

**UNIVERSIDAD DE CUENCA**



**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

***“Efecto de la ozonoterapia sobre la salud uterina en vacas lecheras al pastoreo en etapa postparto temprano”.***

Tesis previa a la obtención del Título de  
Médico Veterinario Zootecnista.

**Autores:**

Byron Mauricio Escandón Gualpa CI: 0106751878

Juan Sebastián Espinoza Alvarado CI: 0105500102

**Director:**

Dr. Rafael Antonio Ochoa Mendez Mg. Sc. CI: 0101816478

**CUENCA-ECUADOR**

**2019**



## Resumen

El estudio se realizó en 4 ganaderías de las parroquias Tarqui y Victoria de Portete del Cantón Cuenca, Provincia de Azuay, en 80 vacas Holstein Friesian mestizas, seleccionadas al azar en etapa postparto, con condición corporal entre 2,5 - 3, multíparas, clínicamente sanas, con similares condiciones sanitarias y de manejo; divididas en un grupo experimental GOz (n1=40): solución bidestilada ozonificada (SBO) concentración 50µg/ml administrada vía intrauterina; el segundo grupo control GC (n2=40). Se evaluó la Salud Uterina (SU) para determinar presencia de endometritis subclínica (ES) considerando positivas aquellas mayor o igual al 6% de polimorfonucleares (PMNs) a los 35 – 42 dpp por Cytobrush, también se evaluaron parámetros reproductivos: número servicios por concepción (NSPC), intervalo parto primer servicio (IPPS), tasa concepción al primer servicio (TCPS) y días abiertos (DAB). Los resultados: porcentaje de ES en primera citología 42,5% y 50% para GOz y GC, mientras que a las 72 horas el porcentaje disminuyó al 5% para GOz y en GC mantuvo el mismo valor ( $p < 0,0001$ ), el IPPS GOz =  $75,1 \pm 4,65$  días; para GC =  $66,1 \pm 4,31$  días, no se observó diferencia significativa entre ambos grupos ( $P > 0,05$ ). El NSPC fue  $2,1 \pm 0,25$  GOz y  $3,1 \pm 0,23$  GC mostrando diferencia estadística, TCPS fue 50,00% para GOz y 16,22% para GC, se demuestra una diferencia significativa ( $P < 0,01$ ) a favor del GOz, en DAB los valores beneficiaron al GOz  $126,2 \pm 9,72$  días sobre  $148,9 \pm 9,01$  días del GC; sin embargo, no presentaron significancia ( $p > 0,05$ ).

**Palabras clave:** ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA, OZONO, POLIMORMO NUCLEARES, CYTOBRUSH.



### Abstract

This study was carried out in 4 farms of Tarqui and Victoria parishes of Portete del Cantón Cuenca, Province of Azuay, in 80 Holstein Friesian mestizas cows, randomly selected in postpartum stage, with a body condition between 2.5 - 3, multiparous, clinically healthy, with the same sanitary and management conditions; divided into an experimental group GOz (n1 = 40): ozonized desensitized solution (SBO) at a concentration of 50µg / ml administered intrauterine and the second control group GC (n2 = 40). Uterine Health (SU) was evaluated to determine the presence of subclinical endometritis (ES), considering positive those with greater than or equal to 6% polymorphonuclear (PMNs) at 35 - 42 dpp by Cytobrush, reproductive parameters were also evaluated: number of services per conception (NSPC), first service delivery interval (IPPS), first service conception rate (TCPS) and open days (DAB). The results: percentage of ES in first cytology 42.5% and 50% for GOz and GC, while at 72 hours the percentage decreased to 5% for GOz and in GC maintained the same value ( $p < 0.0001$ ), the IPPS GOz =  $75.1 \pm 4.65$  days; for GC =  $66.1 \pm 4.31$  days, no significant difference was observed between both groups ( $P > 0.05$ ). The NSPC was  $2.1 \pm 0.25$  GOz and  $3.1 \pm 0.23$  GC showing statistical difference, TCPS was 50.00% for GOz and 16.22 % for GC, a significant difference was demonstrated ( $P < 0.01$ ) in favor of GOz, in DAB the values benefited GOz  $126.2 \pm 9.72$  days over  $148.9 \pm 9.01$  days of GC; however, they did not show significance ( $p > 0.05$ ).

**Key words:** SUBCLINICAL ENDOMETRITIS, OZONE, POLYMORPH NUCLEARES, CYTOBRUSH.



## INDICE DE CONTENIDO

Resumen.....	2
Abstract.....	3
INDICE DE CONTENIDO.....	4
INDICE DE TABLAS .....	6
INDICE DE FIGURAS .....	6
INDICE DE ANEXOS.....	6
Agradecimientos .....	11
Dedicatoria .....	12
Abreviatura y simbología .....	13
1. Introducción. ....	14
1.1. Objetivos.....	15
1.1.1. Objetivo General.....	15
1.1.2. Objetivos Específicos. ....	15
1.2. Hipótesis.....	15
2. Revisión de literatura. ....	16
2.1. La reproducción animal en la actividad ganadera. ....	16
2.2. Parto.....	16
2.2.1 Fisiología del parto .....	16
2.2.2 Etapas del parto.....	16
2.2.3 Etapa Preliminar .....	17
2.2.4 Etapa de Expulsión .....	17
2.2.5 Etapa Final.....	17
2.2.6 Puerperio .....	18
2.2.7 Puerperio temprano .....	18
2.2.8 Puerperio intermedio.....	18
2.2.9 Puerperio post ovulatorio .....	19
2.2.10 Involución uterina .....	19
2.2.11 Involución caruncular y regeneración endometrial .....	19
2.2.12 Flora bacteriana e infección uterina .....	20
2.2.13 Mecanismos de defensa.....	20
2.2.14 Reinicio de la actividad y ciclicidad ovárica.....	21
2.3. Enfermedades uterinas.....	23
2.3.1 Clasificación de las enfermedades uterinas .....	24



2.3.2	Complicaciones uterinas del puerperio temprano	24
2.3.3	Complicaciones uterinas del estadio de involución intermedio a tardío	25
2.3.4	Complicaciones uterinas del período de servicio	27
2.3.5	Métodos diagnósticos de las endometritis	27
2.4.	Ozonoterapia como tratamiento alternativo de la endometritis subclínica:	30
2.4.1	El ozono para uso medicinal	30
2.4.2	Mecanismo de acción del ozono	31
2.4.3	Vías de aplicación y dosificación	31
2.4.4	La ozonoterapia intrauterina en bovinos	32
2.4.5	Efecto de la ozonoterapia sobre indicadores reproductivos	32
2.4.6	Efecto de la ozonoterapia sobre el intervalo de días abiertos	34
3.	Materiales y Métodos	36
3.1.	Materiales:	36
3.2.	Métodos:	37
3.2.1	Ubicación del proyecto:	37
3.2.2	Unidades experimentales:	40
3.2.3	Muestreo citológico por Cytobrush:	41
3.2.4	Aplicación de Ozonoterapia (O3):	42
3.2.5	Segunda evaluación endometrial de PMN:	42
3.2.6	Lectura de muestras citológicas en laboratorio:	42
3.2.7	Evaluación de indicadores reproductivos intervalo parto primer servicio (IPPS), Numero de servicios por concepción (NSPC), Tasa de concepción al primer servicio (TCPS) y Días Abiertos (DAB)	43
3.3	Diseño experimental:	43
4.	Resultados	44
4.1.	Determinación del porcentaje de ES	44
4.2.	Distribución entre el número de partos y la presencia de ES	44
4.3.	Efecto de la ozonoterapia sobre la tasa de ES determinada mediante el conteo de PMNs entre los días 35 y 42 DPP	45
4.4.	Efecto de la ozonoterapia sobre parámetros reproductivos	46
4.5	Efecto de la ozonoterapia sobre la Tasa de concepción al primer servicio	46
5.	Discusion	47
5.1.	Determinación del porcentaje de endometritis subclínica del estudio realizado	47
5.2.	Efecto de la ozonoterapia sobre la ES mediante la determinación de PMNs entre los días 35-42 DPP	47



5.3. Efecto de la ozonoterapia sobre indicadores reproductivos.....	48
6. Conclusiones: .....	50
7. Recomendaciones: .....	51
8. Bibliografía.....	52
9. Anexos .....	59

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Materiales.....	36
Tabla 2. Distribución entre el número de partos y la presencia de ES.....	45
Tabla 3. Efecto de la ozonoterapia sobre salud uterina (%PMNs).....	45
Tabla 4. Efecto de la ozonoterapia sobre parámetros reproductivos .....	46
Tabla 5. Efecto de la ozonoterapia sobre TCPS.....	46

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de las haciendas del sector Victoria del Portete. ....	37
Figura 2. Condiciones agroclimáticas en Victoria del Portete.....	38
Figura 3. Grafico N°3. Ubicación de las haciendas del sector Tarqui.....	39
Figura 4. Condiciones agroclimáticas en Tarqui.....	40
Figura 5. Determinación del porcentaje de ES .....	44

## INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Cronograma de actividades.....	59
Anexo 2. Socialización del proyecto con el Doctor Esteban Vélez propietario de la hacienda “LOS ALAMOS” .....	59
Anexo 3. Hoja de campo.....	60
Anexo 4. Cronograma de actividades semanales .....	61
Anexo 5. Preparación de los materiales para la técnica de Cytobrush .....	61
Anexo 6. Obtención de la citología mediante Cytobrush .....	62
Anexo 7. Aplicación del tratamiento (Ozonoterapia).....	63
Anexo 8. Tinción de las muestras citológicas.....	64
Anexo 9. Evaluación de polimorfo nucleares .....	65
Anexo 10. Pruebas estadísticas .....	67



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

---

Yo, Byron Mauricio Escandón Gualpa en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Efecto de la ozonoterapia sobre la salud uterina en vacas lecheras al pastoreo en etapa postparto temprano", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio Institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 25 de enero de 2019

---

Byron Mauricio Escandón Gualpa

C.I: 0106751878



### Cláusula de Propiedad Intelectual

---

Yo, Byron Mauricio Escandón Gualpa, autor del trabajo de titulación "Efecto de la ozonoterapia sobre la salud uterina en vacas lecheras al pastoreo en etapa postparto temprano", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 25 de enero de 2019

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'M. Escandón', written over a horizontal line.

Byron Mauricio Escandón Gualpa

C.I: 0106751878





### Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

---

Yo, Juan Sebastian Espinoza Alvarado en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Efecto de la ozonoterapia sobre la salud uterina en vacas lecheras al pastoreo en etapa postparto temprano", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 25 de enero de 2019

---

Juan Sebastian Espinoza Alvarado

C.I: 0105500102



### Cláusula de Propiedad Intelectual

---

Yo, Juan Sebastian Espinoza Alvarado, autor del trabajo de titulación "Efecto de la ozonoterapia sobre la salud uterina en vacas lecheras al pastoreo en etapa postparto temprano", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 25 de enero de 2019

A handwritten signature in black ink that reads "Juan S. Espinoza A." with a horizontal line underneath.

Juan Sebastian Espinoza Alvarado

C.I: 0105500102



## Agradecimientos

Agradecemos a todos aquellos que de alguna manera han participado en el proceso de realización de nuestra tesis. Especialmente a nuestro tutor de tesis el Dr. Rafael Ochoa quien durante este proceso nos ha brindado su apoyo; también al Dr. Juan Pablo Garzón, Dr. Fernando Quito, Dr. Fernando Perea y al Dr. Gonzalo López por su colaboración. Del mismo modo, a la empresa La Colina por facilitarnos materiales para la realización de nuestra tesis.

Agradecemos también a los propietarios: Freddy Heimbach, William Granda, Esteban Vélez y al Dr. Johnny Narváez, Administrador de la granja de la Universidad de Cuenca.

Es imprescindible recalcar el valor de la colaboración de todos y cada uno de los profesores que a lo largo de nuestra carrera aportaron con sus conocimientos. Sin duda, es gracias a sus labores que hoy somos capaces de alcanzar esta meta.



## Dedicatoria

Dedico este trabajo de investigación primeramente a mis padres, Vinicio y Olga, quienes fueron siempre mi más grande motivación a lo largo de toda mi vida académica, gracias a todo su apoyo he logrado alcanzar esta primera meta en mi vida profesional. De igual manera a todos mis hermanos y en especial al menor, Franklin, quiero que sigas mi ejemplo y te conviertas en un gran profesional.

Byron Mauricio Escandón Gualpa

Quiero dedicar este trabajo de tesis a mis padres que han sido parte importante en mi proceso de formación; han inculcado en mí valores como la responsabilidad, la perseverancia y el respeto a todos los seres vivos. Además, a mis hermanos y a mi sobrina que me han apoyado y motivado para superar las dificultades que aparecen a lo largo de nuestro camino. A mi novia que me ha brindado apoyo incondicional y afecto.

Juan Sebastian Espinoza Alvarado



## Abreviatura y simbología

CE = Citología endometrial

DAB = Días abiertos

DPP = Días post parto

EC = Endometritis clínica

ES = Endometritis subclínica

GC = Grupo control

GOZ = Grupo ozono

IPPS = Intervalo parto primer servicio

NSPC = Numero de servicios por concepción

O3 = Ozono

PMNs = Polimorfo nucleares

SBO = Solución bidestilada estéril ozonificada

TCPS = Tasa de concepción al primer servicio

SU = Salud uterina

BNE = Balance energético negativo

µg = Microgramos



## 1. INTRODUCCIÓN.

Dentro de las actividades pecuarias de mayor importancia en Ecuador, lidera la explotación bovina con 4,19 millones de cabezas; de este total de bovinos 896.170 cabezas corresponden a vacas ordeñadas. Al 2016 la provincia del Azuay se ubica en tercer lugar en producción leche a nivel nacional, registrando una producción de 561.431 litros de leche diarios, con porcentaje de participación del 10,55% del total de la producción nacional de 5.319.288 diaria (ESPAC - INEC. Resultados 2017) (1) (2).

