemas digestivos (Mumpton, 1999). La zeolita estabiliza el



pH y mejora las condiciones ruminales debido a la presencia de sales que liberan cationes como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  los que a su vez son requeridos por las bacterias ruminales, las bacterias celulolíticas que fermentan la celulosa y son muy sensibles a la acidez excesiva, estas desarrollan mejor su actividad cuando el pH del rumen tiene un valor comprendido entre 6,4 y 7,0; su tasa de multiplicación empieza a disminuir si su pH desciende a un valor de 6,2, llegando a ser nula cuando el pH es inferior a 6,0 (Galindo, 2005).

Algunos estudios han demostrado que la Clinoptilolita tienen propiedades alcalinas altas, acción de amortiguación (Pavelic, 2002); ya que se utilizan en medicina para regular adecuadamente el equilibrio del pH del cuerpo (Andronikashvili *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2015), estimular el sistema inmunológico (Zarcovic *et al.*, 2003), (Ivkovic *et al.*, 2004) y como un antitumoral en medicina humana (Pavelic, 2002), (Andronikashvili *et al.*, 2009); la clinoptilolita natural activada tiene efectos positivos como un antioxidante, lo que significa que atrapa radicales libres, inactivando y eliminándolos, cumpliendo de esta manera un efecto inmunomodulador (Yarovan, 2008), (Dogliotti *et al.*, 2012), (Ipek *et al.*, 2012), (Wu *et al.*, 2015); las zeolitas han sido clasificado dentro del grupo esencial como “nutraceútico” (Katic *et al.*, 2006), (Pavelic *et al.*, 2005).

Los mecanismos implicados en las zeolitas con efectos antioxidantes no se conocen completamente ya que las zeolitas administradas por vía oral no se absorben en la sangre es posible que su efecto *in vivo* puede ser debido a una interacción indirecta con sistemas bioquímicos, tales como la toxina y la eliminación de residuos biológicos desde el intestino, la activación del sistema inmune es a través de la asociación de mucosa intestinal con el tejido linfoide y también mediante el aumento de la biodisponibilidad de elementos minerales, que son importantes cofactores para las enzimas (Dogliotti *et al.*, 2012).

Durante los últimos 2 meses de gestación y la lactancia subsiguiente mejora el estado de la energía y el comportamiento reproductivo de las vacas lecheras en su primera lactancia (Karatzia *et al.*, 2013). La Clinoptilolita es muy sustancial porque causa un incremento en la eficiencia de la dieta y la producción láctea del ganado lechero, además de que puede disminuir los problemas de mastitis (Ural, 2014).



La administración dietética a largo plazo de zeolita tiene efectos beneficiosos sobre el estado de salud de los animales y el rendimiento productivo y reproductivo (Karatzia, *et al.*, 2013); en rumiantes la inclusión de zeolita repercute beneficiosamente en la calidad de la leche, el estado de salud y conducta reproductiva de los animales (Ural *et al.*, 2013), (Ural, 2014), (Hernández, 2015).



## CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1 Materiales.

#### 3.1.1. Materiales Biológicos.

- Vacas Holstein Friesian mestizas.
- Muestras de citología endometrial

#### 3.1.2. Materiales Físicos.

##### 3.1.2.1 Materiales de Campo.

Cinta bovinométrica, pistola de inseminación, vainas y fundas sanitarias para inseminar, citocepillo (Cytobrush), ecógrafo (Kaixin - *RKU 10* portátil, LCD, transductor lineal 6,5 MHz), portaobjetos, guantes ginecológicos, guantes de inspección, botas, overol.

##### 3.1.2.1 Materiales de Laboratorio

Tinción Wright, portaobjetos, cubetas para tinción, pizetas con agua destilada, papel secante, guantes de inspección, microscopio (CX31-Olimpus), aceite de inmersión.

### 3.2 Ubicación.

El trabajo investigativo se realizó en tres haciendas, pertenecientes a ganaderos que conforman la Asociación AGAPROLAY ubicadas en la provincia del Azuay, cantón Cuenca, Parroquias San Joaquín y Baños, en las localidades de Soldados (2°56'19.5"S 79°13'10.6"W), Pumamaqui (2°55'57.6"S 79°12'40.9"W) y El Capulí (2°55'53.7"S 79°11'34.5"W). Las altitudes oscilan entre 3100 – 3300 msnm, con una precipitación promedio de 1074 mm/año y una temperatura entre los 10 – 16°C (Programa de Ganadería-EEA, 2014).

El laboratorio para el análisis de las muestras de citología endometrial obtenidas corresponde un laboratorio clínico microbiológico e inmunológico (C&S Laboratorios) localizado en la ciudad de Azogues, provincia del Cañar (2°44'23.1"S 78°50'51.0"W) calles Rivera 3-15 y 3 de Noviembre.

### 3.3 Caracterización de la unidad de análisis.

El proyecto se realizó en 50 vacas Holstein Friesian mestizas entre 3 a 7 años de edad, entre segundo y quinto parto, con una condición corporal al secado de  $\geq 3,5$



según Edmonson *et al.*, (1989), y clínicamente sanas a un Examen Objetivo General (EOG), identificadas con arete en cada una de las tres haciendas que se encontraban próximas entre sí, además estas tres unidades de producción estaban estandarizadas a un mismo sistema de manejo, ordeño mecánico dos veces al día y la alimentación de las vacas del periodo de secado ( $\pm 60$  días) que fue el motivo de nuestro estudio, su dieta basal consistía exclusivamente a base de pasto y sales minerales de manera ocasional (Tabla 1), sin embargo, la alimentación de las vacas en producción era diferentes y la dieta basal era a base de pasto, silo de pasto, silo de maíz, concentrado comercial y sales minerales/vitaminas.

Las vacas que presentaron distocia, retención de membranas fetales y con CC < 3,5 se excluyeron.

Las unidades experimentales seleccionadas al secado se asignaron de manera aleatoria, dividiendo en 2 grupos, un control GC ( $n_1=25$ ) y un grupo experimental GE ( $n_2=25$ ) a las cuales se adiciono 2% de Zeolita (Clinoptilolita) a la dieta desde los 60 dap hasta los 45 dpp. A todas las vacas post parto se les practicó palpación rectal para evaluar involución uterina (IU), ultrasonografía (Usx) para evaluar actividad ovárica (AO) y citologías endometriales para evaluar salud uterina (SU), y una valoración subjetiva de la CC durante los períodos pre y post-parto.

### **3.4 Metodología.**

La investigación se realizó durante 17 semanas, entre junio y octubre de 2015. Se dio comienzo al experimento 8 semanas antes de la fecha esperada al parto (+/-60 días antes del parto).

#### **3.4.1 Pesaje de las vacas.**

Al inicio de la investigación se estimó el peso real adulto mediante un promedio en cada grupo, considerando los animales en producción de leche y los animales que están en el secado, mediante la utilización de la cinta bovinométrica, y se evaluó el peso de 10 vacas (5 en producción y 5 secas) por granja con un total de 30 animales pesados, y se obtuvo un peso promedio de 450 kg/PV de las unidades experimentales, el cual sirvió de referencia para el cálculo del consumo del 2% de zeolita para el GE mediante la estimación del consumo de alimento en base de materia seca.



### 3.4.2 Dieta basal y manejo de los grupos.

El grupo control y grupo experimental durante su periodo de secado ( $\pm 60$  dap), la dieta basal fue exclusivamente al pastoreo (mezcla de Rye-grass anual y perenne un 90% y trébol blanco un 10%), usando cerca eléctrica y añadiendo sales minerales de forma ocasional. Consecuentemente, se identificó a las vacas del GE mediante el uso de cintas colocadas en el cuello para facilitar la adición de Zeolita al 2%, ambos grupos se mantuvieron en potreros destinados para vacas secas hasta el día del parto, después del parto las vacas son trasladadas a los potreros de las vacas en producción para recibir la dieta basal correspondiente (Tabla 1).

Para los dos grupos de estudio, las vacas en producción (desde el parto hasta los 45 dpp) en las tres haciendas su alimentación basal consistió en la mezcla forrajera descrita anteriormente, en comederos y en el potrero se suministró silo de pasto después del ordeño de la mañana y silo de maíz después del ordeño de la tarde, el concentrado comercial abasteció en comederos dos veces al día en el momento del ordeño en los comederos conjuntamente con las pre mezclas de vitaminas y sales minerales 120 g/vaca/día (Tabla 1).

En las tres haciendas la frecuencia de alimentación a base de pasto para las vacas secas y en producción se manejó de la siguiente manera: la producción promedio de MV/m<sup>2</sup> fue de 2,2 kg con 8 cortes/año, proporcionando un espacio de 25 m<sup>2</sup>/vaca repartidos en cuatro pastoreos día (7am, 11am, 2pm y 6pm) utilizando cerca eléctrica, el contenido de materia seca de pasto, silo de pasto, silo de maíz y concentrado que corresponden a la dieta basal de los grupos de estudio se exponen en Anexo 1, para su efecto de conversión la relación del consumo de materia seca (CMS) de la dieta basal en las vacas secas se estimó en 2% de su Peso vivo PV(kg), y el 3 % de PV(Kg) para las vacas en producción de leche, esta estimación del consumo de materia seca se utilizó para calcular la dosis de la adición de Zeolita al 2% (Tabla 1).

A partir de los resultados del análisis bromatológico proximal (Anexo 1) realizados en el Laboratorio de Servicio de Análisis e Investigación en alimentos de la Estación Experimental "Santa Catalina" del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) para determinar la calidad de los alimentos de la dieta basal se calculó el aporte energético (Mcal/ENL/día) de los ingredientes de la dieta basal (Tabla 1) según National Research Council (NRC, 2001).

**Tabla 1. Ingredientes de la dieta CMS/kg/día y aporte de Mcal/ENL/día.**

Ingredientes	Kg/MS/día	Mcal/ENL/día	Kg/MS/día	Mcal/ENL/día
	Vacas Secas	Vacas Secas	Vacas lactantes	Vacas lactantes
Pasto (Mezcla forrajera)	9,00	10,81	8,07	11,41
Silo de Pasto (Mezcla forrajera)	---	---	1,55	2,15
Silo de Maíz (Var. INIAP 180)	---	---	2,07	3,05
Concentrado	---	---	1,81	1,81
Pre mezcla de vitaminas y sales minerales (Comercial)	0,100*	---	0,120	---
Zeolita (Clinoptilolita)**	0,180	---	0,270	---
<b>TOTAL</b>	<b>9,00</b>	<b>10,81</b>	<b>13,5</b>	<b>18,42</b>

**Elaboración:** El Autor.

**Fuente:** Análisis Bromatológico proximal – Laboratorios INIAP

\*\* Adicionada al GE.

\* Adicionada de manera ocasional.

Se realizó el cálculo de los requerimientos energéticos Mcal/ENL/día de las vacas secas y vacas en lactancia de las tres haciendas con un promedio de 450 kg de peso vivo (Tabla 2), para el efecto se calculó la energía de mantenimiento, producción de leche, actividad (caminata al ordeño y pastoreo) y condiciones ambientales de temperatura (T °C) acorde al NRC, 2001 y 1996 (Anexo 1).

**Tabla 2. Necesidades energéticas Mcal/ENL/día de vacas secas y vacas en producción de leche.**

Actividad	Mcal/ENL/día.	
	Vacas Secas	Vacas en Producción
Mantenimiento	7,82	7,82
Producción de leche	--	4,72
Actividad (Pastoreo + Camina a la sala de ordeño)	0,54	3,64
Condiciones ambientales temperatura (T °C)	4,9	4,9
<b>TOTAL</b>	<b>13,26</b>	<b>21,08</b>

**Elaboración:** El Autor.

**Fuente:** Análisis Bromatológico proximal – Laboratorios INIAP

\*\* Adicionada al GE.