El manejo reproductivo en vacas posparto se realiza con el propósito de diagnosticar y tratar patologías del útero, con el objetivo de disminuir los días abiertos (3) La endometritis subclínica(ES) es una enfermedad reproductiva que afecta una proporción importante de vacas luego del parto (18-20% hasta los 40 dpp); debido a que las vacas que la padecen no presentan sintomatología clínica, pasa desapercibida y estas hembras no reciben el tratamiento terapéutico indicado (4)

Como impacto negativo, en la eficiencia reproductiva de la ES se incluye el incremento del número de días abiertos, aumento de los servicios por concepción e incremento del riesgo de eliminación debido a fallas reproductivas (5) Tradicionalmente, la endometritis clínica y la ES, cuando es detectada, ha sido tratada con diversos tipos de antibióticos y esquemas terapéuticos. Sin embargo, la leche producida durante los días de tratamiento debe ser descartada; lo cual, ocasiona pérdidas económicas en la unidad de producción (6)

La ozonoterapia representa un tratamiento alternativo para algunos procesos infecciosos reproductivos intrauterinos, como el caso de la ES (7) El uso de ozono no produce ningún residuo en los alimentos; por su parte, los antibióticos presentan diferentes grados de absorción y mayor presencia de residuo antibiótico en la leche y la carne, como consecuencia, incrementan la resistencia bacteriana (8).

En los sistemas productivos lecheros a pastoreo de la serranía sur ecuatoriana, en especial del Azuay, no se han establecido estrategias de



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

manejo para disminuir los problemas de salud uterina, particularmente los causados por la endometritis subclínica ni para mejorar el rendimiento reproductivo y productivo de las vacas en ordeño. El presente trabajo pretende evaluar la efectividad de la ozonoterapia aplicada en el periodo postparto temprano para controlar los casos de ES y validar una estrategia de manejo que permita reducir la incidencia de esta enfermedad aplicando esta terapia de forma rutinaria en el rebaño de ordeño.

### 1.1. Objetivos

#### 1.1.1. Objetivo General.

- Evaluar el efecto de la ozonoterapia durante el periodo postparto temprano sobre la salud uterina y su influencia en la eficiencia reproductiva de vacas lecheras al pastoreo.

#### 1.1.2. Objetivos Específicos.

- Determinar el porcentaje de endometritis subclínica en las diferentes ganaderías en las que se realizara el estudio
- Evaluar la efectividad de la ozonoterapia para controlar las endometritis subclínica mediante la determinación del porcentaje de células polimorfo nucleares entre los días 35 y 42 días postparto.
- Evaluar el efecto de la ozonoterapia mediante indicadores reproductivos

### 1.2. Hipótesis.

La aplicación de ozonoterapia vía intrauterina en vacas en etapa postparto temprano mejora la salud uterina y mejora los parámetros de números de servicios por concepción y los días abiertos.



## 2. REVISIÓN DE LITERATURA.

### 2.1. La reproducción animal en la actividad ganadera.

En el Ecuador una de las principales limitantes de la producción bovina de leche y carne, es el retorno al estro, posparto y la posterior concepción dentro de los plazos y parámetros establecidos. La eficacia reproductiva es uno de los factores primordiales que contribuyen a obtener éxito económico de una explotación ganadera, ya sea de producción de leche o carne. Teniendo en cuenta la tasa de preñez y sobre todo su distribución, podemos apreciar su importante impacto sobre la rentabilidad económica de un establecimiento ganadero (9).

### 2.2. Parto.

Se conoce como parto al proceso fisiológico en el que un feto viable es expulsado junto con los fluidos y las membranas fetales fuera del útero materno. La luteólisis es un proceso fundamental en el desencadenamiento del parto, debido a que la gestación depende de la secreción de progesterona proveniente del cuerpo lúteo (10)

#### 2.2.1 Fisiología del parto

Todas las modificaciones endocrinas que se producen durante la gestación o preñez, tienen por objeto el nacimiento de un feto viable, la expulsión de las membranas fetales, el inicio de la lactogénesis, y por último la involución uterina (11)

Para que el parto sea factible y normal, deberán producirse a nivel del aparato genital, una serie de modificaciones que permitan la expulsión fetal, a saber: relajación de la vulva, vagina, cuello uterino y transformación de un miometrio en un músculo activo (12).

#### 2.2.2 Etapas del parto

El parto natural se divide en tres etapas: etapa preliminar, etapa de expulsión y etapa final. La rentabilidad en los sistemas ganaderos puede verse afectada por la existencia de dificultades al parto, puesto que deterioran la eficiencia





reproductiva las vacas; también, puede afectarse la sobrevivencia perinatal del ternero y comprometer su posterior desarrollo (13).

### **2.2.3 Etapa Preliminar**

Esta primera etapa se caracteriza por la dilatación del cérvix y marca el comienzo del parto cuando el cuello uterino alcanza un diámetro entre 8 y 15 centímetros. Las contracciones uterinas desplazan a la cría conjuntamente con las membranas fetales hacia cérvix. La membrana corioalantoidea, comúnmente llamada “bolsa de las aguas”, penetra y dilata el cuello uterino. En éste momento se nota mayor inquietud en el animal, arqueamiento del lomo y cola extendida. Finalmente, el dolor de las contracciones obliga al animal a recostarse. La etapa preliminar suele extenderse de 2 a 3 horas en vacas y 4 a 6 horas en novillas primerizas (14).

### **2.2.4 Etapa de Expulsión**

Durante la etapa de expulsión, la cría es forzada y expulsada a través del canal de parto. Hay que tomar en cuenta que esta etapa dura de 2 a 4 horas en vacas con varios partos, y de 3 a 6 horas en novillas primerizas. Además, si la cría es muy grande, la etapa puede prolongarse y alcanzar un período superior a 6 horas. Al inicio de la segunda etapa, el cuello cervical está abierto 3/4 partes, y puede aparecer una porción de la “bolsa de las aguas” en la parte exterior de la vagina (15).

### **2.2.5 Etapa Final**

El parto termina cuando se produce la expulsión de la placenta, en bovinos se produce por efecto de las contracciones. En el caso de existir la certeza de que no se ha expulsado la placenta en un periodo superior a las 8 horas a partir de la expulsión de la cría, se deberá realizar un tratamiento de antibioterapia. El siguiente periodo del postparto consiste en la reducción del tamaño del útero y posteriormente, entre 20 y 30 días, la recuperación del ciclo astral (14).



### **2.2.6 Puerperio**

Se define al puerperio como el período que inicia con la expulsión de los anexos fetales y finaliza con la instauración de una nueva ovulación con celo visible, en la cual la preñez puede ser restablecida (16); (17):

- a- Puerperio temprano: desde la eliminación de las secundinas hasta el día noveno, la regresión uterina está concluida, las barreras defensivas se han completado.
- b- Puerperio clínico: hasta el día 21 postparto, el útero involucre hasta aproximadamente el tamaño del órgano no grávido.
- c- Puerperio total: ocurre a las seis semanas postparto, donde las modificaciones del endometrio causadas por la gestación ya no existen, se ha concluido la regeneración histológica completa (18).

### **2.2.7 Puerperio temprano**

Abarca el lapso desde el parto hasta que la hipófisis se hace sensible a los factores liberadores de GnRH, dura de 8 a 16 días. Durante esta fase, los ovarios producen muy pequeñas cantidades de estrógenos y progesterona. A esta fase la podríamos definir como la recuperación del eje Hipotálamo-hipofiso-ovárico (HHO) al estado pregestacional (19).

### **2.2.8 Puerperio intermedio**

Comprende el periodo que inicia cuando la hipófisis se hace sensible a la liberación de GnRH y finaliza con la primera ovulación post parto. Su longitud es muy variable, tal como la primera ovulación post parto (20).

Las descargas desincronizadas de FSH y LH, con prevalencia de la hormona Folículo Estimulante, se mantienen las primeras dos semanas PP, según razas, estado corporal, o el tiempo de lactancia; pero, a medida que los niveles estrogénicos se elevan por movimientos foliculogénicos ováricos, el sistema hipotálamo-hipofisario se sensibiliza, como resultado las descargas de LH cambian en cuanto a su frecuencia y amplitud, se hacen pulsátiles, primero de baja amplitud, algunas veces hasta presentar celos anovulatorios entre los 25 y 30 días; o a la formación de un CL de vida media muy corta y posteriormente de mayor amplitud, hacia el estado preovulatorio (20).



### **2.2.9 Puerperio post ovulatorio**

Abarca desde la primera ovulación hasta que la involución uterina esté completa, puede comprender un periodo de 52 o 56 días. El intervalo entre el parto y la completa restauración uterina es mayor en animales pluríparas que en primíparas (18).

### **2.2.10 Involución uterina**

El útero después del parto sufre modificaciones macroscópicas y microscópicas hasta alcanzar las características de un útero no gestante. El proceso se completa entre 30 y 45 días. El peso y tamaño del útero posparto disminuyen rápidamente como consecuencia de la atrofia de las fibras musculares, necrosis de las carúnculas y eliminación de líquidos. Simultáneamente, el útero reduce su tamaño y el endometrio sufre un proceso regenerativo para estar en condiciones de albergar una nueva gestación (21).

El proceso de involución es favorecido por las contracciones uterinas que continúan presentándose dentro de las dos primeras semanas posparto. Las contracciones del miometrio facilitan la eliminación de fluidos y desechos, disminuyen la probabilidad de hemorragias al presionar a los vasos sanguíneos y reducen el tamaño del útero (15).

Los procesos involutivos del útero puerperal se pueden agrupar del siguiente modo (22):

1. Restablecimiento de la forma del cérvix.
2. Disminución de la luz y del volumen uterino.
3. Involución caruncular y reparación endometrial.
4. Ciclo de eliminación de los loquios.
5. Flora bacteriana, infección uterina y mecanismos de defensa
6. Reinicio de la ciclicidad.

### **2.2.11 Involución caruncular y regeneración endometrial**

La involución del útero implica el retorno al estado normal. Esto incluye el regreso al tamaño original, así como la recuperación del endometrio, en vacas viejas el útero puede no regresar al área pélvica, por lo tanto, el tono que se determina por palpación rectal es el indicador más preciso de la involución.



Después de la retención placentaria, infección uterina o ambas, la involución del útero puede retrasarse por varias semanas (23).

### **2.2.12 Flora bacteriana e infección uterina**

Antes del parto el útero es estéril, ya que está protegido de la contaminación bacteriana por la vulva y el cérvix. Durante el parto, esas barreras físicas son vulneradas y el útero queda expuesto a bacterias que se encuentran en el ambiente, piel y heces, o bacterias que se introducen durante la manipulación del parto (24).

La enfermedad uterina, por una disfunción del útero y el ovario, afecta en gran medida a las vacas lecheras después del parto, causando infertilidad, el útero se contamina durante el parto, pero los mecanismos de defensa tienen la capacidad de eliminar las infecciones (25).

Otros factores (26) que también predisponen a que ocurra una metritis son:

- Muerte perinatal
- Mellizos
- Prolapso uterino
- Fiebre de la leche
- Lugar del parto
- Higiene y desinfección en maniobras obstétricas

### **2.2.13 Mecanismos de defensa**

Normalmente el útero posee mecanismos de defensa eficaces para controlar y eliminar la flora bacteriana, como las contracciones uterinas y las secreciones endometriales que contienen factores antibacterianos como neutrófilos, linfocitos y macrófagos (20).

Las células blancas de la sangre o leucocitos: macrófagos y los linfocitos, así como los neutrófilos, eosinófilos participan en la protección del útero contra las infecciones. La fagocitosis es efectuada por los polimorfonucleares (principalmente neutrófilos) y los macrófagos. La llegada de neutrófilos polimorfonucleares (PMNs) atraídos por citoquinas como la interleuquina-8 (IL-8), juega un rol fundamental en la respuesta inmune del útero debido a que los



polimorfo nucleares (PMNs) procedentes de la sangre son las principales células efectoras para eliminar las bacterias del útero después del parto (27).

La infección uterina causa daño a los tejidos uterinos y endometriales, tales como aumento e inflamación del extracto compacto asociado con el rendimiento reproductivo (27). Luego de una distocia o de una retención placentaria la proliferación bacteriana se incrementa con la proliferación de bacterias patógenas, las retenciones placentarias en general evolucionan hacia una metritis purulenta (metritis crónica), la flora bacteriana de algunos patógenos (*Actinomyces pyogenes* y *Fusobacterium* spp.) se mantiene elevada dentro del útero por un período indefinido de tiempo, causando una marcada sub involución uterina (28).

#### **2.2.14 Reinicio de la actividad y ciclicidad ovárica**

Durante la gestación y después del parto las vacas tienen cambios fisiológicos que desfavorecen el reinicio temprano de la actividad ovárica necesaria para la manifestación de estro, la ovulación y la nueva concepción y deben restablecer su equilibrio neuroendocrino antes de que esto suceda. Durante los primeros tres meses de la gestación bovina, los ovarios continúan desarrollando ondas foliculares sucesivas con atresia del folículo (29).

En la primera onda folicular formada después de la concepción se forma un folículo dominante de diámetro similar a un folículo ovulatorio, pero los folículos dominantes de ondas sucesivas disminuyen su diámetro, acercándose cada vez más al diámetro de los folículos subordinados (30).

Durante el último tercio de la gestación continúa el crecimiento de folículos antrales, pero estos no alcanzan el estado de madurez. Los niveles altos de progesterona y el gran aumento en la concentración sérica de estrógenos placentarios actúan sobre el hipotálamo mediante una retroalimentación negativa prolongada que disminuye la síntesis de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y sus reservas hipotalámicas a niveles tan bajos, que la cantidad disponible para ser liberada es insuficiente para estimular normalmente la función gonadotrópica hipofisiaria (29).



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

Como consecuencia de esta insuficiencia y carencia de estímulo se reduce la actividad y el volumen de los gonadotropos y se disminuye el nivel basal de hormona folículoestimulante (FSH) y de hormona luteinizante (LH), hasta hacerlas insuficientes para estimular el crecimiento y la maduración folicular (30).

Después del parto las vacas tienen cambios fisiológicos importantes que conducen a la involución uterina, la reanudación de la secreción pulsátil de gonadotropinas hipofisarias, el restablecimiento del desarrollo de ondas foliculares, la manifestación del estro y la ovulación. La remoción de la unidad fetoplacentaria es acompañada de un descenso dramático en la concentración de progesterona y de estradiol en la circulación, de manera que se termina el efecto de retroalimentación negativa prolongada y como consecuencia el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas inicia su recuperación (31).

La primera fase de recuperación se puede iniciar desde la primera semana postparto en vacas que han tenido parto normal, se nutren equilibradamente y poseen una buena condición corporal; sin embargo, se retrasa en las vacas que han presentado distocia, retención de placenta, enfermedades metabólicas peripartales y desbalances nutricionales. Esta fase se caracteriza por la liberación de pulsos de baja frecuencia (un pulso cada 4 a 8 horas) de GnRH a la circulación (30).

Durante las primeras semanas del período postparto aparentemente no existen limitaciones del desarrollo folicular a causa de una deficiencia de FSH, pero sí de LH, especialmente en vacas tipo carne que amamantan permanentemente y en vacas lecheras con BEN. La liberación de pulsos de GnRH con baja frecuencia estimula la síntesis y liberación de FSH desde la primera semana postparto con el objetivo de favorecer el reclutamiento temprano de porta-hipofisaria. La frecuencia de liberación de GnRH cambia bajo varias condiciones fisiológicas y las variaciones en la frecuencia de liberación de pulsos de GnRH regula diferencialmente la secreción de FSH y de LH y la expresión de genes para las subunidades (LH y FSH in vivo) (30).

En algunas vacas que han tenido parto normal y se encuentran en excelente estado nutricional y sanitario se puede producir la maduración final y la



ovulación del folículo dominante de la primera cohorte, es por esto que muestran signos de estro a la segunda o tercera semana postparto. No obstante, esta no es la norma; al contrario, es mucho más frecuente encontrar vacas que no presentan estro durante el postparto temprano, llegando a permanecer varios meses en anestro (31).

El aumento paulatino de la frecuencia de liberación de pulsos de GnRH estimula lentamente la maquinaria sintetizadora de las subunidades y así la LH se va acumulando progresivamente en forma de gránulos intracitoplasmáticos. Puesto que durante el postparto temprano la velocidad de síntesis de LH es baja, los primeros pulsos liberados no tienen la suficiente magnitud para inducir la maduración folicular y la ovulación. Cuando la cantidad de LH almacenada llegue al nivel normal y el hipotálamo libere pulsos altos y frecuentes de GnRH, la hipófisis pondrá en circulación una alta cantidad (en forma de pico) de LH que estimula la maduración final del folículo y la ovulación (31).

### **2.3. Enfermedades uterinas**

Las enfermedades uterinas en el período posparto comprometen seriamente la eficiencia reproductiva. La clasificación realizada hace pocos años por Sheldon et al. (2006) permite diagnosticarlas con mayor facilidad según el tiempo transcurrido desde el parto hasta su detección y diagnóstico. De acuerdo con esta clasificación es posible denominar como metritis puerperal a aquella que aparece entre los días 4 a 10 posparto; endometritis clínica y la piómetra cuando se presenta a partir del día 14 posparto y endometritis subclínica cuando ocurre en cualquier momento posterior a la culminación histológica de la involución uterina (en general más allá de las 5 a 6 semanas del posparto) (22).

Las metritis puerperales agudas ocurren generalmente en la etapa de mayor vulnerabilidad uterina, fundamentalmente por la poca concentración de 17 $\beta$  estradiol existente. Cuanto mayor es el tiempo de recuperación en esta etapa, mayores son los riesgos de infecciones puerperales, pues al ser los estrógenos los esteroides que más contribuyen a elevar las defensas a nivel endometrial,





cualquier prolongación en la recuperación del ciclo sexual, puede conducir a trastornos ocasionalmente graves (32).

El mecanismo encargado de la eliminación de las bacterias del útero es la fagocitosis y la muerte por leucocitos que migran. Aunque la persistencia de las contracciones uterinas, la eliminación del tejido caruncular y las secreciones uterinas cooperan también con la expulsión física de las bacterias (33)

Se encontró que alrededor de dos días después de producirse el parto, el sistema de defensa es estimulado por los microorganismos invasores y que la flora normal actúa como una defensa primaria del hospedador pues el útero saludable de la vaca es capaz de controlar rápidamente la invasión bacteriana durante el puerperio; para ello recurre a la infiltración leucocitaria, la hiperemia y la relajación del cuello uterino (34).

### **2.3.1 Clasificación de las enfermedades uterinas**

Debido a la existencia de una diferencia sustancial en la terminología de las enfermedades uterinas causadas por complicaciones de involución es común la presencia de confusiones. Sheldon et al. (2006) propusieron los siguientes términos para un uso uniforme de la terminología relacionada con esta problemática. La terminología incluye: metritis puerperal, endometritis clínica, piómetra y endometritis sub clínica (35).

### **2.3.2 Complicaciones uterinas del puerperio temprano**

**Metritis puerperal.** La metritis puerperal es la complicación bacteriana que se presenta durante el puerperio temprano, se observa en las primeras dos semanas después del parto (generalmente en los días 4-10 posparto) y se caracteriza por: - un abundante exudado maloliente, marrón-rojizo, acuoso (p.ej. pútrido) con algunos detritos necróticos en el útero y una pared uterina delgada en la primera mitad de este período; o - una cantidad limitada de exudado uterino maloliente y purulento, y una pared uterina engrosada (edematosa) algunos días más tarde. Pueden o no presentarse signos sistémicos de enfermedad (depresión, postración) incluyendo pirexia (36); (37).

**Patología.** Desde el punto de vista patológico, la metritis puerperal es una enfermedad inflamatoria pútrida aguda ocasionada por la infección bacteriana





masiva del útero. Los procesos degenerativos e infiltrativos conducen a un daño excesivo del epitelio luminal y glandular (a pesar de que actualmente no existen datos publicados que muestren la tasa de células endometriales necróticas a apoptóticas), y se pueden extender a todo el espesor de la pared uterina, ocasionalmente también a la serosa (perimetritis) y ligamentos suspensorios (parametritis) (22).

**Signos.** En la metritis puerperal, la consistencia viscosa de los loquios normales cambia a un exudado maloliente, acuoso y marrón-rojizo, la cantidad puede incrementarse y acompañarse de una pared uterina delgada puesto que el útero atónico no es capaz de eliminar su contenido (38).

En algunos casos, la pared uterina puede ser ligeramente gruesa por edema resultante de un proceso inflamatorio con una cantidad menor de contenido pútrido anormal, casi todas las capas de la pared uterina muestran signos inflamatorios agudos asociados con degeneración del tejido endometrial y miometrial. Sin embargo, el signo más importante, más allá de la cantidad de descarga, es el olor pestilente del contenido uterino acumulado (39)

**Diagnóstico.** El diagnóstico de metritis puerperal es normalmente directo y se obtiene en base a los signos clínicos. El tiempo transcurrido desde el parto y una descarga uterina maloliente, acuosa, marrón-rojiza, con o sin signos sistémicos, es suficiente para el diagnóstico (40).

### **2.3.3 Complicaciones uterinas del estadio de involución intermedio a tardío**

**Endometritis clínica, piómetra.** La endometritis clínica ocurre a partir de la tercera semana postparto (luego del día 14 p.p.) y se caracteriza por la presencia de un contenido anormal (mucopurulento o purulento) en la cavidad uterina y el mismo tipo de descarga hacia la vagina a través del cérvix que todavía se encuentra abierto. La piómetra bovina es una enfermedad inflamatoria íntimamente relacionada con la reactivación sexual postparto pues se desarrolla después de la primera ovulación en presencia de un tejido luteal activo (frecuentemente persistente), usualmente desde el día 20-21 (35).



**Patología.** En la endometritis, sólo el endometrio presenta inflamación; la afección no se extiende más allá del estrato esponjoso. Este proceso superficial está caracterizado por cambios degenerativos en el epitelio superficial, congestión vascular con edema de estroma y migración de granulocitos neutrófilos y otras células inflamatorias (linfocitos, células plasmáticas) dentro del endometrio y de la cavidad uterina (41); (42).

Durante el período puerperal el útero de la mayoría de las vacas se encuentra contaminado y quizás en el 90% se desarrolla una forma leve no patológica de endometritis. En la mayoría de las vacas los mecanismos de defensa antimicrobianos locales pueden eliminar los patógenos, y esta forma leve no patológica de endometritis se resuelve en unos pocos días (42).

Sin embargo, cuando a continuación de una recuperación incompleta de metritis puerperal, el útero se mantiene infectado con *A. pyogenes* y anaerobios GN obligados (*F. necrophorum*, *Prevotella* y *Bacteroides ssp.*) o re infectado con patógenos provenientes del ambiente, se puede desarrollar una endometritis clínica (43).

Cuando la endometritis clínica se presenta después de la primera ovulación, es probable el desarrollo de piómetra de forma simultánea a la formación de tejido luteal como resultado del cierre del cérvix regulado por la progesterona. En estas vacas el exudado (muco) purulento se acumula en el útero; concomitantemente, el cuerpo lúteo (CL) puede persistir; no obstante, se mantiene limitado a la liberación local de los productos inflamatorios, y/o su absorción desde el útero (42).

**Signos.** Existe al menos una pequeña cantidad de descarga cervical (muco purulenta), a pesar de que esto no siempre se observe en animales que se encuentran de pie. No aparecen signos sistémicos y, en la mayoría de los casos, la producción de leche también es normal (28).

El diagnóstico de piómetra por palpación rectal y/o ecografía transrectal (ultrasonografía, US) se basa en los signos bien definidos de útero agrandado, mayor volumen de contenido uterino acumulado, cérvix cerrado (p.ej. sin descarga visible) y un CL en el ovario (22); (44).



### 2.3.4 Complicaciones uterinas del período de servicio

**Endometritis sub clínica.** La endometritis subclínica, recientemente definida, se produce en cualquier momento posterior a la culminación histológica de la involución uterina (p.ej. en y luego de la semana 8), y se caracteriza por un endometrio infiltrado extensivamente con granulocitos neutrófilos, que pueden ser reconocidos sólo mediante un examen citológico del endometrio. No existe o existe sólo una mínima cantidad de exudado acumulado en el útero, dando como resultado una completa falta de descarga cervical con propiedades patognomónicas (45).

**Patología.** La endometritis sub clínica es un proceso inflamatorio crónico no manifiesto del endometrio, con una proporción relativamente alta de leucocitos PMN en el útero, la cual altera la fertilidad de las vacas afectadas. La proporción de células PMN considerada como “relativamente alta” depende de la técnica de muestreo así como del tiempo desde el parto (21).

### 2.3.5 Métodos diagnósticos de las endometritis

Se pueden utilizar distintos métodos para el diagnóstico de endometritis. (45); (46).

**Palpación rectal:** Durante la palpación del tracto reproductivo se deberán evaluar los siguientes hallazgos clínicos, tomando en cuenta la edad de la vaca y la cantidad de partos.

- Diámetro cervical (<5 cm, de 5 a 7.5 cm >7.5 cm) y su ubicación con respecto a la cavidad pelviana.
- Ubicación del útero (en la pelvis, o un poco más allá del borde pélvico pero completamente palpable después de la retracción, o pasando el borde pélvico y no palpable en toda su superficie).
- Cuernos uterinos simétricos (si / no).
- Diámetro del cuerno uterino más grande (en cm).
- Grosor de la pared uterina (gruesa / fina).
- Contenido uterino (si / no) presencia de fluctuación.
- Estructuras ováricas (cuerpo lúteo, folículo, quistes “con un diámetro  $\geq 2.5$  cm).



**Vaginoscopía:** Existen vaginoscopios de diferentes modelos, el más interesante (en opinión del autor) es el modelo Minitub® (Varikon Ref.No. 17064/0380) que permite la utilización de camisas sanitarias entre vaca y vaca (22).

La observación del orificio cervical externo, permite inspeccionar:

- Grado de dilatación o relajación.
- Presencia de flujo (sí / no).
- Características del flujo.
- Presencia de lesiones.
- Cantidad y características del moco:
  - 0 - moco claro y traslúcido.
  - 1 - moco con flóculos de pus.
  - 2 - <50 ml de exudado conteniendo un  $\leq 50\%$  de material muco purulento.
  - 3 - >50 ml de exudado formado por material purulento.
- Evaluación del olor:
  - 0 - normal a carne fresca.
  - 1 - fétido.

La presencia de olor en el moco vaginal entre los días 21 y 28 post parto refleja una gran carga bacteriana intrauterina. Material vaginal muco purulento o purulento y con olor fétido se debe asociar a un gran crecimiento de bacterias no oportunistas en el útero (22).

**Palpación vaginal:** el método consiste en explorar por vía vaginal, previa limpieza completa con papel del tipo cocina limpio y seco de la zona perineal, introducir la mano con un guante descartable por vulva y explorar hasta el fondo de vagina; se palpan las paredes laterales, techo y piso de vagina, el orificio cervical externo y se extrae moco para poder analizarlo. Del mismo modo se evalúa el color, proporción, volumen, características y olor (47).

**Ecografía:** La relación entre la estimación de las medidas del cuerno uterino y los días pos parto permite una evaluación a tiempo real. Se puede calcular el área de los cuernos uterinos y del cérvix en los diferentes estadios del puerperio, analizar las imágenes que se presentan del contenido, si existiese;



las imágenes ováricas y de los folículos (tamaño) y la presencia o ausencia de un cuerpo lúteo (48).

**Citología endometrial (CE):** Es un método utilizado principalmente para determinar las endometritis sub clínicas, pero que puede ser utilizado, con sus limitaciones, para evaluar la defensa uterina (49).

La metodología consiste en realizar limpieza de la zona perineal y especialmente vaginal con solución yodada y papel industrial, introducción del cytobrush hasta el lumen uterino, extracción del cepillo del tubo de acero protector, rotar sobre la pared del cuerno de mayor tamaño, volver a cubrir con el tubo protector, extraer de la vaca y hacer un frotis sobre un porta limpio y desengrasado; colorear con Giemsa o Tinción 15 (Biopur, Argentina). Observar en el microscopio óptico 400X (49).

Se considera la muestra (endometritis subclínica) cuando:

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

Los puntos de corte encontrados por Madoz et al. (2012) y De La Sota (2014) en vacas en pastoreo, consideraron a los animales positivos cuando (46), (49):

- Entre 21-33 días, PP>8% de polimorfos nucleares.
- Entre 34-47 días, PP>6% de polimorfos nucleares.
- Entre 40-60 días, PP>4% de polimorfos nucleares.

Este método es efectivo para el diagnóstico de las endometritis sub clínicas, así como su uso es interesante en vacas repetidoras para un diagnóstico de presencia de anidaciones bacterianas; una de las causas de repetición. Es importante determinar si el útero está infectado e instaurar un tratamiento precoz con el fin de asegurar una reducción del intervalo parto-gestación y así lograr una lactancia y un ternero por año (50).

La sensibilidad de cada uno de los métodos descritos para el diagnóstico de endometritis es (51):

- Palpación rectal: 22% de sensibilidad.
- Vaginoscopía: 60-80% de sensibilidad.



- Palpación vaginal: 60-80% de sensibilidad.
- Metrichcek: 60-80% de sensibilidad.
- Ultrasonografía: 94% de sensibilidad.
- Citología: 95% de sensibilidad.