\* Adicionada de manera ocasional.



### 3.4.3 Adición de zeolita (Clinoptilolita)

La adición de la zeolita (Clinoptilolita) al 2% para Grupo experimental, se calculó tomando en consideración el consumo de MS, la dieta basal (Pasto, silo de pasto, silo de maíz, concentrado, pre mezcla de vitaminas y sales minerales para las vacas en producción de leche, y solo para las vacas secas pasto, pre mezcla de vitaminas y sales minerales.

La adición de Zeolita en la vacas que corresponde al GE en periodo de secado (periodo de adaptación  $\pm$  60 días) se estimó su consumo de MS en 2% en relación a su peso vivo que fue 450 Kg obteniéndose que las vacas deberían consumir 9,00 kg/MS/día ( $450\text{kg} \times 2\% = 9,00 \text{ Kg/MS/día}$ ), a este resultado se aplicó la relación del 2% de adición de Zeolita en base a su consumo de materia seca y se obtuvo una dosis de 180 g/vaca/día, en una sola frecuencia (Tabla 1), se utilizó comederos individuales para garantizar el 100% de consumo, esta adicción de zeolita corresponde al periodo de adaptación ruminal, algunos autores recomiendan un periodo de adaptación ruminal para todo tipo de cambio de dieta que va de los 21 a 30 días, por efecto de manejo, palatabilidad y que la adaptación ruminal sea más óptima se prolongó a 60 días correspondiendo a todo el periodo de secado de las vacas +/- 60 días.

La adición de Zeolita en las vacas productoras del GE desde el parto hasta los 45 dpp, se estimó su consumo de MS en 3 % en relación a su peso vivo que fue 450 Kg obteniéndose que las vacas deberían consumir 13,5 kg/MS/día ( $450\text{kg} \times 3\% = 13,5\text{Kg/MS/día}$ ), a este resultado se aplicó la relación del 2% de adición de Zeolita en base a su consumo de materia seca y se obtuvo una dosis de 270 g/vaca/día (Tabla 1), la dosis se repartió dos veces al día en el momento del ordeño utilizando los comederos individuales conjuntamente con el concentrado y sales minerales garantizando de esta manera todo el consumo del aditivo de zeolita.

La Zeolita que se utilizó fue de la empresa La Colina<sup>®</sup> Cía. Ltda., con el nombre de “Captalin” (Zeolita natural clinoptilolita) (Anexo 2).





### 3.4.4 Mediciones y evaluaciones de las variables en estudio.

#### 3.4.4.1 Retorno de la actividad ovárica (AO).

La evaluación de la actividad ovárica (**AO**) y su retorno se realizó a cada vaca por ultrasonografía a los 15, 22, 35 y 45 dpp en el ovario derecho e izquierdo. Para el efecto se utilizó un ecógrafo dotado sonda transrectal (Kaixin - *RKU 10* portátil, LCD, transductor lineal 6,5 MHz). Los folículos fueron medidos y clasificados según su diámetro en tres clases como lo describe Domínguez *et al.*, (2008), clase I ( $\leq 5$  mm); clase II (5,1-9,9mm) y clase III ( $\geq 10$  mm). Se determinó el retorno de la actividad ovárica aquellos animales que presentaron folículos  $\geq 10$  mm de diámetro y de esta manera se condicionó cómo retorno de la actividad ovárica (SI – NO) en los diferentes días de medida, se agrupo por rangos de la siguiente manera 1= a los 15 dpp, 2= a los 22dpp; 3= a los 35dpp; 4= a los 45 dpp y 5= sin actividad ovárica, explicándose en una tabla de frecuencias y porcentajes.

#### 3.4.4.2 Evaluación de la involución uterina (IU)

La evaluación de la IU se realizó en dos momentos, en los 22 y 45 dpp mediante palpación rectal, se determinó posición del útero con relación a la pelvis (PU), simetría de los cuernos uterinos (SCU), derecho e izquierdo y diámetro del cérvix (DC) utilizando la metodología modificada de LeBlanc *et al.*, (2002), citado por Domínguez *et al.*, (2008). La involución uterina con relación a PU se determinó subjetivamente al papar el útero totalmente sobre la pelvis (involuciono), mientras si el útero se encontraba por debajo de la pelvis se clasificaba como no involucionado; la SCU se estableció en involucionado cuando había una simetría del 50/50 entre los cuernos uterinos; y el DC se examinó por el tamaño de la estructura a la palpación rectal (apreciación subjetiva), clasificando como involucionado cuando su diámetro es  $\leq 5$  cm y no involucionado cuando su diámetro medía entre 5 y  $>7,5$  cm. (Domínguez *et al.*, 2008)

#### 3.4.4.3 Evaluación de la salud uterina (SU)

La evaluación de la salud uterina (**SU**) se realizó para ambos grupos al 35 dpp. Para recolectar las muestras correspondientes a los dos grupos estudios, se utilizó la metodología descrita por Madoz, (2012), utilizada para vacas en pastoreo, que consistió en obtener muestra del lumen uterino mediante el uso cepillos ginecológicos cérvico-uterinos descartables (Papanicolaou) y vainas para



inseminación descartables. Esta modificación permite utilizar una sola pistola para realizar el muestreo de varias vacas con solo realizar el cambio de los cepillos y vainas de inseminación descartables entre cada muestra. Además, permite realizar la toma de muestras en un tiempo mucho más corto y a menor costo (Madoz, 2012). Adicional a esta metodología se cubrió la pistola de inseminación preparada con una funda sanitaria para inseminación artificial con la finalidad de dar mayor protección.

Para realizar el frotis de la citología se siguió el siguiente protocolo, limpieza de la zona perineal y especialmente vaginal con un papel, una vez fijado el cérvix vía rectal, se procedió al cateterismo, mediante una maniobra similar a la utilizada en la IA, a la entrada del útero se liberó la pistola de la funda sanitaria. Luego se dirigió la pistola de inseminación por el cuerpo uterino hasta llegar al cuerno uterino de mayor tamaño, en ese momento el cepillo fue expuesto a la superficie endometrial de un cuerno uterino y girado dos vueltas completas en sentido de horario, luego el cepillo era retirado dentro de la vaina sanitaria. Una vez tomada la muestra, el cepillo era desmontado de la pistola de inseminación, rotado sobre un portaobjetos limpio y desengrasado; no se utilizó fijador por recomendación del laboratorio a donde se llevó las muestras para su evaluación.

En el laboratorio clínico microbiológico e inmunológico (C&S Laboratorios), las muestras fueron teñidas con con Tinción Wright. La observación de las muestras se hizo con microscopio óptico 400 aumentos, para esto se contaban y diferenciaban 200 células como mínimo por preparado para así obtener el porcentaje de PMN sobre células totales (Kasimanickam *et al.*, 2004) La interpretación y resultados fueron emitidos por especialistas, esto se realizó con la finalidad de garantizar una óptima interpretación de los resultados en el conteo de PMN y determinar la salud uterina. Para la interpretación del estado de salud uterina una vez emitidos los resultados del laboratorio se utilizó los puntos de corte encontrados en vacas en sistemas lecheros intensivos bajo estabulación (Kasimanickam *et al.*, 2005;) entre 34 – 47 dpp > 10 % de polimorfos nucleares es considerado positivo a Endometritis Subclínica (Sin salud uterina).

#### **3.4.4.4 Condición corporal (CC).**

La condición corporal fue valorada en cada uno de los animales que conforman el GE y GC en 4 periodos: al secado (60 días antes del parto), 15 días antes del parto,



al parto (día 0) y a los 45 días después del parto, para la evaluación de la CC se utilizó la escala 1 al 5 descrita por Edmonson *et al.*, (1988).

#### **3.4.5 Diseño experimental y estadístico.**

En este estudio se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), con dos tratamientos (GC y GE) y cada uno con 25 repeticiones considerados como unidades experimentales, con un total de 50 vacas. Los datos fueron sistematizados y analizados en el programa estadístico SPSS *versión 22,0*. Las variables IU, SU, AO y CC lo consideramos como “No Paramétricas tipo ordinales” y se usó las pruebas estadísticas “U de Mann Whitney” y “Kruscall Wallis” para establecer significancia ( $p < 0,05$ ) en sus valores promedios como tratamientos y en los diferentes tiempos de medición. Únicamente en la variable AO, se realizó una tabla de frecuencias condicionando si hubo o no retorno de la actividad ovárica en los días de medición de acuerdo al tamaño folicular explicado en la metodología.

A continuación la tabla 3 se detalla las variables en estudio:

Tabla 3. Operacionalización de las variables.

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADOR	ESCALA				
INDEPENDIENTE	1. Tipo de dieta utilizada	En el tipo de dieta se realizó un análisis bromatológico del pasto y silo concentrado, y se le administró la zeolita para evaluar su efecto	GC = Dieta Basal	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pastoreo 90%,</li> <li>Silo - concentrado mineral 10%</li> </ul>			
			GE= Dieta Basal + Zeolita 2% PV/MS	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pastoreo 90%,</li> <li>Silo - concentrado mineral 10%</li> <li>270 g/vaca día de Zeolita.</li> </ul>			
DEPENDIENTE	1.- Condición Corporal – medición subjetiva	Cuatro valoraciones: Secado, 15 días antes del parto, Al parto, 45 días post parto.	Escala 1 al 5. Edmonson <i>et al.</i> , (1988).	<b>Escala de 1 – 5:</b> 1=Flaca. 2=Moderadamente Flaca 2,5 – 2,75 = Lactancia Temprana, Post Parto y Servicio. 3 – 3,5 Aceptable- Periodo Seco. 4= Sobre peso. 5= Gorda.			
				2.- Involución uterina. (IU) - medición subjetiva	Palpación Rectal a los 21 y 45 días grupo control y experimental.	Posición del útero con relación a la pelvis (PU).	<b>1= totalmente sobre la pelvis, (Involuciono)</b> <b>2= desplazado por delante pelvis (No involuciono)</b>
						Simetría de los cuernos uterinos (SCU), derecho e izquierdo.	Derecho e izquierdo respectivamente, valor <b>1= Simétrico (involuciono)</b> <b>2= Asimétrico (No Involuciono)</b>
		Diámetro del cérvix (DC).	1 = ≤ 5 cm. (involucionó) 2= 5,1 a >7,5 cm. (No Involuciono)				



3.- Salud Uterina. (SU)	Citología endometrial (Cytobrush) a los 35 días grupo control y experimental.	Porcentaje de Polimorfo nucleares neutrófilos (%PMN)	<p>Criterio: &gt; 10% PMN (34-47 dpp): Vaca es diagnosticada positiva a ES</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Con ES</li> <li>• Sin ES</li> </ul>
4.- Actividad ovárica. (AO)	Uso del US vía transrectal día 15 –22–35 y 45 post parto	Diámetro de folículos (Tamaño folicular)	<p>Folículos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Clase 1 (<math>\leq 5</math>mm).</li> <li>• Clase 2 (5,1-9,9 mm).</li> <li>• <b>Clase 3 (<math>\geq 10</math> mm).</b></li> </ul> <p><b>Criterio:</b> se consideró como retorno de la actividad ovárica sólo folículos de clase 3</p>

Elaborado por: El Autor.

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS

### 4.1. Condición Corporal (CC)

Al evaluar la variable CC, se consideró los valores promedios de cada grupo, presentando mejores valores y eficiencia en el GE vs. GC a los 15 dap, parto y 45 dpp (Cuadro 1). En el análisis estadístico se aplicó la prueba de “Kruskal Wallis” para comparar los valores promedios de ambos grupos durante el periodo, encontrándose diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en las tres mediciones del proyecto (Anexo3).