#### **2.4. Ozonoterapia como tratamiento alternativo de la endometritis subclínica:**

Las patologías puerperales son una causa directa de la atención incorrecta del animal en situaciones estresantes como el parto y el inicio de la lactancia, con problemas de desbalance en el sistema inmunitario. Es importante la existencia de un criterio común para el diagnóstico y la implementación de medidas correctivas para reducir patologías uterinas dentro de los establecimientos lecheros y asegurar que las vacas tengan un puerperio normal y que regresen a un estado pre gestacional lo antes posible (52).

Se han intentado varios tratamientos basados normalmente en dos regímenes diferentes: - infusiones intrauterinas de antibióticos Oxitetraciclina, Penicilina-Estreptomicina, y antibióticos por vía sistémica (Ceftiofur; Oxitetraciclina) o la inyección intramuscular de prostaglandina F<sub>2α</sub> (22).

Como consecuencia de los problemas causados por la ES y la importancia económica que representa, en los últimos años se ha utilizado terapias alternativas, como la ozonoterapia (53).

##### **2.4.1 El ozono para uso medicinal**

El ozono es una forma alotrópica del oxígeno (con propiedades físicas particulares) que participa en el equilibrio ecológico de la tierra, pues absorbe la mayor parte de las radiaciones ultravioletas provenientes del sol, impidiéndoles alcanzar directamente la superficie terrestre. Se puede decir que el ozono es el oxígeno transformado por un aporte de energía. Las moléculas de ozono están compuestas de tres átomos de oxígeno; fórmula química O<sub>3</sub> (54).

El ozono para uso medicinal es una mezcla de oxígeno, que se logra por el paso de oxígeno puro por una descarga eléctrica de alto voltaje y alta frecuencia. Esta reacción química, realizada por un equipo especial de electromedicina, produce un gas con distintas concentraciones de ozono,



acorde a la patología y el tratamiento. El gas al entrar en contacto con el organismo produce cambios químicos terapéuticos (55); (56).

La acción bactericida, fungicida y viricida se da por la capacidad de asepsia propia del ozono. Su acción viricida se establece a nivel del ciclo reproductivo del virus interfiriendo su paso a nivel intracelular como consecuencia del poder oxidante del ozono. La ozonoterapia es una técnica que consiste en la utilización de gas ozono como elemento catalizador. Este oxígeno modificado, denominado ozono fue y continua siendo empleado en tratamientos alternativos (57).

#### **2.4.2 Mecanismo de acción del ozono**

La potente acción desinfectante local, antiviral y anti bacteriana sistémica, son responsables de una mayor acción bactericida, fungicida y de inactivación viral, que resulta de la oxidación de los microorganismos. El mecanismo antiséptico es similar al que el organismo usa normalmente con la participación de los leucocitos encargados de la fagocitosis bacteriana, de una molécula con propiedades oxidantes, parecida a la del  $O_3$  (55); (57).

#### **2.4.3 Vías de aplicación y dosificación**

La ozonoterapia promueve la aplicación de ozono medicinal ( $O_3$ ) con un objetivo terapéutico. La ozonoterapia está difundida y estudiada en la medicina humana, aunque solamente en los últimos años ha sido participe de estudios en medicina veterinaria (58)

Existen concentraciones placebo, terapéuticas y tóxicas del Ozono, de acuerdo a la literatura se ha comprobado que concentraciones de 5–10  $\mu\text{g/ml}$  y aún más pequeñas ejercen efectos terapéuticos con un amplio margen de seguridad de tal manera las concentraciones terapéuticas aceptadas van de 5 a 60  $\mu\text{g/ml}$ . Este rango incluye tanto técnicas de aplicación local como sistémica. Las dosificaciones del Ozono con efecto terapéutico se clasifican de acuerdo al mecanismo de acción en (59).

- a. Dosis bajas: tienen un efecto inmunomodulador, principalmente utilizadas en enfermedades con depresión del sistema inmunológico.





- b. Dosis medias: son inmunomoduladoras, además de estimular el sistema enzimático de defensas antioxidante y en enfermedades crónico degenerativas.
- c. Dosis altas: Se emplean principalmente en el tratamiento de úlceras y heridas infectadas.

El Ozono puede administrarse por cualquier vía parenteral o tópica, exceptuando la vía de inhalación; debido al daño que se produce en el epitelio por el grado de irritación que llega a causar al ser inhalado. Las vías de aplicación pueden usarse solas o en combinación, con la finalidad de ejercer un efecto sinérgico (59).

#### **2.4.4 La ozonoterapia intrauterina en bovinos**

Tratamiento intrauterino en metritis y retención de membranas fetales en la vaca: el ozono se empleó para el tratamiento de metritis puerperal séptica (MPS), agregado a Sustancia Salina (SSF), por vía intrauterina, demostrando que las terapias alternativas son menos agresivas con los tejidos uterinos, favoreciendo la recuperación de la función reproductiva más rápida que con antibióticos. Adicionalmente, no crea resistencias, no es residual y no es agresivo con los tejidos (60)

Las ventajas del ozono en comparación con los antibióticos son: la posibilidad de uso sin receta, los bajos costos de la medicación, la falta de resistencia bacteriana y la ausencia de residuos en los productos de origen animal. Sin embargo, el ozono se utiliza con poca frecuencia, es aún insuficiente en la práctica veterinaria (61).

#### **2.4.5 Efecto de la ozonoterapia sobre indicadores reproductivos**

La ozonoterapia como medicina alternativa, es utilizada en tratamientos de mastitis y otros procesos infecciosos reproductivos intrauterinos (endometritis, metritis, etc.) (62).

El Ozono tiene propiedades desinfectantes, antivirales, y antibacterianas sistémicas; mejora el metabolismo celular, aumenta el número de glóbulos rojos, oxigena mejor la sangre y aumenta la presión arterial, de esta manera la sangre alcanza más eficazmente las partes afectadas y ejerce un efecto positivo sobre los tejidos (63).





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

Recientemente se han exhibido resultados muy prometedores en el tratamiento de los trastornos puerperales en vacas, cabras y ovejas como una alternativa al uso de antibióticos, que están restringidos y / o se retiran gradualmente en la producción de animales alimenticios (61).

La ozonoterapia es una técnica que consiste en la aplicación de gas ozono como elemento catalizador, es empleado en tratamientos alternativos para contrarrestar procesos infecciosos, pues actúa mejorando la activación del sistema inmune, mejorando la circulación sanguínea pues aumenta la elasticidad de los glóbulos rojos, favoreciendo la llegada del oxígeno a los tejidos y con ello una recuperación de la función reproductiva más rápida (64).

Se considera que el ozono es el desinfectante de mayor eficiencia microbicida y requiere tiempos de contacto bastante cortos. Primeramente, es necesario que el ozono, como cualquier otro gas, se disuelva (diez veces más soluble que el oxígeno) en el agua del plasma, en los fluidos extracelulares, en la fina capa de agua que cubre la piel o en las mucosas del intestino, vagina, útero, entre otras (65).

El ozono destruye las bacterias como consecuencia de la ruptura de la membrana celular. Este proceso, conocido como destrucción de células por lisina, produce la dispersión del citoplasma celular en el agua; los lípidos insaturados son los componentes mayoritarios de la membrana citoplasmática que poseen las bacterias, el ozono ataca los enlaces olefínicos y da lugar a la formación de un ozónido (64).

Esta acción inicia la destrucción de la capacidad de funcionamiento de la célula y puede ser suficiente para causar la muerte de células más débiles. El ozónido tiene alto potencial de oxidación, es inestable, y ejerce su propia acción de desinfección atacando enzimas, grupos sulfhidrilo o aldehídos, liberando compuestos peroxiles, que son también desinfectantes, todo esto conduce, como mencionamos anteriormente, a la dispersión del citoplasma y por consiguiente a la muerte del microorganismo (64).

En medicina veterinaria, el ozono es empleado en terapias para el tratamiento de numerosas enfermedades específicas (endometritis, mastitis, etc.) En vacas



el ozono se emplea para el tratamiento de metritis puerperal séptica (MPS), agregado a Sustancia Salina (SSF), por vía intrauterina, demostrando que estas terapias alternativas se presentan menos agresivas a los tejidos uterinos, favoreciendo la recuperación de la función reproductiva más rápida que los antibióticos. En adición, no crea resistencias, no es residual y no es agresivo con los tejidos (64).

Además, incrementa la producción láctea (de un 5 a 30%). La leche de los cuartos sanos y de la vaca con metritis tratada con ozono puede ser utilizada inmediatamente para producción industrial y nutricional; del mismo modo con la carne. Siempre trabaja rápido, por lo general, con un tratamiento se puede curar la inflamación intrauterina y evitar la creación de resistencia (20).

Así mismo, se utiliza para aplicaciones en las crías de animales, como resultado presenta: limitación de emanaciones amoniacaes, mayor oxigenación, mejor digestión, mayor rendimiento de la alimentación, disminución de la mortandad por enfermedades de tipo bacteriológico, disminución del estrés del animal, desodorización de locales y mejor asepsia de locales de cría (62).

#### **2.4.6 Efecto de la ozonoterapia sobre el intervalo de días abiertos.**

Intervalo Parto-Primer Servicio pone en evidencia el tiempo transcurrido desde el parto hasta la primera inseminación o cubrición. Su cálculo se refleja como la suma de los días al primer servicio de todas las vacas en un periodo determinado entre el número de animales servidos por primera vez en ese mismo periodo (66).

Intervalo de Días Abiertos es el tiempo transcurrido entre el parto y la cubrición fecundante o inseminación positiva; se calcula al realizar la sumatoria de los días abiertos de las vacas preñadas en el hato dividido para el número total de vacas preñadas. Es necesario el inmediato reinicio de la actividad ovárica post-parto, pues facilita la probabilidad de que el animal presente un intervalo corto entre el parto y la concepción; no obstante, esta etapa puede verse afectada por las enfermedades perinatales (66).



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

El ozono puede ser una terapia efectiva y una alternativa para la mejoría en la fertilidad de las vacas que presentan enfermedades perinatales, interrumpe la membrana celular de los microorganismos y se difunde a través de la capa de proteína de la ácido nucleico de los virus, se aplica en las vacas que sufren de metritis y endometritis (67).

Los microorganismos susceptibles al Ozono son: aeróbicos y anaeróbicos como: Campylobacter, Clostridium, E.Coli, Klebsiella, Mycobacterium, Pseudomonas, Salmonellas, Staphylococcus y Streptococcus. Algunos virus susceptibles son: Herpesviris y micosis producidas por Aspergillus y Cándida (59).

Una vez revisado el estado del arte sobre el uso de la ozonoterapia, es factible incluir esta técnica en la aplicación postparto cuando el objetivo es un avance significativo del periodo de involución uterina y reinicio de la actividad ovárica. Si a la ozonoterapia se le acompaña de otros productos como el gel de Aloe se infiere una mejoría en los parámetros reproductivos del ganado bovino (68).



### 3. Materiales y Métodos.

#### 3.1. Materiales:

Tabla 1. Materiales

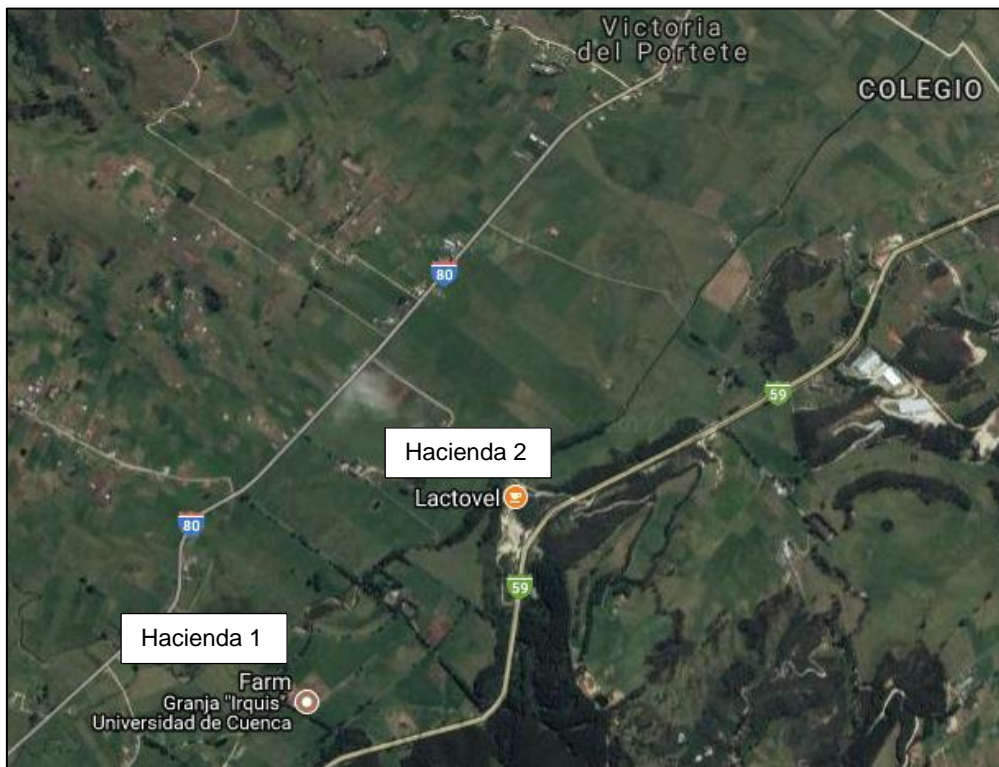
Materiales		
Físicos	Químicos	Biológicos
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Computadora</li> <li>• Botas</li> <li>• Overol</li> <li>• Mandil</li> <li>• Cámara fotográfica</li> <li>• Equipo ozonificador</li> <li>• Tanque de oxígeno.</li> <li>• Guantes Nitrilo</li> <li>• Guantes de chequeo ginecológico</li> <li>• Sogas</li> <li>• Baldes</li> <li>• Toallas desechables</li> <li>• Sustancias Jabonosas</li> <li>• Pistola de inseminación artificial</li> <li>• Cito cepillos para citologías endometriales</li> <li>• Pipetas</li> <li>• Microscopio</li> <li>• Porta objetos</li> <li>• Gradilla para tinción.</li> <li>• Ecógrafo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Oxigeno medicinal</li> <li>• Gel (carboximetilcelulosa)</li> <li>• Alcohol 70%</li> <li>• Solución bidestilada estéril</li> <li>• Tinción Wright.</li> <li>• Solución tampón pH 7,2.</li> <li>• Aceite de inmersión</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 80 vacas Holstein Friesian mestizas</li> </ul>

### 3.2 Métodos.

#### 3.2.1 Ubicación del proyecto:

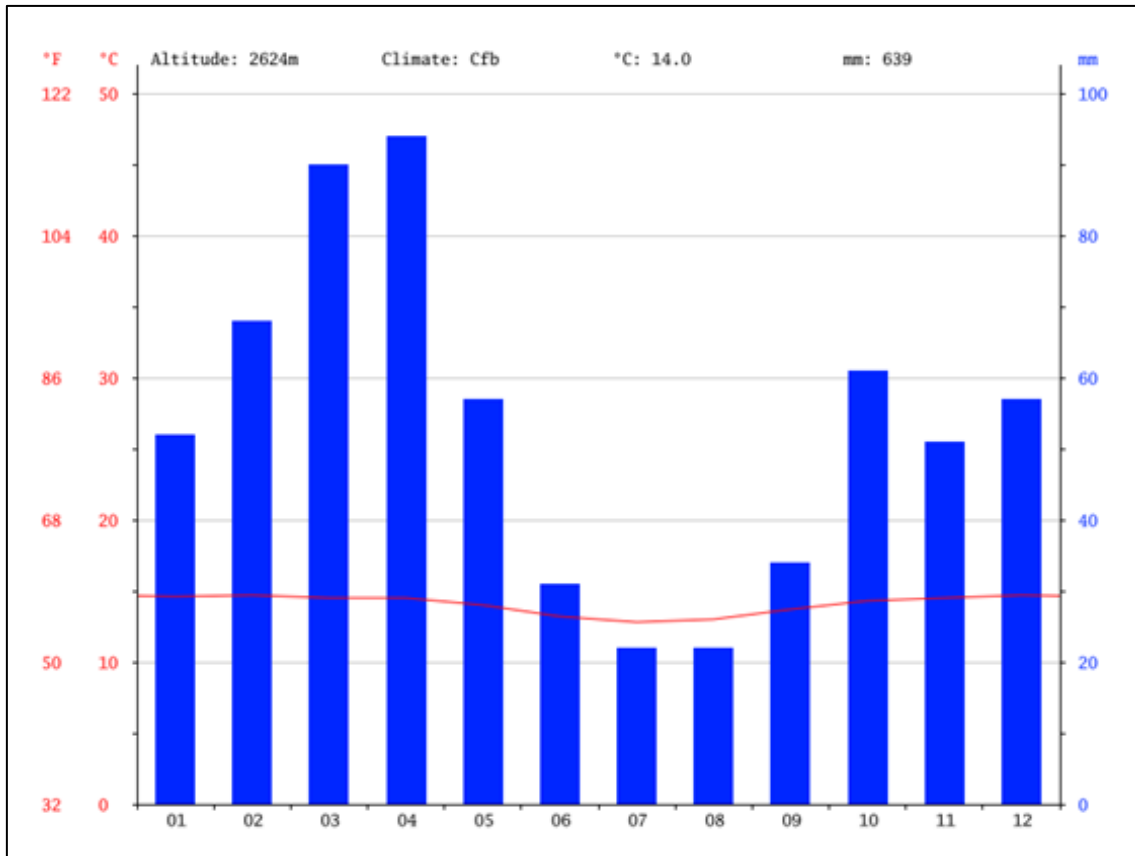
Esta investigación se realizó en 4 haciendas de la provincia del Azuay, Cantón Cuenca, parroquias Tarqui y Victoria de Portete con iguales condiciones agroclimáticas. Las haciendas corresponden a unidades productivas lecheras con similares condiciones de manejo y alimentación:

Haciendas de la parroquia Victoria del Portete: Granja IRQUIS (Universidad de Cuenca, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, LOS ALAMOS (Corporación lechera LACTOVEL)) se encuentran ubicadas entre el km 23 de la vía Cuenca– Girón, en la parroquia Victoria del Portete (Figura 1.); a una altitud promedio de 2624 msnm, con un clima templado frío, temperatura promedio de 14°C y una precipitación anual de 639 mm (Figura 2).



**Figura 1. Ubicación de las haciendas del sector Victoria del Portete.**

Elaboración: Los autores  
Fuente: (69).

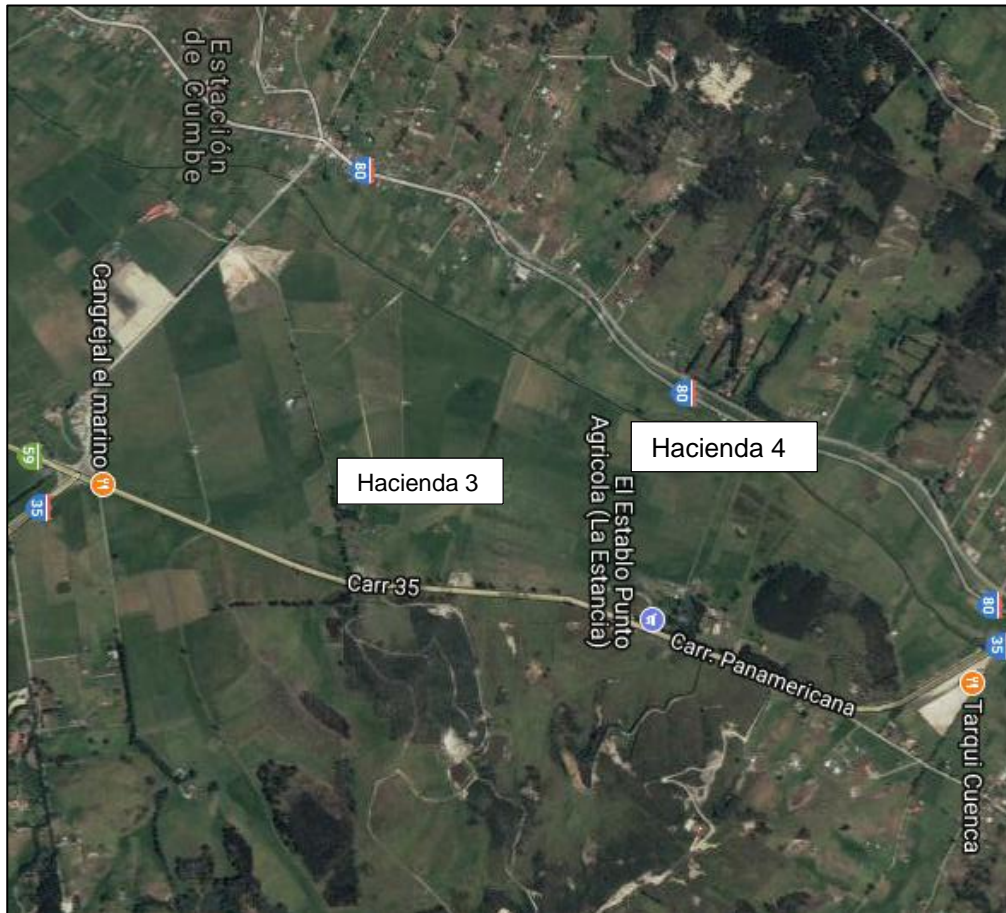


**Figura 2. Condiciones agroclimáticas en Victoria del Portete.**

Elaboración: Los autores  
 Fuente: (70).

Haciendas de la parroquia Tarqui: La Estancia (Propietario Sr. William Granda) y Santa Lucrecia (La Europea); predios que se encuentran ubicadas entre el km 13 de la vía Cuenca– Girón, a la altura de la parroquia Tarqui (Figura 3), a una altitud promedio 2618 msnm, el clima es templado frío con una temperatura promedio de 14°C y con una precipitación anual de 677 mm (figura 4).

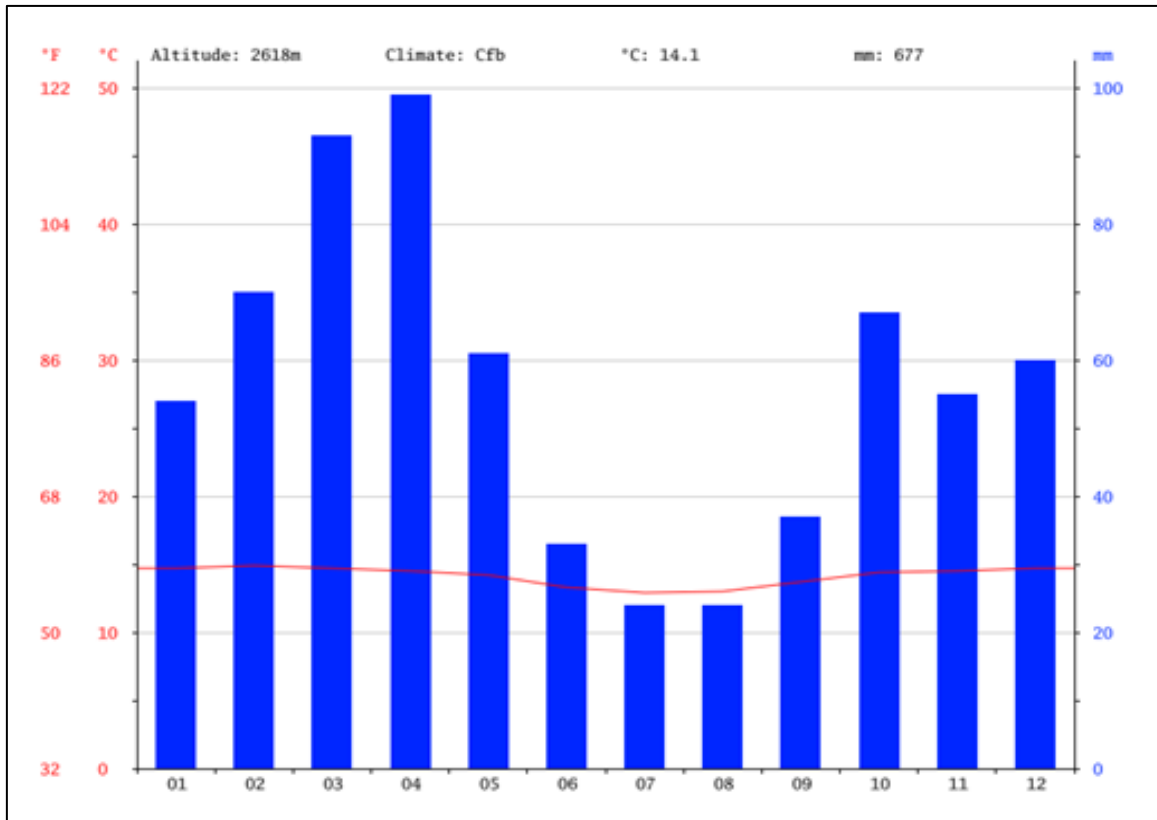




**Figura 3. Grafico N°3. Ubicación de las haciendas del sector Tarqui**

Elaboración: Los autores

Fuente: (69).



**Figura 4. Condiciones agroclimáticas en Tarqui.**

Elaboración: Los autores

Fuente: (70).

### 3.2.2 Unidades experimentales:

Esta investigación incluyó un total de 80 vacas Holstein Friesian mestizas múltiples, con una condición corporal entre 2,5 a 3 según la clasificación (1-5) de NIRD (National Institute of Research in Dairying) (71), que se encuentran en las mismas condiciones de alimentación y manejo; fueron clasificadas aleatoriamente en 2 grupos experimentales. Al primer grupo (n=40) se le administró por vía intrauterina 50 ml de solución bidestilada estéril ozonificada (GOz) en una dosis de 50 µg/ml. El segundo grupo (n=40) no recibió tratamiento alguno y fue destinado a actuar como grupo control (GC).

Para evaluar la salud uterina en cada grupo se practicó dos citologías endometriales por vaca (unidad experimental) de acuerdo a la técnica de Madoz (2012) (72), entre los 35 a 42 días post parto, se realizó conteo de células PMN (%), y se evaluó el efecto del tratamiento de acción local con ozono.





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

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 bajo pastoreo descritas por Madoz et al. (2012) y de la Sota (2014) considerando a los animales positivos a ES cuando:

-Entre los 34 a 47 días, exista mayor o igual a 6% de PMNs.

Además, en ambos grupos se evaluó el número de servicios por concepción y los días abiertos (DAB - días). Fueron excluidas de la investigación las vacas que presentaron enfermedades metabólicas (fiebre de leche, cetosis), retención de membranas fetales, que no expulsen la placenta posterior a las 48 horas del parto, partos distócicos, enfermedades infecciosas o clínicamente enfermas que hayan recibido un tratamiento antibiótico sistémico.

Conforme los grupos asignados de manera aleatoria GOz y GC se aplicó la siguiente metodología:

### **3.2.3 Muestreo citológico por Cytobrush:**

Para la obtención de las muestras se practicó una citología endometrial (Cytobrush) técnica descrita por Madoz (2012) (72), utilizada para vacas al pastoreo. Con la vaca inmovilizada se procedió a la limpieza de la región perianal y la vulva con solución yodada (4%) y toallas de papel absorbente. Posteriormente, se introdujo por la vulva una pistola de inseminación artificial adaptada para colocar el citocepillo, cubierto con una vaina de inseminación y protegido con una camisa higiénica, guiado manualmente por palpación rectal a través de la vagina hasta llegar a la entrada del cérvix. Una vez ubicado en la entrada al cérvix se rompe la camisa higiénica y la pistola pasa el cuello del útero con maniobras rectales; cuando el cuerpo del útero donde se expone el citocepillo ha sido alcanzado, se realiza un giro en el sentido de las manecillas de reloj sobre el mucosa uterina (endometrio), luego se reincorpora el citocepillo dentro de la pistola de inseminación y se extrae la pistola de inseminación del útero; finalmente, se corta la punta de la vaina de inseminación para exponer el citocepillo (73) (74).



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

A continuación se procedió a realizar un frotis rotando el citocepillo impregnado de mucosa endometrial sobre un porta objetos, se esperó un minuto y se procedió al secado y almacenado, Las muestras fueron transportadas al laboratorio de Biotecnología de la Escuela de Medicina Veterinaria, de la Universidad de Cuenca (Granja Iruquis) en un tiempo máximo de 48 horas para la evaluación en el laboratorio. Se preparó dos placas de citología endometrial por cada vaca (4)

### **3.2.4 Aplicación de Ozonoterapia (O3):**

Posterior a la citología endometrial (Cytobrush) se aplicó un tratamiento alternativo de acción local inmediata intrauterina a base de 50 ml de solución de agua bidestilada estéril ozonificada (SBO) en una dosis única de 50 µg/ml vía intrauterina. Preparación que se realizó valiéndose de un ozonificador calibrado para lograr la dosis mencionada, se introdujo un catéter de inseminación junto a la pistola de inseminación artificial vía vulva pasando vagina y entrada cervical hasta llegar al cuerpo del útero. Ahí se retira la pistola de inseminación, dejando la vaina de inseminación fijada en útero por esta vía se administró 50 ml de agua bidestilada ozonificada. Luego de aplicada la dosis, se retiró la vaina y se esperó 72 horas para evaluar el efecto del ozono.