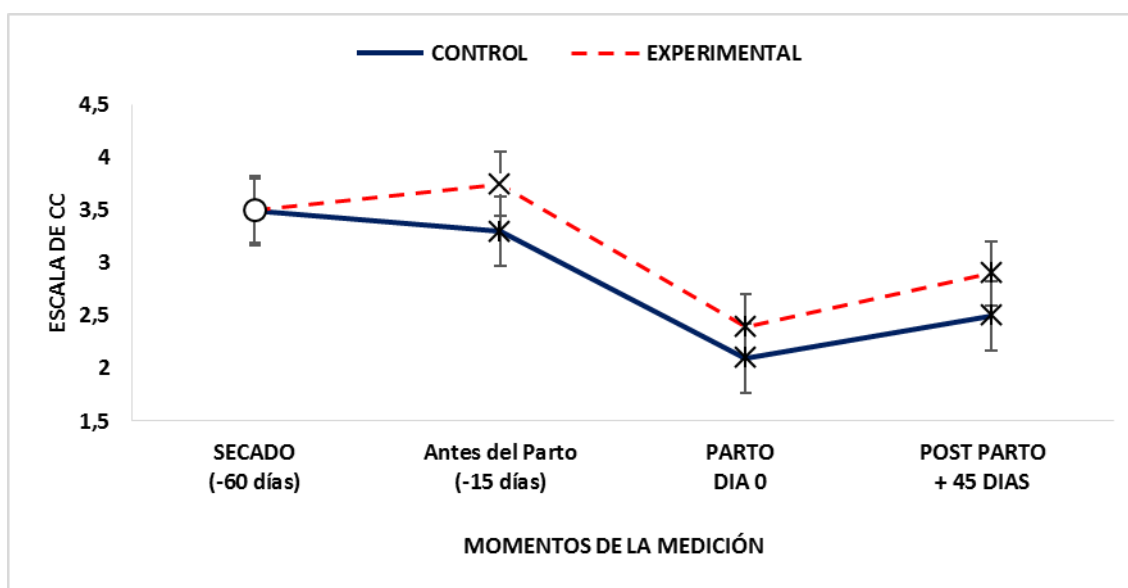
**Cuadro 1. Estadísticos descriptivos de la condición corporal durante el período en estudio de los dos tratamientos**

Variable	Estadístico	Tratamientos	
		Control	Experimental
CC 15 dap	$\bar{X}$	3,3	3,5
	EE	0,90	0,90
	Me	3,5 <sup>a</sup>	3,5 <sup>b</sup>
CC parto	$\bar{X}$	2,1	2,4
	EE	0,90	0,90
	Me	2,0 <sup>a</sup>	2,5 <sup>b</sup>
CC 45 dpp	$\bar{X}$	2,5	2,9
	EE	0,90	0,90
	Me	2,5 <sup>a</sup>	3,0 <sup>b</sup>

Letras distintas en la misma fila expresan diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

$\bar{X}$  : Media, EE: error estándar de la muestra, Me: mediana

En la Figura 1, se puede apreciar los valores promedios registrados durante el tiempo de estudio con su variabilidad, mostrando un comportamiento igual durante el inicio – secado, pero a partir de los 15 dap hasta los 45 dpp se encontró una superioridad a favor del GE con diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en las dos medidas.



**Figura 1. Curvas de CC durante el período de estudio de los tratamientos**

(Presencia de X en la figura muestra significación,  $p < 0,05$ )

#### 4.2. Retorno de la actividad ovárica.

Los datos obtenidos en campo que fueron resultados de la medición folicular en los cuatro momentos de la medición, fueron categorizados en tres clases de acuerdo al tamaño folicular, explicándose en una tabla de contingencia (Anexo 4). Posteriormente se analizó el retorno de la actividad ovárica por tamaño de folículo  $\geq 10$  mm en cada medición. No se obtuvo retorno de la AO a los 15 y 22 dpp aunque si presentó actividad folicular en ovario izquierdo y derecho clasificándoles solamente en clase 1 y 2, sin embargo, a los 35 y 45 dpp se obtuvo mejores resultados y eficiencia en el GE observando que un mayor porcentaje de vacas que reiniciaron su AO en comparación con el GC (Cuadro 2). Posteriormente, los resultados fueron analizados con la prueba estadística “Kruskal-Wallis” y se comprobó diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) deduciendo que existió efecto de Zeolita (Clinoptilolita) al 2% en las vacas bajo estas condiciones (Anexo 5).



**Cuadro 2. Valores porcentuales del retorno de la actividad ovárica (AO) por tamaño de folículos  $\geq 10$  mm.**

Variable	Días de evaluación	Tratamientos	
		Control (%)	Experimental (%)
AO	15 dpp	0,0	0,0
	22 dpp	0,0	0,0
	35 dpp	29,6 <sup>a</sup>	70,4 <sup>b</sup>
	45 dpp	44,4 <sup>a</sup>	55,6 <sup>b</sup>

Letras distintas en cada fila expresan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), según el estadístico Kruskal Wallis

#### 4.3. Involución Uterina.

La IU fue evaluada a los 22 dpp mediante una tabla de contingencia que muestra la PU, SCU y DC. En la evaluación de PU con respecto a la pelvis y SCU se obtuvo mayores resultados porcentuales de vacas que involucraron su útero en el GE vs el GC. No obstante, al analizar el DC no se observó vacas, ni del GC y GE que hayan involucrado su útero (Cuadro 3). Sin embargo, al aplicar la prueba estadística U Mann Whitney se observó que no hay diferencias estadística entre los grupos en estudio ( $p > 0,05$ ), sin efecto alguno en la involución uterina en el día 22 (Anexo 6).

**Cuadro 3. Involución uterina: posición del útero con relación a la pelvis (PU), simetría de los cuernos uterinos (SCU) y diámetro del cérvix (DC) a los 22 dpp.**

Variable: Involución Uterina		Tratamientos	
		Control (%)	Experimental (%)
PU	Involucionó (Útero totalmente sobre la pelvis)	28,0 <sup>a</sup>	48,0 <sup>a</sup>
SCU	Involucionó (Útero con sus cuernos simétricos)	16,0 <sup>a</sup>	24,0 <sup>a</sup>
DC	Involucionó (Diámetro del cérvix $\leq 5$ cm)	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>

Letras distintas en cada fila expresan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), según el estadístico U de Mann Withney





**Cuadro 4. Involución uterina: posición del útero con relación a la pelvis (PU), simetría de los cuernos uterinos (SCU) y diámetro del cérvix (DC) a los 45 dpp.**

Variable: Involución Uterina		Tratamientos	
		Control (%)	Experimental (%)
<b>PU</b>	<b>Involucionó</b> (Útero totalmente sobre la pelvis)	40,0 <sup>a</sup>	76,0 <sup>b</sup>
<b>SCU</b>	<b>Involucionó</b> (Útero con sus cuernos simétricos)	32,0 <sup>a</sup>	76,0 <sup>b</sup>
<b>DC</b>	<b>Involucionó</b> (Diámetro del cérvix $\leq$ 5 cm)	24,0 <sup>a</sup>	68,0 <sup>b</sup>

Letras distintas en cada fila expresan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), según el estadístico U de Mann Withney

En el comportamiento de la involución uterina a los 45 dpp en la PU, SCU y DC se obtuvo mejores resultados y eficiencia en el GE observando que un mayores porcentajes de vacas que involucionaron su útero en comparación con el GC (Cuadro 4), comprobando la existencia de diferencias estadísticas con la prueba de U Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ), entre los grupos, permitiendo deducir que la adición de Zeolita al 2% tuvo efecto positivo sobre la esta variable a los 45 dpp de medición (Anexo 6).

#### 4.4 Salud Uterina (SU)

Al analizar los valores promedios se observó que el GE presentó un promedio porcentual de Polimorfo nucleares (%PMN) menor que el GC (Cuadro 5), comprobándose la existencia de diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,05$ ), por medio de la prueba de U Mann-Whitney (Anexo 7), entre los grupos en estudio demostrando que hubo un efecto de la adición de Zeolita (Clinoptilolita) sobre salud del útero.

**Cuadro 5. Valores promedios y variabilidad de la salud uterina expresada en % PMN a los 35 dpp.**

Salud uterina	Tratamientos	Media	EE	Inter de conf. 95%	
				Lím. Infer.	Lím. Super.
% PMN	Control	22,2 <sup>a</sup>	3,76	14,47	30,01
	Experimental	3,4 <sup>b</sup>	1,05	1,18	5,54

Letras distintas expresan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), según el estadístico U de Mann Whitney



#### 4.5 Correlación de las variables.

Para relacionar las variables no paramétricas se usó el estadístico de Spearman, comprobando que existió correlación entre CC a las 45 dpp con Retorno de la actividad ovárica ( $p < 0,05$ ), con salud Uterina ( $p < 0,05$ ) y de igual manera con involución uterina, incluyendo posición del útero (PU), simetría de cuernos (SCU) y diámetro del cérvix (DC) a los 22 y 45 dpp. Al correlacionar retorno de la actividad ovárica se observa que existió dependencia entre las variables de salud uterina e involución uterina ( $p < 0,05$ ) a los 22 y 45 dpp; y al correlacionar salud uterina se observa una relación con involución uterina ( $p < 0,05$ ) a los 22 y 45 dpp (Anexo 8).



## CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

### 5.1 Condición Corporal:

La condición corporal (CC) es un método subjetivo, que permite evaluar el grado de reservas corporales (energía metabolizable) independiente de la estructura, peso vivo y tamaño del animal, siendo una herramienta útil para pronosticar el desempeño productivo y reproductivo (Edmonson *et al.*, 1989).

Los resultados obtenidos de la CC, teniendo en cuenta que es una variable subjetiva, se observó que ambos grupos parten con igual CC al secado, y que existió una pérdida constante de CC conforme transcurre el tiempo de estudio para el GC, en cambio para el GE hubo una ganancia de CC apreciándose hasta los 15 días antes del parto ( $p < 0,05$ ), a partir del parto (día 0) se observa una pérdida progresiva de CC siendo menos abrupta en el GE en comparación con el GC ( $p < 0,05$ ), al avanzar la lactancia, la CC comienza a incrementar en ambos grupos, y este comportamiento es más notorio ( $p < 0,05$ ) para el GE, esta evidencia demostró que la adición de Zeolita al 2% en la dieta basal de vacas lecheras tuvo un efecto positivo sobre la condición corporal en el GE, un similar hallazgo se demostró en estudios anteriores donde Karatzia *et al.*, 2013 indica que la administración de zeolita natural, clinoptilolita, afectó significativamente ( $p < 0,05$ ) el puntaje de la condición corporal (BSC), siendo mayor en el grupo de tratamiento que el grupo control durante todo el período experimental (últimos 2 meses de gestación y lactancia subsiguiente), y a la vez mejoró el estado de energía. Este efecto se atribuyó a la mayor producción de propionato en el rumen y / o el aumento de la digestión post-ruminal de almidón (Katsoulos *et al.* 2006, citado por Karatzia *et al.*, 2013).