### **3.2.5 Segunda evaluación endometrial de PMN:**

A las 72 horas del tratamiento se practicó una segunda citología endometrial (cytobrush) para los dos grupos GOz y GC, y se evaluó el conteo de células PMN (GC), de ahí la determinación del efecto del ozono (O3) por conteo de PMN (GOZ), se utilizó la técnica de Madoz descrita anteriormente (72).

### **3.2.6 Lectura de muestras citológicas en laboratorio:**

Las placas porta objetos fueron sometidas a un proceso de tinción para valorar Polimorfonucleares, los pasos son los siguientes (75):

1. Colocar las placas sobre el puente de tinción y añadir el colorante de Wright con ayuda de una pipeta pasteur;
2. Dejar actuar un minuto, escurrir y enjuagar con solución tampón (Ph 7.2);
3. Colocar las placas en posición vertical hasta que escurra y se sequen;
4. En un tubo de ensayo preparar 0,5ml de Wright,



con 0,5ml de solución tampón, por placa; **5.** Aplicar la mezcla sobre la muestra y dejar actuar por 3-5 minutos; **6.** Escurrir el exceso de colorante y enjuagar con agua destilada; **7.** Lavar de nuevo con solución tampón; **8.** Dejar escurrir y secar otra vez en posición vertical; **9.** Observar en el microscopio.

Para llegar a la evaluación citológica del conteo PMN (%) las placas fueron evaluadas contando cien células existentes en diferentes campos, elegidos al azar, utilizando el aumento de 100x y 40x (Olympus, Mod: CX31RBSFA), y de esas 100 células se contabilizó la cantidad de polimorfo mononucleares (PMN) y se expresó en porcentaje. Se consideraron vacas con endometritis subclínica aquellas que presentaron  $\geq 6\%$  de células PMN en las muestras de citología endometrial obtenidas entre los 35 – 42 dpp (76).

### **3.2.7 Evaluación de indicadores reproductivos intervalo parto primer servicio (IPPS), Numero de servicios por concepción (NSPC), Tasa de concepción al primer servicio (TCPS) y Días Abiertos (DAB)**

Se evaluaron las variables: intervalo parto primer servicio (IPPS), Numero de servicios por concepción (NSPC), Tasa de concepción al primer servicio (TCPS) y Días Abiertos (DAB).

### **3.3 Diseño experimental:**

Se aplicó diseño experimental completamente al azar con dos tratamientos y cuarenta unidades experimentales en cada tratamiento. Para esta investigación se usó el análisis de varianza con el modelo estadístico lineal de efectos fijos. Se evaluó los promedios de los tratamientos con respecto a las variables de salida como son porcentaje de células PMN, días abiertos (DAB), intervalo parto primer servicio (IPPS) y número de servicios por concepción (NSPC). Los resultados obtenidos fueron analizados mediante paquete estadístico SPSS versión 23.0, y en caso de existir significación ( $p < 0,05$ ) se aplicaron las prueba estadística de Bonferroni 5%.

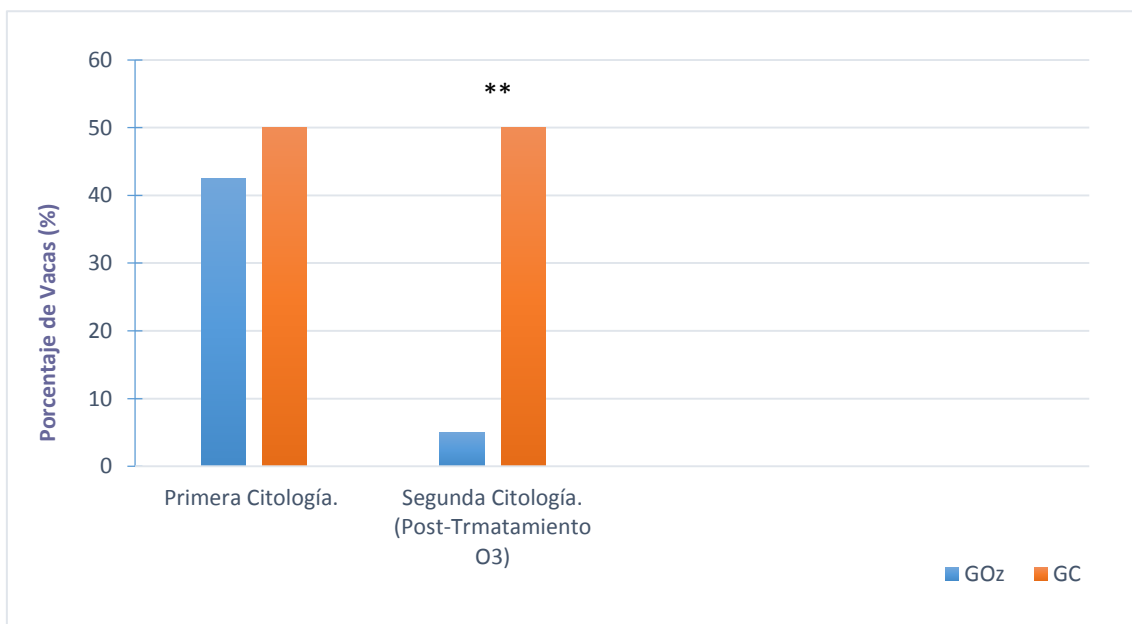
## 4. Resultados

### 4.1. Determinación del porcentaje de ES

Mediante el análisis de las citologías obtenidas por la técnica de Cytobrush entre los 35 a 42 DPP se determinaron los siguientes porcentajes de vacas positivas a ES, en la primera citología: para GOz 42,5%; para GC 50% (Figura 5). No encontrándose diferencia significativa ( $P > 0,05$ )

Al realizar la segunda citología, 72 horas post tratamiento, se observó que el GOz presentó un promedio de 5% de vacas positivas a ES (Figura 5), comprobándose la existencia de diferencia significativa ( $P < 0,0001$ ) en comparación con GC cuyo porcentaje fue 50% de vacas positivas a ES.

**Figura 5. Determinación del porcentaje de ES**



\*\* Expresan diferencias significativas ( $P < 0,0001$ ).

### 4.2. Distribución entre el número de partos y la presencia de ES

Al analizar el número de partos en relación a la presencia de ES, se observó que no existe relación entre estas variables, los resultados respectivamente 46,4 % para vacas de Segunda lactancia; 43,5 % tercera lactancia y 41,4%



para vacas de 4ta o más lactancias (Tabla 2). Se comprueba que no existe diferencia significativa.

**Tabla 2. Distribución entre el número de partos y la presencia de ES**

Lactancias	Vacaciones con Salud Uterina		Vacaciones con ES		TOTAL	
	#	%	#	%	#	%
Segunda	15	53,6 <sup>a</sup>	13	46,4 <sup>a</sup>	28	100
Tercera	13	56,5 <sup>a</sup>	10	43,5 <sup>a</sup>	23	100
Cuarta y más	17	58,6 <sup>a</sup>	12	41,4 <sup>a</sup>	29	100

Letras diferentes en la misma columna presentan diferencias significativas

#### **4.3. Efecto de la ozonoterapia sobre la tasa de ES determinada mediante el conteo de PMNs entre los días 35 y 42 DPP.**

El análisis e interpretación de las citologías endometriales realizadas entre los 35 y 42 DPP permitió determinar que el porcentaje de PMNs en la primera citología fue  $6,9\% \pm 1,27$  y  $7,3\% \pm 1,18$  para el GOz y GC respectivamente, valores entre los cuales no se encontró diferencia estadística ( $P > 0,05$ ). Mientras que en la segunda citología realizada a las 72 horas, post tratamiento con solución ozonificada a una concentración de  $50\mu\text{g/ml}$ , el grupo GOz presentó un porcentaje de PMNs de  $3,7\% \pm 1,43$  mientras que el GC  $7,6\% \pm 1,14$  diferencias que resultaron altamente significativas ( $P < 0,01$ ; Tabla 3).

**Tabla 3. Efecto de la ozonoterapia sobre salud uterina (%PMNs)**

TRATAMIENTO	% PMNs – Salud Uterina	
	1ra Citología	2da Citología
GOZ	$6,9 \pm 1,27^a$	$3,7 \pm 1,43^a$
GC	$7,3 \pm 1,18^a$	$7,6 \pm 1,14^b$

Letras diferentes en la misma columna presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ )



#### 4.4. Efecto de la ozonoterapia sobre parámetros reproductivos

Al analizar el efecto de la ozonoterapia sobre el intervalo parto-primer servicio (IPPS), en el GOz fue de  $75,1 \pm 4,65$  días y para GC fue de  $66,1 \pm 4,31$  días, no se observó diferencia significativa entre ambos grupos ( $P > 0,05$ ; Tabla 4). El resultado para número de servicios por concepción (NSPC) fue de  $2,1 \pm 0,25$  para el GOz y de  $3,1 \pm 0,23$  para GC mostrando diferencia estadística ( $P < 0,01$ ; Tabla 4). El resultado para los Días Abiertos (DAB) fue de  $126,2 \pm 9,72$  días para GOz y de  $148,9 \pm 9,01$  días para GC. Lo que indica una diferencia de 22,5 días entre tratamientos, la cual estadísticamente no fue significativa (Tabla 4).

**Tabla 4. Efecto de la ozonoterapia sobre parámetros reproductivos**

Tratamiento	Parámetros Reproductivos		
	IPPS (días)	NSPC (#)	DAB (días)
GOZ	$75,12 \pm 4,65^a$	$2,1 \pm 0,25^a$	$126,24 \pm 9,72^a$
GC	$66,11 \pm 4,31^a$	$3,1 \pm 0,23^b$	$148,95 \pm 9,01^a$

Letras diferentes en la misma columna presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

#### 4.5 Efecto de la ozonoterapia sobre la Tasa de concepción al primer servicio.

La tasa de concepción al primer servicio fue de 50,00% para GOz en comparación con el GC que presentó 16,22%, se demuestra una diferencia significativa ( $P < 0,01$ ; Tabla 5) a favor del GOz.

**Tabla 5. Efecto de la ozonoterapia sobre TCPS**

Tratamiento	TCPS (%)
GOz	50,00 <sup>a</sup>
GC	16,22 <sup>b</sup>

Letras diferentes en la misma columna presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ )



## 5. DISCUSION

### 5.1. Determinación del porcentaje de endometritis subclínica del estudio realizado

En nuestro estudio, el porcentaje de vacas al pastoreo positivas a ES fue de 42,5% y 50% para GOz y GC respectivamente entre los días 35 a 42 postparto, estos resultados coinciden a los reportados por Reátegui et al. (73) quienes realizaron un estudio comparativo entre vacas Holstein y jersey para diagnosticar ES presentando las vacas Holstein un 59,57% de un total de 47 vacas analizadas. De estas, un 64% de vacas se encontraban en los 34 a 36 dpp. Por otra parte, Madoz (72) investigo la prevalencia de ES en 385 vacas al pastoreo, observando a los 34 a 47 días postparto una prevalencia del 16%. Del mismo modo, Barrio et al. (77) efectuó una investigación en 65 vacas Holstein entre los 30 a 45 dpp obteniendo como resultado un 14,9% de vacas positivas a ES.

Se encontró que no existe relación entre el número de partos y la presencia de ES. Según nuestros resultados, un 46,4%; 43,5%; 41,4% para vacas de 2da lactancia; 3ra lactancia y 4ta o más lactancias respectivamente. Siendo estos resultados similares a los obtenidos por Rinaudo (6) con los que demostró que la presencia de endometritis subclínica es independiente al número de partos incluyendo como referencia los siguientes porcentajes: 24,2%; 17,9%; 18,2%; 15,6% para vacas de 1ra lactancia; 2da lactancia; 3ra lactancia; 4ta o más lactancias respectivamente.

### 5.2. Efecto de la ozonoterapia sobre la ES mediante la determinación de PMNs entre los días 35-42 DPP.

La aplicación de la solución bidestilada estéril ozonificada demostró ser eficaz en el tratamiento de ES reduciendo de un 42,5% a un 5% la presencia de ES (concentración). De igual manera se observó una reducción en el porcentaje de PMNs de  $6,9\% \pm 1,27\%$  a  $3,7\% \pm 1,43\%$ . Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Enríquez y Maldonado (78) quienes evaluaron el efecto de la ozonoterapia en 30 vacas diagnosticadas con ES entre los 34 a 47 DPP, cuyo



porcentaje de PMNS fue de  $15,1\% \pm 0,09\%$  antes del tratamiento y  $3,2 \pm 0,05\%$  post tratamiento.

En otro estudio realizado por Alvear (20), en el que se aplicó ozonoterapia a una dosis de  $32 \mu\text{g/ml}$  en 40 vacas entre los 21 a 30 dpp diagnosticadas con endometritis: solución salina ozonificada a 20 vacas y gas ozono a 20 vacas, se obtuvo como resultado que a los 21 días pos tratamiento un 75% y 80% respondieron positivamente al tratamiento con solución salina ozonificada y gas ozono respectivamente.

Zobel y Tkalcic (79), en un estudio compararon 5 tratamientos diferentes, en el cual se evaluó el efecto del ozono sobre endometritis clínica, producidas por retención placentaria. Los cuales se aplicaron durante 10 días consecutivos después del parto(30 a 40 dpp), excepto para el grupo E: grupo A (n40) que recibió 30 ml de gas ozono intrauterino más 400 mg de cefalexina IM; grupo B (N40) recibió 30 ml de gas ozono; grupo C (40n) recibió 400 mg de cefalexina IM mas bolos intrauterinos de neomicina más oxitetraciclina; grupo D (n40) recibió 4500 mg de cefalexina vía parenteral; grupo E (N40) aplicación de cloprostenol vía parenteral en 1,11,21 y 32 días postparto. Los resultados de EC encontrados luego de los tratamientos fueron para grupo A 10%; grupo B 15%; grupo C 30%; grupo D 40% y grupo E 55%, teniendo en cuenta que únicamente el grupo B (ozonoterapia) presento efectividad y recibiendo solamente una sola aplicación intrauterina.