### 5.2 Retorno de la actividad ovárica (RAO) por presencia de folículo $\geq$ a 10 mm:

La reactivación ovárica se define como la presencia de un folículo y/o un cuerpo lúteo mayor a 8mm de diámetro (Castro 2011). Para este estudio se consideró para el retorno de AO los folículos observados por ultrasonografía  $\geq 10$  mm. Como se pudo observar, el GE presentó un 70,4% (19/25) de folículos  $\geq$  a 10 mm en comparación con el 29,6% (8/25) del GC al día 35; Se presentaron relaciones directamente proporcionales entre condición corporal a los 45 dpp y retorno de la actividad ovárica, es decir se evidenció un retorno de la actividad ovárica por el



mayor porcentaje de presencia de folículos  $>$  a 10mm en el GE debido a una mayor condición corporal ( $r=-0,688$ ;  $p<0,005$ ) lo que indica que la actividad ovárica está influenciada con el mejoramiento de la condición corporal, este resultado coincide con reportes de Córdova y Quinteros (2014) el agotamiento prolongado de reservas corporales de grasa durante la lactancia temprana o incluso, a corto plazo las variaciones en el consumo de energía puede tener efectos perjudiciales sobre el reinicio de la actividad ovárica posparto y la tasa de concepción; estos resultados proveen la evidencia en que la suplementación del 2% de Zeolita en la dieta basal de vacas lecheras influyó en el retorno de la actividad ovárica, basado en la información anterior es lógico pensar que se conduzca a un reinicio temprano de la actividad ovárica en las vacas del GE a los 35 dpp y un mejoramiento de la eficiencia reproductiva.

Por lo tanto, una nutrición adecuada es un requisito para el exitoso funcionamiento del aparato reproductor bovino (Córdova y Quinteros, 2014); Karatzia *et al.*, (2013), proporciona la primera evidencia de que la administración dietética de 200 g por día de una zeolita natural, clinoptilolita, durante los últimos 2 meses de gestación y la lactancia subsiguiente mejora el estado de la energía y el comportamiento reproductivo de las vacas lecheras en su primera lactancia, de igual manera, (Hernández, Y. G., & Curbelo, Y. G., 2015) proponen que la inclusión de este aditivo repercute beneficiosamente en la calidad de la leche, el estado de salud y conducta reproductiva de los animales.

### **5.3 Involución uterina:**

Una buena involución uterina posparto es de vital importancia para el establecimiento de la preñez, se caracteriza por el regreso del útero a su condición normal pre gestacional y aptitud para una nueva preñez (Gilbert, 2005 citado por Castro, 2011).

Los resultados del presente estudio indican que para el día 22 PP el GE involuciono un 48% (12/25) frente al 28%(7/25) del GC en su PU, y en lo que se refiere a SCU el grupo experimental involuciono el 24% (6/25) en comparación con el 16% (4/25) del grupo control, aunque se observa una tendencia favorable en el GE no llega a ser representativo el comportamiento de involución uterina para ambos casos ( $p>0,05$ ), y de igual manera en lo que respecta en diámetro uterino (DC). Sin



embargo se observó que a los 45 dpp una respuesta favorable para el GE ( $p < 0,05$ ) involucionando en PU y SCU el 76% (19/25) de los casos y en DC un 68% (17/25), en comparación con el GC que manifestó una involución en PU del 40% (10/25), SCU del 32% (8/35) y DC del 24% (6/25); de esta manera el efecto de la adición de zeolita al 2% en la dieta basal adicionada al GE tuvo su efecto en la involución uterina a los 45 dpp (PU, SCU y DC), estos resultados pueden ser las primeras evidencias investigativas en mejorar la involución uterina y un consecuente mejoramiento del comportamiento reproductivo, los reportes de Karatzia *et al.*, (2013) proporciona la primera evidencia de que la administración dietética de 200 g por día de una zeolita natural, clinoptilolita, durante los últimos 2 meses de gestación y la lactancia subsiguiente mejora el estado de la energía y el comportamiento reproductivo de las vacas lecheras en su primera lactancia.

#### 5.4 Salud Uterina:

La salud reproductiva es el núcleo de estudio de la mayor parte de las investigaciones por desempeñar una importante función para lograr un correcto desempeño reproductivo (LeBlanc, 2008).

Los resultados reportados en porcentaje PMN (%PMN) para la evaluación de la salud uterina a los 35 dpp, nos indican que el GE presentó un porcentaje bajo 3,4% de PMN comparado con el 22,2% de PMN del GC, los valores de % de PMN para el GE se encuentran por debajo de los reportados en vacas lecheras en confinamiento por Kasimanickam *et al.*, (2004), (Sheldon *et al* y col., 2006) a los 34 -47 días:  $> 10\%$  de PMN, y de igual manera se encontraron por debajo  $> 6\%$  de PMN (34-47 dpp) de vacas en sistemas lecheros al pastoreo reportados por Madoz (2012) y de la Sota *et al.*, (2014), lo que se asume que la adición de Zeolita al 2% favoreció en la salud uterina del GE, este efecto puede deberse a que existen algunos estudios donde indican que clinoptilolita natural ha demostrado tener efectos positivos como un antioxidante, lo que significa que atrapa radicales libres, inactivando y eliminándolos, y mantiene una actividad inmunomoduladora (Pavelic., 2002), (Zarcovic, *et al.*, 2003), (Ivkovic, *et al.*, 2004); (Yaroban, 2008), (Ipec, 2012), (Wu *et al.*, 2015); clasificado dentro del grupo esencial de nutraceutico (Katic *et al.*, 2006), (Pavelic, *et al.*, 2005); por otra parte en otros estudios con el objetivo de mejorar la salud de la glándula mamaria Ural, D., (2014) reporta una disminución del recuento de células somáticas (RCS) ( $p < 0.01$ ); estos resultados nos orientan a los estudios de Katsoulos



et al. 2006, donde clinoptilolita mejoró el estado de energía. Este efecto se atribuyó a la mayor producción de propionato en el rumen y / o el aumento de la digestión post-ruminal de almidón, lo que mejoro la CC. Factores dietéticos tales como antioxidantes y balance de energía es probable que sean importantes para la función de neutrófilos y la respuesta inmune (Sheldon *et al.*, 2008). La gravedad de la resistencia a la insulina, el consumo de alimento reducido, un balance energético negativo y pérdida de peso contribuye con la reducción del grado y duración la defensa inmune (LeBlanc *et al.*, 2011). Está claro que existen interacciones entre el estado de energía y la función inmune. Por ejemplo, hay evidencia de que las concentraciones de NEFA como se ve en la circulación de las vacas alrededor del parto están asociados con la función deteriorada de los PMN (LeBlanc, 2014).



## CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 6.1 Conclusiones

La utilización de Zeolita (Clinoptilolita) al 2% del consumo de materia seca vaca/día en la dieta basal de vacas lecheras correspondiente al grupo experimental durante los 105 días de tratamiento (60 días pre-parto y 45 días post-parto), mostró eficacia en el comportamiento reproductivo y minimizó los efectos adversos en el período de transición, demostrando un retorno de la actividad ovárica a los 35 y 45 días post parto. Una completa involución uterina a los 45 días post parto, y mejoramiento en la salud uterina (%PMN) a los 35 días post parto, convirtiéndose en una estrategia de suplementación alimenticia-funcional para mejorar la eficiencia reproductiva en vacas lecheras en su periodo crítico.

Además mostró un efecto favorable en la condición corporal desde los 15 días antes del parto, al parto y 45 días post parto, interactuando en el estado de energía y la función inmune del útero.

### 6.2 Recomendaciones

- Adicionar Zeolita (Clinoptilolita) al 2% del consumo de MS a vacas durante el periodo de secado hasta la lactancia siguiente.
- Ampliar el estudio de la Zeolita (Clinoptilolita) como un alimento nutraceútico, comparando con diferentes tipos de estrategias de manejo para minimizar los efectos del periodo de transición en vacas productoras de leche, evaluando sus impactos en los parámetros reproductivos y productivos de calidad y cantidad de leche.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andronikashvili, T., Pagava, K., Kurashvili, T., & Eprikashvili, L. (2009). Possibility of application of natural zeolites for medicinal purposes. *Bull Georgian Natl Acad Sci*, 3(2), 158-167.
- Aungier, S. P. M., Roche, J. F., Diskin, M. G., & Crowe, M. A. (2014). Risk factors that affect reproductive target achievement in fertile dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3472-3487.
- Bargo, F., Busso, F., Corbellini, C., Grigera, J., Lucas, V., Podetti, V., Tuñón, G., Vidaurreta, I. (2009). Organización y análisis de un sistema de registro de enfermedades del periparto en vacas lecheras: su incidencia e impacto económico sobre las empresas. Recuperado el 01 de Octubre de 2015, de <http://www.infortambo.com/admin/upload/arch/Claves%20I%20reporte%20final.pdf>
- Bromfield, J., Santos, J. E. P., Block, J., Williams, S. R., & Sheldon, I. M. (2015). PHYSIOLOGY AND ENDOCRINOLOGY SYMPOSIUM: Uterine infection: Linking infection and innate immunity with infertility in the high-producing dairy cow. *Journal of animal science*, 93(5), 2021-2033.
- Castaing J. (1998). Uso de las arcillas en alimentación animal. XIV Curso de Especialización AVANCES EN NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN ANIMAL. Asociación General de Productores de Maíz (Pau, Francia). Recuperado el 01 de Marzo de 2014, de <http://www.uco.es/servicios/nirs/fedna/capitulos/98CAPVIII.pdf>
- Castro, R. S. (2011). Efecto del nivel de suplementación con propilenglicol durante el periodo de transición a la lactancia sobre actividad ovárica, salud uterina y desempeño reproductivo en vacas Holstein. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín., 92.
- Celi, P., & Gabai, G. (2015). Oxidant/Antioxidant Balance in Animal Nutrition and Health: The Role of Protein Oxidation. *Frontiers in Veterinary Science*, 2(48), 1-13.





- Celi, P., Di Trana, A., & Claps, S. (2010). Effects of plane of nutrition on oxidative stress in goats during the peripartum period. *The Veterinary Journal*, 184(1), 95-99.
- Chapinal, N., Carson, M. E., LeBlanc, S. J., Leslie, K. E., Godden, S., Capel, M., & Duffield, T. F. (2012). The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *Journal of dairy science*, 95(3), 1301-1309.
- Church, D. C., Pond, W. G., Pond, W. R. (2009). *Fundamentos de la Nutrición y alimentación de Animales*. (2 da. ed.). Mexico DF.: Limusa Wiley.
- Corbellini, C. N. (1998). Influencia de la nutrición en las enfermedades de la producción de las vacas lecheras en transición. P (1998). Influencia de la nutrición en las enfermedades de la producción de las vacas lecheras en transición. Proyecto Lechero–EEA Pergamino. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina. Recuperado el 06 de Enero de 2015, de <http://www.veterinarios.or.cr/files/doc/documentos/Momento-Cientifico/Influencia-de-la-nutricion-en-la-vaca-lechera-en-transicion-Carlos-Corbellini.pdf>
- Corbellini, C., Busso, F., Grigera, J., Tuñón, G. (2008). Las Enfermedades de Base Metabolico-Nutricional en Las Vacas Lecheras en Transición. IDIA XXI, INTA. Recuperado el 03 de Octubre de 2015, de [http://anterior.inta.gov.ar/ediciones/idia/doc/9\\_lecheria.pdf](http://anterior.inta.gov.ar/ediciones/idia/doc/9_lecheria.pdf)
- Cordoba M. D. & Quintero A. A. (2014). Efecto del suministro de aceite de Linaza sobre la ciclicidad de vacas lecheras en post parto temprano en el Municipio de Pasto - Colombia. Universidad Nacional De Córdoba - Argentina Facultad De Ciencias Agropecuarias - Escuela Para Graduados Instituto De Reproducción Animal De Córdoba - Irac En Convenio Con Jcm Biotecnología Reproductiva S.A.S – Colombia, 30. Cali, Colombia. Recuperado el 12 de Agosto de 2015, de <http://www.iracbiogen.com.ar/admin/biblioteca/documentos/quinteros.pdf>
- de Boer, M., Buddle, B. M., Heuer, C., Hussein, H., Zheng, T., LeBlanc, S. J., & McDougall, S. (2015). Associations between intrauterine bacterial infection,