### **5.3. Efecto de la ozonoterapia sobre indicadores reproductivos**

El IPPS en nuestro estudio fue de  $75,1 \pm 4,65$  y  $66,1 \pm 4,31$  para el GOz y GC respectivamente. Para la variable NSPC los valores fueron de  $2,1 \pm 0,1$  y  $3,1 \pm 0,23$  para el GOz y GC respectivamente. Finalmente, para los DAB los valores encontrados fueron  $126,2 \pm 9,72$  para GOz y  $148,9 \pm 9,01$  para GC. En un estudio realizado por Djuricic et al. (8) se comparó 2 tratamientos a base de ozono obteniendo los siguientes resultados: En IPPS 110,5 y 105 para el grupo A y grupo B respectivamente; en DAB 145; 136 Y 150 para grupo A, B Y C correspondientemente; para TCPS 20,4%; 27,8% y 14,6% para cada grupo. Demostrando un efecto positivo del uso del ozono tanto en el grupo A y B con respecto al grupo C.





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

Perla (23) en su estudio aplicó 1000 ml de ozono a una concentración de 32  $\mu\text{g/ml}$  a un número de 19 vacas en las 4 a 6 horas postparto, realizó una segunda aplicación a las 48 horas obteniendo resultados similares a nuestro estudio en cuanto a las siguientes variables reproductivas: IPPS 76 días; NSPC  $1,8 \pm 1,17$  Y  $83 \pm 35$  para DAB. Por su parte, Araujo et al. (7) realizaron un estudio comparativo entre diferente dosis de ozono en 48 vacas Holstein entre los 30 a 40 dpp; las vacas fueron distribuidas en 4 grupos de 12 animales, se administró 3 dosis de ozono disuelto en solución fisiológica (30, 40 y 50  $\mu\text{g/ml}$ ). El tratamiento se repitió 3 veces; cada 24 horas vía intrauterina y un grupo control que no recibió tratamiento. No hubo diferencia significativa entre tratamientos. Sin embargo, los animales que recibieron 40  $\mu\text{g/ml}$  de ozono tuvieron una tasa de preñez de 83,3% versus un 41,7% del grupo control.

Constantin y Birtoui (80) probó un tratamiento con ozono en spray (RINGER SPRAY) en 12 vacas y lo comparó con 12 vacas sin tratamiento. El estudio se realizó en vacas entre los 7 y 10 dpp, el grupo A incluía vacas diagnosticadas con endometritis clínica; se les aplicó un tratamiento de ozono vía intrauterina de 10 s, el cual se lo repitió en 3 ocasiones y el grupo B incluía a vacas clínicamente sanas. Los resultados que se obtuvieron fueron: para DAB el grupo A fue de 112,3 versus 108,9 para grupo B; TCPS fue de un 50% para el grupo A siendo de 0% para el grupo B; y el NSPC del grupo A fue de 1,75 y 3,25 para el grupo B. Mostrando similitud con los resultados que se obtuvieron en nuestro estudio.

En nuestro estudio no existe diferencia significativa en los DAB entre los 2 grupos estudiados, pero en términos económicos se infiere que existe una diferencia numérica, Enríquez y Maldonado (78) analizaron el costo por día abierto tomando como tiempo óptimo 90 días para preñar una vaca; se estimó un costo de 5,79\$ por vaca cada día; de esta manera, podemos apreciar que existe un ahorro de 131,49\$ en el GOz debido a la menor cantidad de DAB.



## 6. Conclusiones:

Con base a los resultados obtenidos en nuestro estudio se concluye lo siguiente:

- La ES se presenta en un alto porcentaje en las unidades de análisis entre los días 35 a 42 postparto y no está relacionada con el número de partos.
- La ES afecta de forma negativa la eficiencia reproductiva en vacas al pastoreo debido a que aumenta el NSPC y TCPS por ende produce un impacto negativo en la economía del hato.
- El uso de la ozonoterapia a una dosis de 50 ug/ml en 50 ml de agua bidestilada aplicada a los días 35 a 42 post parto presenta resultados positivos mejorando la salud uterina por la disminución de porcentaje de PMNs en vacas diagnosticadas con ES cuyo efecto es evidente a las 72 horas post tratamiento.
- Con el uso de la ozonoterapia se reduce el número de servicios por concepción y aumenta la tasa de concepción al primer servicio. Los días abiertos se reducen con el uso de ozonoterapia; esta reducción no es estadísticamente significativa pero su impacto económico es notorio.
- El tratamiento con ozonoterapia resulta ser eficaz y de sencilla aplicación en los hatos lecheros, también evita pérdidas económicas al no generar residuos en la leche



## 7. Recomendaciones:

Con base a los resultados obtenidos en nuestro estudio se recomienda lo siguiente:

- La ozonoterapia intrauterina es recomendada para mejorar la SU en vacas lecheras al pastoreo en etapa postparto temprano, sin embargo es necesario seguir evaluando su uso y la adopción de esta tecnología en otros escenarios y bajo otras condiciones de manejo para posteriores toma de decisiones.
- Continuar e Incentivar el estudio del uso de la ozonoterapia como tratamiento para las enfermedades reproductivas en vacas durante la etapa de postparto, recomendando realizar estudios con diferentes alternativas de aplicación intrauterina a base de ozono como: gas ozono y bolos de liberación continua o lenta de ozono.



## 8. Bibliografía

1. Instituto Nacional de Estadística y Censos. [Online].; 2016 [cited 2017 Diciembre 1. Available from:  
<http://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/>.
2. Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. La política agropecuaria ecuatoriana: hacia el desarrollo territorial rural sostenible. [Online].; 2016 [cited 2017 Diciembre 1. Available from:  
<http://www.agricultura.gob.ec/la-politica-agropecuaria-ecuadoriana-hacia-el-desarrollo-territorial-rural-sostenible-2015-2025/>.
3. Chebel R. The Dairy Cattle Reproduction Council. [Online].; 2009 [cited 2017 Agosto 23. Available from:  
<http://www.dcrcouncil.org/media/Public/Chebel%20DCRCH%202009.pdf>.
4. Kasimanickam R, Duffield T, Foster R, Gartley C, Leslie K, alton J, et al. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. ELSEVIER. 2004 Mayo; 62: p. 9-23.
5. Rinaudo A, Bernardi S, Marini P. Prevalencia de endometritis clínica y subclínica en vacas lecheras en posparto en sistema intensivo estabulado. FAVE. 2011 Diciembre; 10(2): p. 60-66.
6. RINAUDO A. Facultad de Ciencias Veterinarias UNR. [Online].; 2012 [cited 2017 MARZO 14. Available from:  
[http://www.fveter.unr.edu.ar/upload/ENDOMETRITIS\\_SUBCL%CDNICA\\_E\\_N\\_VACAS\\_LECHERAS\\_DIAGN%D3STICO\\_TRATAMIENTO\\_E\\_INCIDEN CIA\\_PRODUCTIVA\\_Y\\_REPRODUCTIVA.pdf](http://www.fveter.unr.edu.ar/upload/ENDOMETRITIS_SUBCL%CDNICA_E_N_VACAS_LECHERAS_DIAGN%D3STICO_TRATAMIENTO_E_INCIDEN CIA_PRODUCTIVA_Y_REPRODUCTIVA.pdf).
7. Araujo J, Argudo J, Narvárez J, Galarza D. Universidad de Cuenca. [Online].; 2015 [cited 2017 Septiembre 24. Available from:  
<https://www.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/maskana/article/view/662>.
8. Djuricic D, Vince S, Ablondi M, Dobranic T, Samardzija M. Effect of Preventive Intrauterine Ozone Application on Reproductive Efficiency in Holstein Cows. Reproduction in domestical animals. 2011 Mayo; 47: p. 87-91.



9. Santur A,&TF. Determinar porcentajes de células epiteliales vaginales en las diferentes fases de ciclos estrales durante 84 días en hembras bovinas de la Universidad Técnica de Babahoyo (Bachelor's thesis, Babahoyo: UTB, 2016). ; 2016.
10. Bartolomé. Sitio Argentino de Producción Animal. [Online].; 2009 [cited 2018 Mayo 12. Available from: [http://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/cria\\_parto/05-parto\\_fisio](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/cria_parto/05-parto_fisio).
11. Almanza BEA. Cesárea en bovinos: toma de decisiones. ; 2012.
12. Patiño U,&BJ. Determinación de la eficacia de extracto de propoleo (flavonoides) aplicado intrauterinamente en el puerperio en vacas de tercer parto de la hacienda Pasochoa, cantón Mejía (Bachelor's thesis, LATACUNGA/UTC/2015). ; 2015.
13. Mur MG. Comportamiento fenotípico de la dificultad al parto en bovinos de carne. ; 2016.
14. Castillo V,&LB. Efecto del tipo de parto sobre algunos indicadores reproductivos y frecuencia de infecciones uterinas en vacas Holstein en un establo lechero de la Comarca Lagunera. ; 2017.
15. Urrutia J. Complicaciones del parto y postparto en la hembra bovina. ; 2017.
16. Cermeño H,CO,GN,BP,&S. Aislamiento bacteriológico postparto en vacas mestizas con puerperio normal y patológico. ; 1997.
17. Basurto Rios LC. Efecto de la suplementacion de selenio y vitamina e sobre las patologías del puerperio en vacas primíperas. ; 2015.
18. Barona SFA. Efecto de la aplicación de los flavonoides sobre la involución uterina en el puerperio bovino, en la hacienda Sociedad Agropecuaria Callo Mulaló (Bachelor's thesis, Quito: Universidad de las Américas, 2017). UDLA; 2017.
19. Arciniegas ADQ,OM,&SA. Efecto de la grasa de sobrepeso sobre la ganancia de peso, intensidad y duración del celo en vacas sincronizadas con un protocolo Crestar, Venezuela. Avances de investigación en medicina veterinaria y producción animal. 2016; 10(1).
20. Alvear León OL. El empleo de la ozonoterapia como alternativa de tratamiento en vacas con endometritis durante el puerperio (Bachelor's thesis). Cuenca, Ecuador: Universidad de Cuenca; 2014.
21. Duran Mantilla CS. Tratamiento sistémico y local en vacas positivas a endometritis subclínica. Perú: UNAP; 2017.



22. Rutter B. Diagnóstico de endometritis subclínica en vacas lecheras. Cuenca, Ecuador: Universidad de Cuenca; 2015.
23. Perla B. Efecto profiláctico del Ozono aplicado vía intrauterina en la etapa posparto comparado con Lidocaína y PGF2 $\alpha$  sobre el comportamiento reproductivo del ganado lechero. ; 2005.
24. Olmos Galicia JC. Infecciones asociadas a infertilidad en bovinos. México;; 2015.
25. Duhalde D,&CJ. Uso de una solución acuosa de policresuleno (7%) para el tratamiento de metritis en un rodeo de tambo de la Cuenca Mar y Sierras. ; 2016.
26. Cortes Cruz E. Efecto de la producción láctea sobre la frecuencia de partos gemelares y problemas pueperales más frecuentes relacionados, en un hato lechero del norte de México. México: UAAAN; 2014.
27. Zambrano W, Muñoz A. Biblioteca Alberto Quijano Guerrero. [Online].; 2013 [cited 2018 Agosto 12. Available from: <http://biblioteca.udenar.edu.co:8085/atenea/biblioteca/89690.pdf>.
28. Bogado Pascottini O,&OG. Diagnosis and treatment of postpartum uterine diseases in dairy cows: a review with emphasis on subclinical endometritis. Compendio de Ciencias Veterinarias. 2017; 7(1): p. 29-40.
29. Tinoco MJC. Actividad ovárica y porcentaje de gestación en vacas de doble propósito en praderas de pasto Cynodon nlemfuensis y Leucaena leucocephala, con y sin suplementación energética en el trópico. Tesis Maestría en Ciencias en Producción Animal Tropical. Campus Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad Autónoma de Yucatán.; 2010.
30. Grajales H, Hernández A, Prieto E. Determinación de parámetros reproductivos basado en los niveles de progesterona en novillas doble propósito en el trópico colombiano. Livestock Research for Rural Development. 2006; 18(14).
31. Salas RG, Herrera CJ, Gutiérrez VE, Ku VJC, Aké LJR. Reinicio de la actividad ovarica posparto y concentracion plasmática de metabolitos lípidos y progesterona en vacas suplementadas con grasa de sobrepaso. Tropical and subtropical agroecosystems. 2011; 14: p. 385-392.
32. De Anda Hinojosa J. La retención placentaria y su impacto en la reproducción. México: UAAAN; 2016.
33. Masaquiza Aragón JJ. Diagnóstico de endometritis subclínica en vacas mestizas vacías, de 45 días post inseminación artificial, mediante cytobrush en el centro de investigación, postgrado y conservación amazónica (cipca)



cantón Carlos Julio Arosemena Tola, provincia de Napo. Ecuador.; 2015.

34. Brito.. Control de la Reproducción e infecciones puerperales. ; 2012.
35. Valencia Hernández AF. Determinación ultrasonográfica de la prevalencia de las alteraciones del tracto reproductivo de hembras bovinas mayores de 3 años en el municipio de Florencia. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria. 2017; 18(6).
36. Ayora Ordoñez MM. Determinación de los microorganismos presentes en el moco cervical de vacas lecheras post parto de las ganaderías de la hoya de Loja (Bachelor's thesis, Loja: Universidad Nacional de Loja). ; 2016.
37. Jeon SJ,CF,MX,MN,VNA,DR.&GKN. Uterine microbiota and immune parameters associated with fever in dairy cows with metritis.. PloS one. 2016; 11(11).
38. Gonzalez L,&DJXO. Identificación de patógenos en descargas uterinas postparto en vacas lecheras Holstein. México: UAAAN; 2016.
39. Sangay Sangay T. Prevalencia de patologías del aparato reproductor de vacas sacrificadas en el camal municipal de Cajamarca. Perú: UNC; 2014.
40. Padilla Rodríguez R. Perfiles metabólicos en bovinos especializados en producción de leche de la raza Holstein, en la zona del Volcán Poás: determinación en valores. Costa Rica: UNA ; 2016.
41. Opsomer G. Metrite e endometriose em vacas de leite de alto rendimento. Revista Brasileira de Reprodução Animal. 2015; 39(1): p. 164-172.
42. Sheldon IM DH. Postpartum uterine health in cattle. Anim Reprod Sci. 2004; 64: p. 295-306.
43. Sheldon IM,&OSE. Postpartum uterine infection and endometritis in dairy cattle. Animal Reproduction. 2017; 14(3): p. 622-629.
44. Del Campo M,GM,AH,&CFA. Efecto del Glycoline® sobre la eficiencia reproductiva en vacas lecheras de alta producción.. Revista MVZ Córdoba. 2016; 21(1).
45. Madoz LV,JM,DAG,MAL,AD,GMJ,&SRLDL. Endometritis subclínica en vacas de tambo. ; 2015.
46. Madoz LV,JM,MAL,&SRLDL. Madoz, L. V., Jaureguiberry, M., Migliorisi, A. L., & Sota, R. L. D. L. (2016). Cambios en la citología endometrial durante el ciclo estral en vacas de tambo. Ciencias Morfológicas, 18. 2016.
47. Ramón NG,HOM,MDS,CSL,EAES&CAM. Metritis y laminitis crónica en una novilla frisona. REDUCA. ; 3(3).