- reproductive tract inflammation, and reproductive performance in pasture-based dairy cows. *Theriogenology*, 83(9), 1514-1524.
- De la Sota, R.L., Madoz, L., Jaureguiberry, M., Dominguez, G. (2014). Endometritis Subclínica En Vacas De Tambo: Diagnóstico, Prevalencia E Impacto Sobre La Eficiencia Reproductiva. *Spermova.*, 4(2), 105-111.
- Dogliotti, G., Malavazos, A. E., Giacometti, S., Solimene, U., Fanelli, M., Corsi, M. M., & Dozio, E. (2012). Natural zeolites chabazite/phillipsite/analcime increase blood levels of antioxidant enzymes. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 50(3), 195-198.
- Domecq, J. J., Skidmore, A. L., Lloyd, J. W., & Kaneene, J. B. (1997). Relationship between body condition scores and milk yield in a large dairy herd of high yielding Holstein cows. *Journal of dairy science*, 80(1), 101-112.
- Domínguez, C. E., Ruiz, A. Z., Pérez, R., Martínez, N., Drescher, K., Pinto, L., & Araneda, R. (2008). Efecto de la Condición Corporal al Parto y del Nivel de Alimentación sobre la Involución Uterina, Actividad Ovárica, Preñez y la Expresión Hipotalámica y Ovárica de los Receptores de Leptina en Vacas Doble Propósito. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias.*, 49(1), 23-36.
- Drackley, J. K. . (1999). Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? *Journal of dairy science*, 82(11), 2259-2273.
- Dubuc, J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Walton, J. S., & LeBlanc, S. J. (2010). Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. *Journal of dairy science*, 93(12), 5764-5771.
- Dubuc, J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Walton, J. S., & LeBlanc, S. J. (2012). Risk factors and effects of postpartum anovulation in dairy cows. *Journal of dairy science*, 95(2), 1845-1854.
- Edmonson, A. J., Lean, I. J., Weaver, L. D., Farver, T., & Webster, G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of dairy science*, 72(1), 68-78.



- Flowers, J. L., Lonky, S. A., & Deitsch, E. J. (2009). Clinical evidence supporting the use of an activated clinoptilolite suspension as an agent to increase urinary excretion of toxic heavy metals. *Nutrition and Dietary Supplements*, 1, 11-18.
- Flowers, J. L., Lonky, S. A., & Deitsch, E. J. (2009). Clinical evidence supporting the use of an activated clinoptilolite suspension as an agent to increase urinary excretion of toxic heavy metals. *Nutrition and Dietary Supplements*, 1, 11-18.
- Funston, R. N. . (2004). Fat supplementation and reproduction in beef females. *Journal of Animal Science*, E154-E161.
- Galindo, J., & Marrero, Y. . (2005). Manipulación de la fermentación microbiana ruminal. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola. Instituto de Ciencia Animal*, 39, 439-450.
- García, K. (2012). Respuesta a la suplementación con grasa sobrepasante en vacas mestizas en posparto en condiciones de trópico. Palmira: Universidad nacional de Colombia-Palmira.
- Gautam, G., Nakao, T., Yamada, K., & Yoshida, C. (2010). Defining delayed resumption of ovarian activity postpartum and its impact on subsequent reproductive performance in Holstein cows. *Theriogenology*, 73(2), 180-189.
- Grancarić Ana M., Tarbuk Anita., Kovaček Ivančica. (2009). Nanoparticles of activated natural zeolite on textiles for protection and therapy. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 15(4), 203-210.
- Green, M. P., Ledgard, A. M., Beaumont, S. E., Berg, M. C., McNatty, K. P., Peterson, A. J., & Back, P. J. (2011). Long-term alteration of follicular steroid concentrations in relation to subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Journal of animal science*, 89(11), 3551-3560.
- Grummer, R. R. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of animal science*, 73(9), 2820-2833.
- Grummer, R. R., & Rastani, R. R. (2004). Why reevaluate dry period length? *Journal of Dairy Science*, 87, E77-E85.



- Gutiérrez, O. C. (1999). Efectos de la zeolita en la excreción fecal de nitrógeno y minerales en carneros con dietas de forraje verde y pienso comercial. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* , 291-296.
- Healey, G. D., Collier, C., Griffin, S., Schuberth, H. J., Sandra, O., Smith, D. G., ... & Sheldon, I. M. (2016). Mevalonate Biosynthesis Intermediates Are Key Regulators of Innate Immunity in Bovine Endometritis. *The Journal of Immunology*, 196(2), 823-83.
- Heppelmann, M., Brömmling, A., Weinert, M., Piechotta, M., Wrenzycki, C., & Bollwein, H. (2013). Effect of postpartum suppression of ovulation on uterine involution in dairy cows. *Theriogenology*, 80(5), 519-525.
- Herdt, T. H. (2000). Ruminant adaptation to negative energy balance: Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 16(2), 215-230.
- Hernández, Y. G., & Curbelo, Y. G. (2015). Uso de aditivos en la alimentación animal: 50 años de experiencia en el Instituto de Ciencia Animal. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 49(2), 173-177.
- Ipek, H. A. (2012). The effect of zeolite on oxidant/antioxidant status in healthy dairy cows. *Acta Veterinaria Brno*, 81(1), 43-47.
- Ivkovic, S., Deutsch, U., Silberbach, A., Walraph, E., & Mannel, M. (2004). Dietary supplementation with the tribomechanically activated zeolite clinoptilolite in immunodeficiency: Effects on the immune system. *Advances In Natural Therapy*, 21(2), 135–147.
- Karatzia, M. A. (2011). Effects of in-feed inclusion of clinoptilolite on blood serum concentrations of aluminium and inorganic phosphorus and on ruminal pH and volatile fatty acid concentrations in dairy cows. *Biological trace element research*, 142(2), 159-166.
- Karatzia, M. A., Katsoulos, P. D., & Karatzias, H. (2013). Diet supplementation with clinoptilolite improves energy status, reproductive efficiency and increases milk yield in dairy heifers. *Animal Production Science*, 53, 234-239.



- Kasimanickam, R. D. (2005;). A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *The Canadian Veterinary Journal*, 46(3), 255-259.
- Kasimanickam, R., Duffield, T. F., Foster, R. A., Gartley, C. J., Leslie, K. E., Walton, J. S., & Johnson, W. H. (2004). Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 62(1), 9-23.
- Katic, M., Bosnjak, B., Gall-Troselj, K., Dikic, I., & Pavelic, K. (2006). A clinoptilolite effect on cell media and the consequent effects on tumor cells in vitro. *Frontiers in Bioscience*, 11(2), 1722-1732.
- Katsoulos, P. D., Panousis, N., Roubies, N., Christaki, E., Arsenos, G., & Karatzias, H. (2006). Effects of long-term feeding of a diet supplemented with clinoptilolite to dairy cows on the incidence of ketosis, milk yield and liver function. *Veterinary Record: Journal of the British Veterinary Association*, 159(13), 415-418.
- Lange, J., McCarthy, A., Kay, J., Meier, S., Walker, C., Crookenden, M. A., ... & Heiser, A. (2016). Parturition feeding level and body condition score affect immunological performance in grazing dairy cows during the transition period. *Journal of Dairy Science*, 99(3), 2329 - 2338.
- LeBlanc, S. J. (2014). Reproductive tract inflammatory disease in postpartum dairy cows. *animal*, 8(s1), 54-63.
- LeBlanc, S. J. (2008). Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. . *The Veterinary Journal*, 176(1), 102–114.
- LeBlanc, S. J., Osawa, T., & Dubuc, J. (2011). Reproductive tract defense and disease in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 76(9), 1610–1618.
- Madoz, L. V, Giuliadori, M. J., Jaureguiberry, M., Plöntzke, J., Drillich, M., & de la Sota, R. L. (2013). The relationship between endometrial cytology during estrous cycle and cutoff points for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96(7), 4333–4339.



- Madoz, L. V. (2012). Endometritis subclínica en vacas de tambo: diagnóstico, prevalencia e impacto sobre la eficiencia reproductiva. (Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Veterinarias). Argentina. Recuperado el 10 de Marzo de 2015, de [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/18570/Documento\\_completo\\_.pdf?sequence=3](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/18570/Documento_completo_.pdf?sequence=3)
- Mariño, B., Barrio, L., Mociños, J. E., Guillin, J. L., Barrio, M., Becerra, J. J., ... & Quintela, L. A. (2015). Relación entre la citología y bacteriología del útero en vacas de producción láctea. Relationship between uterine cytology and bacteriology in dairy cattle. XX Congreso Internacional ANEMBE De Medicina Bovina. Burgos 2015, (págs. 220-221).
- Maurino, A., Bernardi, S., Rinaudo, A., & Marini, P. R. (2012). Prevalencia de endometritis subclínica antes y cuatro horas después de la inseminación artificial en vaquillonas. *Spernova*, 2(1), 47-48.
- Moura A.R.F., Tsuruta S.A., Oliveira P.M., Nasciuti N.R., Santos R. M., & Saut, J. P. E. (2012). Endometrite subclínica após o tratamento de vacas com endometrite clínica. *Archives of Veterinary Science*, 17(3), 32-41.
- Mumpton, F. A. . (1999). La roca magica: uses of natural zeolites in agriculture and industry. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(7), 3463-3470.
- NRC (National Research Council). (2001). Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. ed, 381. (s.f.).
- Papaioannou, D., Katsoulos, P. D., Panousis, N., & Karatzias, H. (2005). The role of natural and synthetic zeolites as feed additives on the prevention and/or the treatment of certain farm animal diseases: a review. *Microporous and mesoporous materials*, 84(1), 161-170.
- Pascottini, O. B., Dini, P., Hostens, M., Ducatelle, R., & Opsomer, G. (2015). A novel cytologic sampling technique to diagnose subclinical endometritis and comparison of staining methods for endometrial cytology samples in dairy cows. *Theriogenology*, 84 (8), 1438-1446.



- Pavelic, K., Etra, A., & Gall-Troselj, K. (2005). Insights from the front lines of nutraceutical research: The Third International Conference on Mechanisms of Action of Nutraceuticals (ICMAN 3). *Journal of Alternative & Complementary Medicine*, 11(4), 735-738.
- Pavelic, K., Katic, M., Sverko, V., Marotti, T., Bosnjak, B., Balog, T. & Poljak-Blazi, M. (2002). Immunostimulatory effect of natural clinoptilolite as a possible mechanism of its antimetastatic ability. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 128(1), 37-44.
- Pothmann, H., Prunner, I., Wagener, K., Jaureguiberry, M., de la Sota, R. L., Erber, R., Drillich, M. (2015). The prevalence of subclinical endometritis and intrauterine infections in repeat breeder cows. *Theriogenology*, 83(8), 1249–1253.
- Prieto, M., Barrio, M., Quintela, L. A., Perez-Marín, C. C., Becerra, J. J., Vigo, M., Herradon, P. G. (2012). Validation of a simple method for the interpretation of uterine cytology in cows. *Veterinari Medicina*, 57(7), 360–363.
- Prieto, M., Barrio, M., Quintela, L. A., Perez-Martin, C. C., Becerra, J. J., Vigo, M., ... & Martinez, D. (2012). Validation of simple method for the interpretation of uterine cytology in cows. *Veterinarni Medicina*, 57(7), 360-363.
- Rinaudo A. (2012). Endometritis Subclínica En Vacas Lecheras: Diagnóstico, Tratamiento e Incidencia Productiva Y Reproductiva. Casilda, Argentina. Recuperado el 10 de Octubre de 2015, de [http://www.fveter.unr.edu.ar/upload/ENDOMETRITIS\\_SUBCL%CDNICA\\_EN\\_VACAS\\_LECHERAS\\_DIAGN%D3STICO\\_TRATAMIENTO\\_E\\_INCIDENCIA\\_P RODUCTIVA\\_Y\\_REPRODUCTIVA.pdf](http://www.fveter.unr.edu.ar/upload/ENDOMETRITIS_SUBCL%CDNICA_EN_VACAS_LECHERAS_DIAGN%D3STICO_TRATAMIENTO_E_INCIDENCIA_P RODUCTIVA_Y_REPRODUCTIVA.pdf)
- Rutter, B. (2002). Puerperio Bovino. Sitio Argentino de Producción Animal. Facultad de Veterinaria, Univ. de Bs. As, 13. Recuperado el 20 de Enero de 2015, de [http://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/cria/58-puerperio\\_bovino.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/cria/58-puerperio_bovino.pdf)
- Rutter, B. (2015). Primer Congreso Internacional sobre Producción Animal especializada en Bovinos. Memorias del 3, 4 y 5 de junio. Diagnóstico de





- endometritis sub clínica en vacas lecheras (pág. 14). Cuenca - Ecuador: Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca.
- Salgado, O., Vergara, G., & Simanca, S. (2008). Relaciones entre peso, condición corporal y producción de leche en vacas del sistema doble propósito. *Revista MVZ Córdoba*, 13(2), 1360-1364.
- Santos, J. E. (2009). Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 11(3), 207-221.
- Sasasel, B., Mokhtari, A., & Taktaz, T. (2010). Prevalence, risk factors for and impact of subclinical endometritis in repeat breeder dairy cows. *Theriogenology*, 74(7), 1271-1278.
- Sheldon, I. M. (2002). Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction*, 123(6), 837-845.
- Sheldon, I. M. (2004). The postpartum uterus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 20(3), 569-591.
- Sheldon, I. M., & Dobson, H. (2004). Postpartum uterine health in cattle. *Animal Reproduction Science*, 82, 295-306.
- Sheldon, I. M., Lewis, G. S., LeBlanc, S., & Gilbert, R. O. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65(8), 1516-153.
- Sheldon, I. M., Price, S. B., Cronin, J., Gilbert, R. O., & Gadsby, J. E. (2009). Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle.. *Reproduction in Domestic Animals*, 44(s3), 1-9.
- Sheldon, I. M., Williams, E. J., Miller, A. N., Nash, D. M., & Herath, S. (2008). Uterine diseases in cattle after parturition. *The Veterinary Journal*, 176(1), 115-121.
- Silveira, P. A. (1993). Evidence for maternal behavior as a requisite link in suckling-mediated anovulation in cows. *Biology of reproduction. Biology of reproduction*, 49(6), 1338-1346.





- Sordillo, L. M. . (2016). Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity. *Journal of dairy science*, 99, 1-16.
- Tanaka, T. A. (2008). Influence of parity on follicular dynamics and resumption of ovarian cycle in postpartum dairy cows. *Animal reproduction science*, 108(1), 134-143.
- Ural D. A. (Marzo de 2014.). La eficacia de la suplementación con clinoptilolita sobre la producción de leche y el recuento de células somáticas. *Rev.MVZ Córdoba*, 19(3), 4242-4248.
- Ural, D. A., Cengiz, O., Ural, K., & Ozaydin, S. (2013). Dietary clinoptilolite addition as a factor for the improvement of milk yield in dairy cows. *J Anim Vet Adv*, 12(2), 140-145.
- Waltner, S. S., McNamara, J. P., & Hillers, J. K.. (1993). Relationships of body condition score to production variables in high producing Holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 76(11), 3410-3411.
- Williams, E. J. (2007). The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. *Theriogenology*, 68(4), 549-559.
- Wiltbank, M. C., Gümen, A., & Sartori, R. (2002). Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*, 57(1), 21-52.
- Wu, Q. J., Wang, Y. Q., Zhou, Y. M., & Wang, T. (2015). Dietary clinoptilolite influences antioxidant capability and oxidative status of broilers. *The Journal of Applied Poultry Research*, 24 (2): 99-104.
- Wu, Y., Wu, Q., Zhou, Y., Ahmad, H., & Wang, T. (2013). Effects of clinoptilolite on growth performance and antioxidant status in broilers. *Biological trace element research*, 155(2), 228-235.
- Yarovan, N. I. (2008). Effect of zeolites on adaptation processes in cows. *Russian Agricultural Sciences*. *Russian Agricultural Sciences*, 34(2), 120-122.
- Zarkovic, N., Zarkovic, K., Kralj, M., Borovic, S., Sabolovic, S., Blazi, M. P., ... & Pavelic, K. (2003). Anticancer and antioxidative effects of micronized zeolite clinoptilolite. *Anticancer research*, 23(2), 1589-1596.

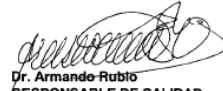
## ANEXOS


## ANEXO 1. Análisis Bromatológicos.


ANÁLISIS		HUMEDAD	CENIZAS <sup>Ω</sup>	E.E. <sup>Ω</sup>	PROTEÍNA <sup>Ω</sup>	FIBRA <sup>Ω</sup>	E.L.N. <sup>Ω</sup>	IDENTIFICACIÓN
METODO	MO-LSAIA-01.01	MO-LSAIA-01.02	MO-LSAIA-01.03	MO-LSAIA-01.04	MO-LSAIA-01.05	MO-LSAIA-01.06		
METODO REF.	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	
UNIDAD	%	%	%	%	%	%	%	
16-0160	9,48	9,01	3,28	13,50	10,87	63,34		Balanceado
16-0161	85,77	11,23	3,68	21,07	24,58	39,44		Mezcla forrajera

Los ensayos marcados con Ω se reportan en base seca.  
OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente

**RESPONSABLES DEL INFORME**

  
**Dr. Armando Rubio**  
 RESPONSABLE DE CALIDAD



  
**Dr. Ivan Samaniego, MSc.**  
 RESPONSABLE TÉCNICO


Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.  
Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo


NOTA DE DESCARGO: La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial, está dirigida únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra totalmente prohibido. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información.


ANÁLISIS		HUMEDAD	CENIZAS <sup>Ω</sup>	E.E. <sup>Ω</sup>	PROTEÍNA <sup>Ω</sup>	FIBRA <sup>Ω</sup>	E.L.N. <sup>Ω</sup>	IDENTIFICACIÓN
METODO	MO-LSAIA-01.01	MO-LSAIA-01.02	MO-LSAIA-01.03	MO-LSAIA-01.04	MO-LSAIA-01.05	MO-LSAIA-01.06		
METODO REF.	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	
UNIDAD	%	%	%	%	%	%	%	
15-0597	12,51	10,05	3,03	10,15	18,75	58,02		Balanceado
15-0598	71,72	12,31	1,43	8,48	28,39	49,39		Silo de maíz INIAP 103
15-0599	74,88	7,52	1,75	8,13	25,63	56,98		Silo de maíz INIAP 103**
15-0600	58,61	6,42	2,67	6,03	24,97	59,91		Silo de maíz INIAP 102
15-0601	61,21	9,17	2,40	8,97	30,72	48,75		Pasto silo
15-0602	86,60	9,77	2,58	15,48	27,31	44,87		Pasto 1
15-0603	86,72	12,09	2,71	21,99	22,32	40,88		Pasto 2
15-0604	86,16	9,93	2,54	16,44	24,45	46,64		Pasto 3

Los ensayos marcados con Ω se reportan en base seca.  
OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente

**RESPONSABLES DEL INFORME**

  
**Dr. Armando Rubio**  
 RESPONSABLE DE CALIDAD



  
**Dr. Ivan Samaniego, MSc.**  
 RESPONSABLE TÉCNICO

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.  
Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo

NOTA DE DESCARGO: La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial, está dirigida únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra totalmente prohibido. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información.

- Pasto 1, Pasto 2, Pasto 3: Corresponde al pasto proveniente de los potreros de la dieta basal para las vacas secas y vacas lactantes.
- Silo Maíz INIAP 102 (Informe Ensayo N°15-135) corresponde a Maíz Variedad INIAP-180.
- Pasto Silo (Informe Ensayo N°15-135) corresponde al silo de pasto de mezcla forrajera de la dieta basal de vacas productoras de leche.
- Balanceado Informe ensayo N°16-024 corresponde a Concentrado de la dieta basal de vacas lactantes.



### Calculo de aporte y requerimiento de energía.

Peso promedio de vacas secas y vacas en producción: 450 Kg.

% grasa leche: 3 %

Producción litros/vaca/día: 15 lts.

Peso de Ternera/o al Nacimiento: 35 Kg.

Temperatura Promedio: 13 °C.

Ingredientes	Calculo de ingredientes (NRC, 2001)		Vacas en Producción Leche					Vacas Secas				
	% TDN	EN <sub>L</sub>	Kg/MS (3%)	EN <sub>L</sub> (Mcal) UP1	EN <sub>L</sub> (Mcal) UP2	EN <sub>L</sub> (Mcal) UP3	Prom. EN <sub>L</sub> (Mcal)	Kg/MS (2%)	EN <sub>L</sub> (Mcal) UP1	EN <sub>L</sub> (Mcal) UP2	EN <sub>L</sub> (Mcal) UP3	Prom. EN <sub>L</sub> (Mcal)
PASTO 1	62,48	1,41	8,07	11,38			11,41	9,00	12,70			12,72
PASTO 2	62,37	1,41			11,36					12,67		
PASTO 3	62,92	1,42				11,47					12,79	
SILO PASTO	61,61	1,39	1,55	2,15	2,15	2,15	2,15					
SILO MAIZ 180	64,95	1,47	2,07	3,05	3,05	3,05	3,05					
BALANCEADO	67,28	1,53	1,81	1,81	1,81	1,81	1,81					
<b>TOTAL APORTE</b>				<b>18,39</b>	<b>18,37</b>	<b>18,48</b>	<b>18,42</b>		<b>12,70</b>	<b>12,67</b>	<b>12,79</b>	<b>12,72</b>
<b>TOTAL REQUER.</b>			<b>13,5</b>	<b>21,08</b>	<b>21,08</b>	<b>21,08</b>	<b>21,08</b>	<b>9,00</b>	<b>13,26</b>	<b>13,26</b>	<b>13,26</b>	<b>13,26</b>

Elaboración: El Autor.

Fuente: Análisis Bromatológico proximal – Laboratorios INIAP

UP = Unidad productiva/hacienda.

## ANEXO 2. Análisis de Zeolita utilizada



**CENTRO DE INVESTIGACIONES PARA  
LA INDUSTRIA MINERO METALÚRGICA**  
**DIRECCIÓN CARACTERIZACIÓN DE MATERIALES**  
Carretera de Varona No. 12028 Km 1 ½ Capdevila, Boyeros, Ciudad de La Habana,  
Teléf.: 537 57-8370 y 537 44-2313 ext. 220, Fax:537 57 80 82, E-mail:cipimm@ip.minbas.cu



ACREDITACION  
EN RENOVACION

**CERTIFICADO DE ENSAYO No. 65/2002**

Pág. 2 de 2

Tipo de Muestra: Tobas Zeolitizadas

Cliente : Compañía "La Colina" Ecuador

Fecha de recepción : 23/05/02  
29/05/02

Fecha de entrega:

Muestra	Resultado de DRX	Resultado de AT
Roca Mineral Composito	Clinoptilolita-Heulandita (56%), Montmorillonita, Feldespato, Mordenita (4%) , Cuarzo ( Trazas )	Zeolita total (58%), Montmorillonita (16%), Vidrio Volcánico

Dra. Aida Alvarez Alonso  
Directora Caracterización de Materiales  
CIPIMM

Este Certificado no será reproducido sin la aprobación escrita y legalizada de la DCM

### Características:

- Granulometría: Malla 200 A.S.T.M.;
- Porosidad: 28 – 31%;
- Retención de Agua: Hasta el 30%;
- Color: Gris verdoso;
- Olor: Ninguno;
- Peso específico: 2.18 - 2.24 g/cm<sup>3</sup>;
- Peso volumétrico: 0.8 – 1.2 g/cm<sup>3</sup>;
- Dureza de MOHS: 3 - 3.5;
- Estabilidad: Prolongada;
- pH: 8 – 10;
- Humedad: 11% máx.



### ANEXO 3. Condición Corporal (Prueba estadística no paramétrica)

#### Prueba de Kruskal-Wallis

#### Estadísticos de prueba<sup>a,b</sup>

	Condición Corporal 15 antes del parto	Condición Corporal al parto	Condición Corporal 45 días post parto
Chi-cuadrado	8,781	11,276	8,752
GI	1	1	1
Sig. Asintótica	0,003	0,001	0,003

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamientos con y sin zeolita

### ANEXO 4. Clase de folículos por tamaño Ovario izquierdo y Derecho en los días de estudio.

DIAS DE ESTUDIO	CLASES DE FOLICULOS		Tratamientos		Total
			Control	Experimental	
15dpp-Ovario izquierdo	Clase 1 ( $\leq 5$ mm)	#	25	23	48
		%	100,0%	92,0%	96,0%
	Clase 2 (5,1 -9,9mm)	#	0	2	2
		%	0,0%	8,0%	4,0%
	Clase 3 ( $\geq 10$ mm)	#	0	0	0
		%	0,0%	0,0%	0,0%
15dpp-Ovario derecho	Clase 1 ( $\leq 5$ mm)	#	25	24	49
		%	100,0%	96,0%	98,0%
	Clase 2 (5,1 -9,9mm)	#	0	1	1
		%	0,0%	4,0%	2,0%
	Clase 3 ( $\geq 10$ mm)	#	0	0	0
		%	0,0%	0,0%	0,0%
22 dpp-Ovario izquierdo	Clase 1 ( $\leq 5$ mm)	#	10	7	17
		%	40,0%	28,0%	34,0%
	Clase 2 (5,1 -9,9mm)	#	15	18	33
		%	60,0%	72,0%	66,0%
	Clase 3 ( $\geq 10$ mm)	#	0	0	0
		%	0,0%	0,0%	0,0%
22 dpp-Ovario Derecho	Clase 1 ( $\leq 5$ mm)	#	19	0	19
		%	76,0%	0,0%	38,0%
	Clase 2 (5,1 -9,9mm)	#	6	25	31
		%	24,0%	100,0%	62,0%
	Clase 3 ( $\geq 10$ mm)	#	0	0	0
		%	0,0%	0,0%	0,0%



		%	0,0%	0,0%	0,0%
35 dpp-Ovario Izquierdo	Clase 1 ( $\leq 5$ mm)	#	12	3	15
		%	48,0%	12,0%	30,0%
	Clase 2 (5,1 -9,9mm)	#	10	14	24
		%	40,0%	56,0%	48,0%
	Clase 3 ( $\geq 10$ mm)	#	3	8	11
		%	12,0%	32,0%	22,0%
35 dpp-Ovario Derecho	Clase 1 ( $\leq 5$ mm)	#	19	3	22
		%	76,0%	12,0%	44,0%
	Clase 2 (5,1 -9,9mm)	#	1	12	13
		%	4,0%	48,0%	26,0%
	Clase 3 ( $\geq 10$ mm)	#	5	10	15
		%	20,0%	40,0%	30,0%
45 dpp-Ovario Izquierdo	Clase 1 ( $\leq 5$ mm)	#	8	0	8
		%	32,0%	0,0%	16,0%
	Clase 2 (5,1 -9,9mm)	#	14	22	36
		%	56,0%	88,0%	72,0%
	Clase 3 ( $\geq 10$ mm)	#	3	3	6
		%	12,0%	12,0%	12,0%
45 dpp-Ovario derecho	Clase 1 ( $\leq 5$ mm)	#	11	0	11
		%	44,0%	0,0%	22,0%
	Clase 2 (5,1 -9,9mm)	#	13	22	35
		%	52,0%	88,0%	70,0%
	Clase 3 ( $\geq 10$ mm)	#	1	3	4
		%	4,0%	12,0%	8,0%

## ANEXO 5. Retorno de la actividad ovárica (RAO) por presencia de folículos $\geq 10$ mm

### Tablas cruzadas

VARIABLE	Días de evaluación		Tratamientos		Total
			Control	Experimental	
RAO	35 dpp	#	8	19	27
		%	29,6	70,4	100,0
	45 dpp	#	4	5	9
		%	44,4	55,6	100,0
	Sin Actividad. Ovárica	#	13	1	14
		%	92,9	7,1	100,0
<b>Total</b>		<b>#</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>50</b>





## Prueba de Kruskal-Wallis

Tratamientos con y sin zeolita		N	Rango promedio
RAO	Control	25	32,22
	Experimental	25	18,78
	Total	50	

	RAO
Chi-cuadrado	13,036
gl	1
Sig. asintótica	0,000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamientos con y sin zeolita

## ANEXO 6. INVOLUCIÓN UTERINA posición del útero con relación a la pelvis (PU), Simetría de los cuernos uterinos (SCU) y Diámetro del cérvix (DC).

### Pruebas de normalidad

VARIABLES	Tratamientos	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadíst	gl	Sig.	Estadíst	gl	Sig.
PU 22 DÍAS.	Control	0,449	25	0,000	0,565	25	0,000
	Experimental	0,347	25	0,000	0,639	25	0,000
SCU 22 DÍAS	Control	0,506	25	0,000	0,445	25	0,000
	Experimental	0,469	25	0,000	0,533	25	0,000
PU 45 DÍAS	Control	0,388	25	0,000	0,625	25	0,000
	Experimental	0,469	25	0,000	0,533	25	0,000
SCU 45 DÍAS	Control	0,429	25	0,000	0,590	25	0,000
	Experimental	0,469	25	0,000	0,533	25	0,000
DC 45 DÍAS	Control	0,429	25	0,000	0,590	25	0,000
	Experimental	0,469	25	0,000	0,533	25	0,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

b. involución Uterina DU 22 DÍAS es constante cuando Tratamientos con y sin zeolita. Se ha omitido.

### Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
PU 22 DÍAS.	5,610	1	48	0,022
SCU 22 DÍAS.	1,984	1	48	0,165
PU 45 DÍAS.	5,406	1	48	0,024
SCU 45 DÍAS.	1,534	1	48	0,221
DU 22 DÍAS.	-	1	-	-
DU 45 DÍAS	1,534	1	48	0,221



## ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
PU 22 DÍAS.	Entre grupos	,500	1	0,500	2,128	0,151
	Dentro de grupos	11,280	48	0,235		
	Total	11,780	49			
SCU 22 DÍAS	Entre grupos	0,080	1	0,080	0,485	0,490
	Dentro de grupos	7,920	48	0,165		
	Total	8,000	49			
PU 45 DÍAS	Entre grupos	1,620	1	1,620	7,364	0,009
	Dentro de grupos	10,560	48	0,220		
	Total	12,180	49			
SCU 45 DÍAS	Entre grupos	2,420	1	2,420	11,616	0,001
	Dentro de grupos	10,000	48	0,208		
	Total	12,420	49			
DC 22 DÍAS	Entre grupos	0,000	1	0,000	-	-
	Dentro de grupos	0,000	48	0,000		
	Total	0,000	49			
DC 45 DÍAS	Entre grupos	2,420	1	2,420	11,616	0,001
	Dentro de grupos	10,000	48	0,208		
	Total	12,420	49			

**Tablas cruzadas para Involución uterina, posición del útero con relación a la pelvis (PU) , Simetría de los cuernos uterinos (SCU) y Diámetro del Cérnix (DC) a los 22 dpp.**

VARIABLE	Involución Uterina	Tratamientos		
		Control	Experimental	
PU	<b>Involucionó</b> (Útero totalmente sobre la pelvis)	#	7	12
		%	28,0%	48,0%
	<b>No Involucionó</b> (Útero Desplazado por delante y debajo de la pelvis)	#	18	13
		%	72,0%	52,0%
SCU	<b>Involucionó</b> (Útero con sus cuernos simétricos)	#	16,0%	24,0%
	<b>No Involucionó</b> (Útero con sus cuernos asimétricos)	%	84,0%	76,0%
DC	<b>Involucionó</b> (Diámetro del cérvix ≤ 5 cm)	#	0	0
		%	0%	0%
	<b>No Involucionó</b> (Diámetro del cérvix > 5 cm)	#	25	25
		%	100%	100%





### Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Asintótica (2 caras)	Significación (2 caras)	Significación (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	2,122 <sup>a</sup>	1	0,145		
Corrección de continuidad <sup>b</sup>	1,358	1	0,244		
Razón de verosimilitud	2,141	1	0,143		
Prueba exacta de Fisher				0,244	0,122
Asociación lineal por lineal	2,080	1	0,149		
N de casos válidos	50				

a. 0 casillas (0,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 9,50.

b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

### Involución uterina posición del útero con relación a la pelvis (PU) y Simetría de los cuernos uterinos (SCU) a los 45 dpp.

VARIABLE	Involución Uterina	Tratamientos		
		Control	Experimental	
PU	<b>Involucionó</b>	#	10	19
	(Útero totalmente sobre la pelvis)	%	40,0%	76,0%
	<b>No Involucionó</b>	#	15	6
	(Útero Desplazado por delante y debajo de la pelvis)	%	60,0%	24,0%
SCU	<b>Involucionó</b>	#	8	19
	(Útero con sus cuernos simétricos)	%	32,0%	76,0%
	<b>No Involucionó</b>	#	17	6
	(Útero con sus cuernos asimétricos)	%	68,0%	24,0%
DC	<b>Involucionó</b>	#	6	17
	(Diámetro del cérvix ≤ 5 cm)	%	24,0%	68,0%
	<b>No Involucionó</b>	#	19	8
	(Diámetro del cérvix > 5 cm)	%	76,0%	32,0%

### Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Asintótica (2 caras)	Significación (2 caras)	Significación (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	9,742 <sup>a</sup>	1	0,002		
Corrección de continuidad <sup>b</sup>	8,052	1	0,005		
Razón de verosimilitud	10,097	1	0,001		
Prueba exacta de Fisher				0,004	0,002
Asociación lineal por lineal	9,548	1	0,002		
N de casos válidos	50				

a. 0 casillas (0,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 11,50.

b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2



## Prueba de U Mann-Whitney

	INVOLUCIÓN UTERINA					
	PU 22 DÍAS.	SCU 22 DÍAS	DU 22 DÍAS	PU 45 DÍAS	SCU 45 DÍAS	DU 45 DÍAS
U de Mann-Whitney	250,00	287,50	312,50	200,00	175,00	175,00
W de Wilcoxon	575,00	612,50	637,50	525,00	500,00	500,00
Z	-1,44	-0,70	0,00	-2,55	-3,09	-3,090
Sig. asintótica (bilateral)	<b>0,149</b>	<b>0,484</b>	<b>1,00</b>	<b>0,011</b>	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>

## ANEXO. 7 SALUD UTERINA (% de PMN) 35 días post parto

### Pruebas de normalidad

VARIABLE	Tratamientos	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadíst	gl	Sig.	Estadíst	gl	Sig.
SALUD UTERINA	Control	0,202	25	0,010	0,901	25	0,020
	Experimental	0,378	25	0,000	0,693	25	0,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

### Prueba de homogeneidad de varianzas.

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
15,903	1	48	0,0002

## ADEVA, salud uterina (% de PMN) 35 días post parto

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4455,680	1	4455,680	23,287	0,000015
Dentro de grupos	9184,320	48	191,340		
Total	13640,000	49			

## Pruebas Estadísticas

### Prueba de Mann-Whitney

	SALUD UTERINA (% de PMN) 35 días post parto	
	U	Z
U de Mann-Whitney	107,500	
W de Wilcoxon	432,500	
Z		-4,135
Sig. asintótica (bilateral)		0,000

a. Variable de agrupación: Tratamientos con y sin zeolita

**ANEXO. 8 CORRELACIONES (Rho de Spearman) de todas las variables.**

Spearman		Tratam.	CC 15 dap	CC al parto	CC 45 dpp	R.A.O	SALUD UTERINA	Involución uterina					
								PU 22 d.	SCU 22 d	PU 45 d	SCU 45 d	DC 45 d	
Tratam	Coef.	1	0,417**	0,487**	0,444**	0,530**	-0,572**	-0,206	-0,100	-0,365**	-0,441**	-0,441**	
	Sig.	.	0,003	0,000	0,001	0,000	0,000	0,151	0,490	0,009	0,001	0,001	
CC 15 dap	Coef.	0,417**	1	0,1173	0,260	-0,293*	-0,367**	-0,198	-0,104	-0,194	-0,159	-0,218	
	Sig.	0,003	.	0,229	0,068	0,039	0,009	0,169	0,471	0,176	0,270	0,129	
CC al parto	Coef.	0,487**	0,173	1	0,246	-0,164	-0,314*	0,015	0,100	-0,136	-0,196	-0,263	
	Sig.	0,000	0,229	.	0,085	0,254	0,027	0,916	0,489	0,347	0,172	0,065	
CC 45 dpp	Coef.	0,444**	0,260	0,246	1	-0,697**	-0,764**	-0,651**	-0,416**	-0,809**	-0,846**	-0,434**	
	Sig.	0,001	0,068	0,085	.	0,000	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000	0,002	
R.A.O	Coef.	-0,530**	-0,293	-0,164	-0,697**	1	0,728**	0,573**	0,427**	0,582**	0,600**	0,371**	
	Sig.	0,000	0,039	0,254	0,000	.	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,008	
SALUD UTERINA	Coef.	-0,572**	-0,367**	-0,314*	-0,764**	0,728**	1	0,582**	0,388**	0,686**	0,704**	0,492**	
	Sig.	0,000	0,009	0,027	0,000	0,000		0,000	0,005	0,000	0,000	0,000	
Involución Uterina	PU 22 d	Coef.	-0,206	-0,198	0,015	-0,651**	0,573**	0,582**	1	0,639**	0,583**	0,640**	0,352*
		Sig.	0,151	0,169	0,916	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	0,012
	SCU 22 d	Coef.	-0,100	-0,104	0,100	-0,416**	0,427**	0,388**	0,639**	1	0,324*	0,361**	0,040
		Sig.	0,490	0,471	0,489	0,003	0,002	0,005	0,000	-	0,022	0,010	0,782
	PU 45 d	Coef.	-0,365**	-0,194	-0,136	-0,809**	0,582**	0,686**	0,583**	0,324	1	0,922**	0,379**
		Sig.	0,009	0,176	0,347	0,000	,000	0,000	0,000	0,022	.	0,000	0,007
	SCU 45 d	Coef.	-0,441**	-0,159	-0,196	-0,846**	0,600**	0,704**	0,640**	0,361**	0,922**	1	0,369**
		Sig.	0,001	0,270	0,172	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010	0,000	.	0,008
	DC 45 d	Coef.	-0,441**	-0,218	-0,263	-0,434	0,371**	0,492**	,352*	0,040	0,379**	0,369**	1
		Sig.	0,001	0,129	0,065	0,002	0,008	0,000	,012	0,782	0,007	0,008	-

Coef.= Coeficiente de correlación.

R.A.O= retorno de la actividad ovárica.

dap= días antes del parto. dpp= días después del parto.

DC-día 22 No se puede calcular porque, como mínimo, una de las es constante.

## ANEXO 9. Resultados del Citología Endometrial.



**NOMBRE:** Dr. Juan Pablo Garzón  
**SOLICITADO:** Dr. Juan Pablo Garzón

### CITOLOGIA ENDOMETRIAL EN BOVINOS HEMBRAS

#### N° RESULTADO EN PORCENTAJES.

1	49
2	0
3	22
4	0
5	0
6	61
7	0
8	59
9	0
10	0
11	20
12	26
13	0
14	7
15	0
16	0
17	0
18	0
19	13
20	18

Muestras Periodo Julio-Agosto del 2015

**NOTA:** Se adjuntan fotografías.

Azogues, 01 de septiembre del 2015

F.

Dr. MSc René E. Cárdenas C. M.V.Z  
MICROBIOLOGO - BIOTECNOLOGO

Dra. Ines Suárez I  
BIOQUIMICA FARMACEUTICA

C & S Laboratorios  
Clínico y Microbiológico  
Dra. Inés Suárez de C.  
BIOQUIMICA  
RUC: 0300922754001  
Azogues Ecuador



**NOMBRE:** Dr. Juan Pablo Garzón

**SOLICITADO:** Dr. Juan Pablo Garzón

**CITOLOGIA ENDOMETRIAL EN BOVINOS HEMBRAS**

N°	RESULTADO EN PORCENTAJES.
21	0
22	40
23	0
24	12
25	0
26	39
27	0
28	0
29	22
30	54
31	5
32	12
33	0
34	0
35	0
36	0
37	0
38	24
39	13
40	18
41	23
42	6
43	11
44	5
45	5
46	6
47	5
48	25
49	18
50	23

Muestras Periodo Agosto-Septiembre del 2015

**NOTA:** Se adjuntan fotografías.

Azogues, 01 de Octubre del 2015

F.....

Dr. MSc René E. Cárdenas C. M.V.Z  
MICROBIÓLOGO - BIOTECNÓLOGO

Dra. Inés Suárez I  
BIOQUÍMICA FARMACEÚTICA

C & S Laboratorios  
Clínico y Microbiológico  
Dra. Inés Suárez de C.  
BIOQUÍMICA  
RUC: 0300922754001  
Azogues Ecuador



## ANEXO 10. Carta convenio.

Cuenca, 20 de abril de 2015



## CARTA DE CONVENIO

De una parte, el Dr. Juan Pablo Garzón Prado, con C.I. 0602897951, en formación de tesis maestra en la Universidad de Cuenca, y por otro, el Ing. Amador Luciano Suin Espejo, con C.I. 0101522969, representante legal de la empresa La Colina Cía. Ltda.

## EXPONEN

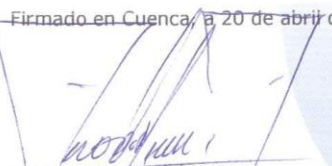
Que el Dr. Juan Pablo Garzón, participa, en calidad de investigador en formación, en trabajos de investigación que se presentarán en forma de tesis maestra con título **"Evaluación de la involución, salud uterina y retorno de la actividad ovárica con la adición de Zeolita 2% en la dieta basal de vacas lecheras"**, y que se lleva a cabo en la Universidad de Cuenca bajo la dirección del Dr. MSc. Diego Andrés Galarza Lucero.

## ACUERDAN

1. Que la empresa La Colina Cía. Ltda. se compromete a entregar 12 sacos de Captador Plus de 30 kg malla 200 para ensayos en la mencionada tesis maestra y que el investigador en formación se compromete a entregar todos los resultados generados en la elaboración de ésta.
2. En caso de incumplimiento de los compromisos incluidos en este documento, o si se producen otros tipos de conflictos, las partes se comprometen a informar del problema a la Escuela de Maestrías de la Universidad de Cuenca, que actuarán como mediadores a través de las comisiones respectivas que tengan otorgada esta competencia.

Y en prueba de conformidad con cuanto antecede, firman el presente acuerdo en el lugar y fecha indicados.

Firmado en Cuenca, a 20 de abril de 2015.

  
 POR LA COLINA CÍA. LTDA.  
 Ing. Amador Luciano Suin Espejo  
 Gerente General.

  
 EL INVESTIGADOR EN FORMACIÓN  
 Dr. Juan Pablo Garzón Prado



## ANEXO 11. Fotografías.



**Selección de Vacas Secas al  
pastoreo. CC  $\geq$  3,5**

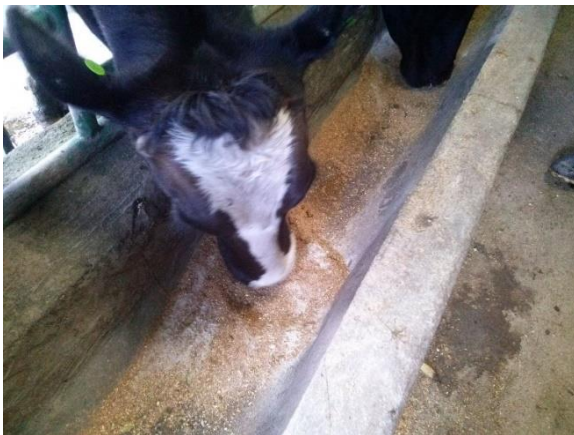


**Vaca Seca al pastoreo, consumo  
individual de Zeolita 2%.**



**Vacas de producción láctea, al pastoreo.**



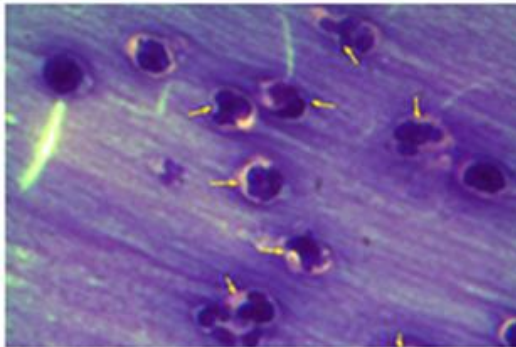


**Adición y Consumo de Zeolita al 2% en Vacas de Producción de Leche**

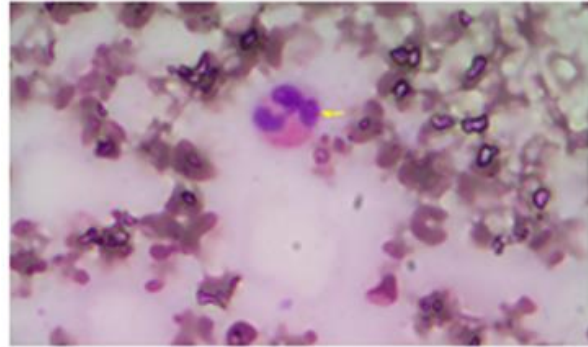


**Materiales utilizados para realizar Citología Endometrial (Cytobrush)**



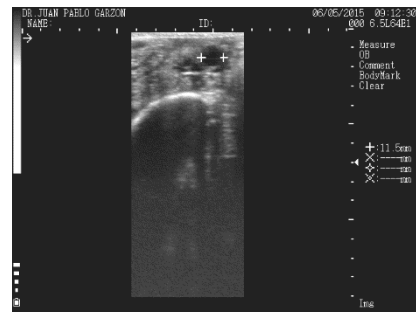


**Control**

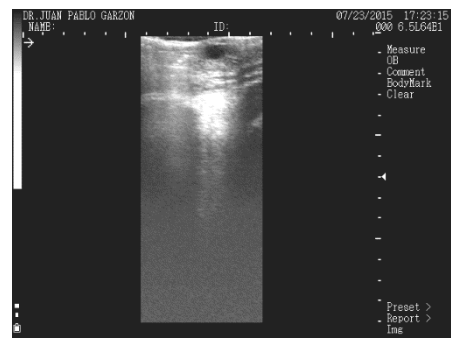


**Experimental**

**Evaluación De Salud Uterina (%PMN) en el laboratorio.**



**Ovario: folículo  $\geq$  10mm. GE**



**Ovario: folículo < 10mm. GC**

**Evaluación De Actividad Ovárica por ultrasonografía y Muestreo de Citología Endometrial (Cytobrush).**