48. Colazo MG,&MR. Fisiología del ciclo estral bovino.. Ciencia Veterinaria. 2017; 16(2).
49. De La Sota RL,MLV,PJ,DM,DG,AD. Endometritis sub clínica en vacas de tambo: diagnóstico, prevalencia e impacto sobre la eficiencia reproductiva. Actas VII Jornadas Taurus. 2014.
50. Plöntzke J, Madoz LB, De la Sota RL, Drillich M, Heuwiesera W. Subclinical endometritis and its impact on reproductive performance in grazing dairy cattle in Argentina. Animal Reproduction Science. 2010; 122(1-2): p. 52-70.
51. Rinaudo A, Bernardi S, Marini P. Prevalencia de endometritis clínica y subclínica en vacas lechera en postparto en un sistema intensivo estabulado. Engormix. 2016.
52. Casasús Pueyo I,FAJ,RSJA,VMD,&SPA. Efecto de la raza y de la subnutrición durante el primer tercio de gestación sobre los parámetros productivos y reproductivos de las vacas nodrizas. ; 2017.
53. Perla O. Zamorano. [Online].; 2005 [cited 2017 Septiembre 23. Available from: <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/5248>.
54. Suarez Avila IM. Evaluación de Dos Tratamientos Alternativos para la Mastitis Subclínica en Vacas Utilizando Ozono (Bachelor's thesis). ; 2013.
55. Salazar Díaz N. Bondades del ozono como terapia complementaria en la medicina veterinaria (Bachelor's thesis). ; 2017.
56. Alvarez G,&AE. La ozonoterapia intrauterina en el tratamineto de la endometritis subclínica bovina (Master's thesis). ; 2013.
57. Gutierrez Peralta F. La Ozonoterapia como modelo terapéutico en Medicina Veterinaria. ; 2013.
58. Fernando MJ. Influencia de la ozonoterapia en el balance oxidativo de équidos. ; 2015.
59. Colín GAN. Manual del uso de la ozonoterapia en perros. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO, FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA; 2016.
60. Martínez Estévez PE. Evaluación de dos dosis de ozono en el tratamiento de mastitis bovina (Bachelor's thesis, Quito: UCE). Quito, Ecuador: UCE; 2015.
61. Samardžija M,TR,SP,VH,HI,GD,&ĐD. Intrauterine ozone treatment of puerperal disorders in domestic ruminants: a review. Veterinarski arhiv. ; 87(3): p. 363-375.





62. Araujo J,AJ,NJ,&GD. Efecto de la ozonoterapia sobre el intervalo parto-celo y la fertilidad en vacas lecheras. Cuenca, Ecuador): Universidad de Cuenca; 2015.
63. Djuricic D,SVMATDMS. Intrauterine ozone treatment of retained fetal membrane in Simmental cows. Anim. Reprod. Sci. ; 134: p. 119-124.
64. Schwartz A, Martínez SG. Ozone, Therapy and Its Scientific Foundation. Revista Española de Ozonoterapia. 2012; 2(1): p. 163-198.
65. Anónimo. La ozonoterapia gana evidencias científicas en el campo clínico. Revista Cubana de Farmacia. 2013; 47(1): p. 1-4.
66. Arana D,EC,SC. Factores que afectan el intervalo parto-primer servicio y primer servicio-concepción en vacas lecheras del valle del Mantaro durante la época lluviosa. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 2006; 17(2).
67. Deori S, Arundhati P. Bovine Postpartum Metritis and its Therapeutics: A Review. Indian Journal of Science and Technology. 2015 September ; 8(23).
68. Bocanegra RML. Efecto del aloe vera “sábila” y micro minerales sobre el periodo de involución uterina, reinicio de la actividad ovárica post parto y parámetros reproductivos, en vacas holstein, en la región La Libertad. ; 2015.
69. Google Maps. [Online].; 2017 [cited 2017 Diciembre 1. Available from: <https://www.google.com.ec/maps/place/Cuenca/@-3.0780309,-79.0793724,1577m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x91cd18095fc7e881:0xafd08fd090de6ff7!8m2!3d-2.9001285!4d-79.0058965>.
70. CLIMATE-DATE.ORG. [Online].; 2017 [cited 2017 Diciembre 1. Available from: <https://es.climate-data.org/>.
71. Edmonson A, Lean I, Weaver L, Farver T, Webster G. A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. Journal of Dairy Science. 1989; 72.
72. Madoz L. Repositorio institucional de la UNLP. [Online].; 2012 [cited 2017 Septiembre 10. Available from: [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).
73. Reátegui J, Aquis G, Fernández F, Cuadros S, Cáceres A, Bernardi S, et al. CITOLOGIA ENDOMETRIAL COMO INDICADOR DE ENDOMETRITIS SUBCLINICA EN VACAS LECHERAS HOLSTEIN FRIESIAN VERSUS JERSEY. SPERMOVA. 2016; 6(2): p. 137-139.



74. De la Sota R, Madoz L, Jaureguiberry M, Dominguez G, Migliorisi L, Albarracín D, et al. ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA EN VACAS DE TAMBO: DIAGNÓSTICO, PREVALENCIA E IMPACTO SOBRE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA. SPERMOVA. 2014 Febrero; 4(2): p. 105-111.
75. Ortiz Á. Manual de Laboratorio de Hematología y Morfología celular. Primera ed. Guayaquil: D&J; 2006.
76. Rutter B. Diagnostico de endometritis subclínica en vacas lecheras. Maskana. 2015 Diciembre; 8(2): p. 131-142.
77. Barrio M, Vigo M, Quintela L, Becerra J, Garcia P, Martinez D, et al. Influence of subclinical endometritis on the reproductive performance of dairy cows. SPANISH JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH. 2015 Diciembre; 13(4).
78. Enríquez Morocho M, Maldonado Pauta H. Repositorio Institucional Universidad de Cuenca. [Online].; 2017 [cited 2018 Mayo 10. Available from: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/27373>.
79. Zobel R, Tkalcic S. Efficacy of Ozone and Other Treatment Modalities for Retained Placenta in Dairy Cows. Reproduction In Domestic Animals. 2012 Mayo 18;(48): p. 121 - 125.
80. Constantin T, Birtoui IA. Preliminary Study on Ozone Therapy in Postpartum Endometritis of Dairy Cows. Agriculture and Agricultural Science Procedia. 2016 Septiembre; 10.
81. Barragan W, ML&CY. Variables fisiológicas-metabólicas de estrés calórico en vacas bajo silvopastoreo y pradera sin árboles. Agronomía Mesoam. 2015; 26(2): p. 211-223.
82. Verdoljak J, PM, GL, AF, FLC, & MGJ. Reproducción y mortalidad de razas bovinas en clima subtropical de Argentina. Abanico veterinario. 2018; 8(1): p. 28-35.
83. Pereira Zarate JC. Plan de Asignatura y Plan de Unidad de aprendizaje anatomía y fisiología del aparato reproductor femenino. ; 2017.
84. Colín A. Universidad Autonoma Del Estado de Mexico - Repositorio Institucional. [Online].; 2016 [cited 2018 Agosto 5. Available from: <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/49814/TESINA-ANCG-05-16.pdf?sequence=1>.

9. ANEXOS

Anexo 1. Cronograma de actividades

ACTIVIDADES	MESES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Socialización del proyecto con los dueños de las haciendas.	XXXX							
Obtención de listado de proyección de los registros de cada unidad productiva.	XXXX							
Observación y selección de unidades experimentales (vacas).	XXXX	XXXX						
Primera citología y evaluación			XXXX	XXXX	XXXX	XXXX		
Aplicación de SBO			XXXX	XXXX	XXXX	XXXX		
Segunda citología y evaluación			XXXX	XXXX	XXXX	XXXX		
Evaluación de variables IPC y DAB			XXXX	XXXX	XXXX	XXXX		
Recopilación de datos							XXXX	
Análisis estadístico							XXXX	
Revisión y corrección de tesis							XXXX	XX
Exposición de tesis.								XXXX

Anexo 2. Socialización del proyecto con el Doctor Esteban Vélez propietario de la hacienda “LOS ALAMOS”







**Anexo 3. Hoja de campo**

FECHA: 14/03/2019 ID VACA	HACIENDA: Los Alamos	
# 52 <hr/> G. Ozono	FECHA DE PARTO	06/02/2018
	PARTO NORMAL/DISTOCICO	Normal
	NUMERO DE PARTOS	3
	CONDICION CORPORAL	2.5
	SECRECIONES VAGINALES SI/NO	NO

FECHA 1ra CITOLOGIA	RESULTADOS : CONTEO PMNs
14/03/2018	8%
OBSERVACIONES	La vaca no presentaba secreciones o signos de enfermedad se toman 2 muestras antes de la aplicacion de O <sub>3</sub>

FECHA 2da CITOLOGIA	RESULTADOS : CONTEO PMNs
17/03/2018	1%
OBSERVACIONES	Se toman 2 muestras. Se observa un efecto positivo de O <sub>3</sub>

**Anexo 4. Cronograma de actividades semanales**

<b>CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES</b>		
<b>LUNES 9 DE ABRIL DE 2018</b>		
<b>LUGAR</b>	<b>ID VACA</b>	<b>ACTIVIDAD</b>
LA EUROPEA	1477 (G OZONO)	2DA CITOLOGIA
	431 (G OZONO)	2DA CITOLOGIA
	2471 (G CONTROL)	2DA CITOLOGIA
<b>MARTES 10 DE ABRIL DE 2018</b>		
LOS ALAMOS	34 (G OZONO)	1RA CITOLOGIA/OZONOTERAPIA
	28 (G CONTROL)	1RA CITOLOGIA
<b>MIERCOLES 11 DE ABRIL DE 2018</b>		
LECTURA DE CITOLOGIAS ENDOMETRIALES		

**Anexo 5. Preparación de los materiales para la técnica de Cytobrush**



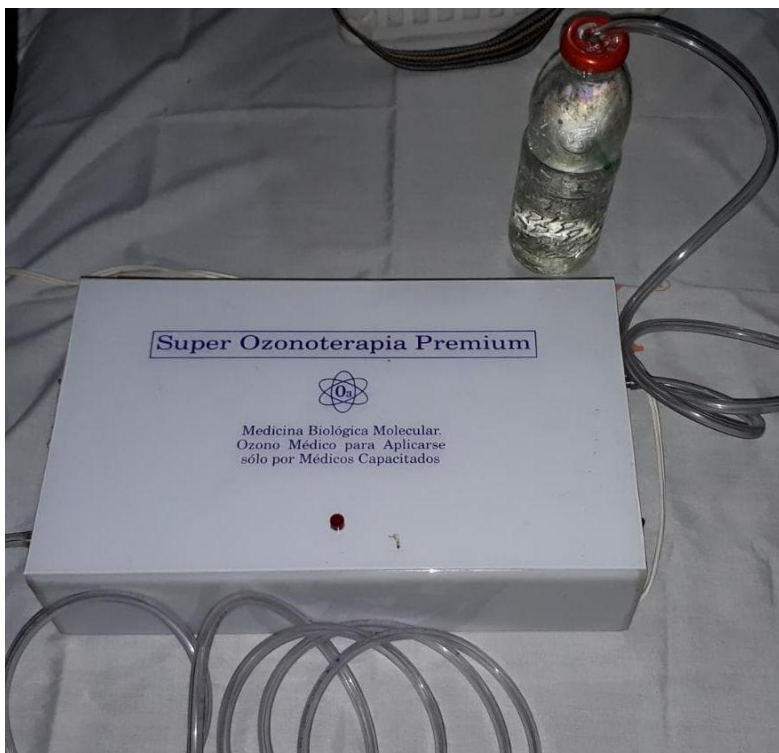


## Anexo 6. Obtención de la citología mediante Cytobrush





### Anexo 7. Aplicación del tratamiento (Ozonoterapia)



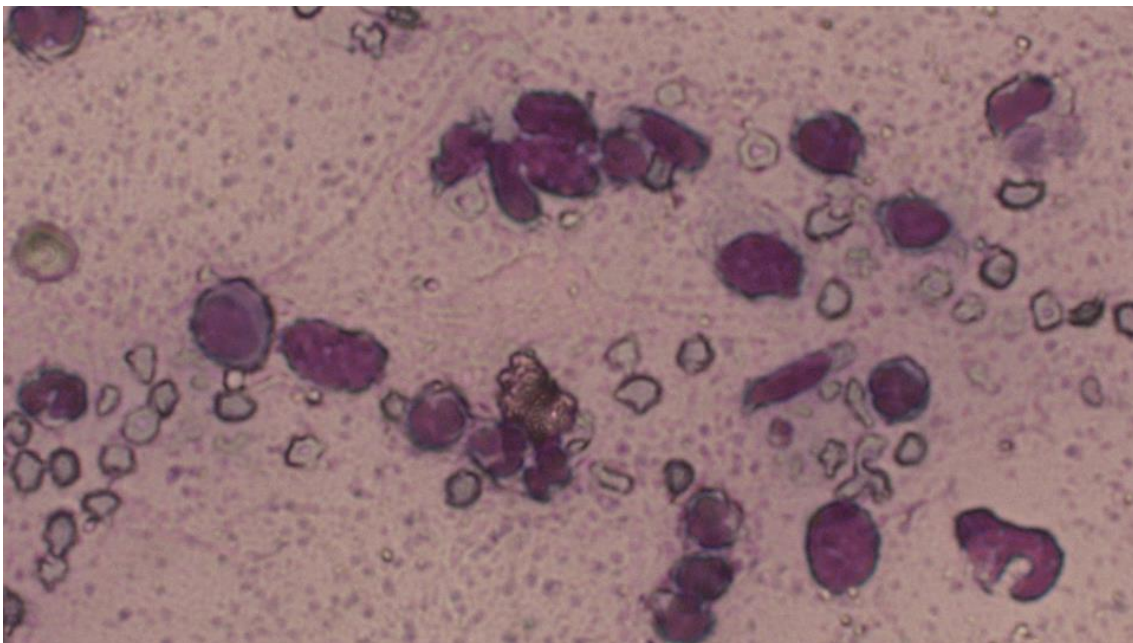


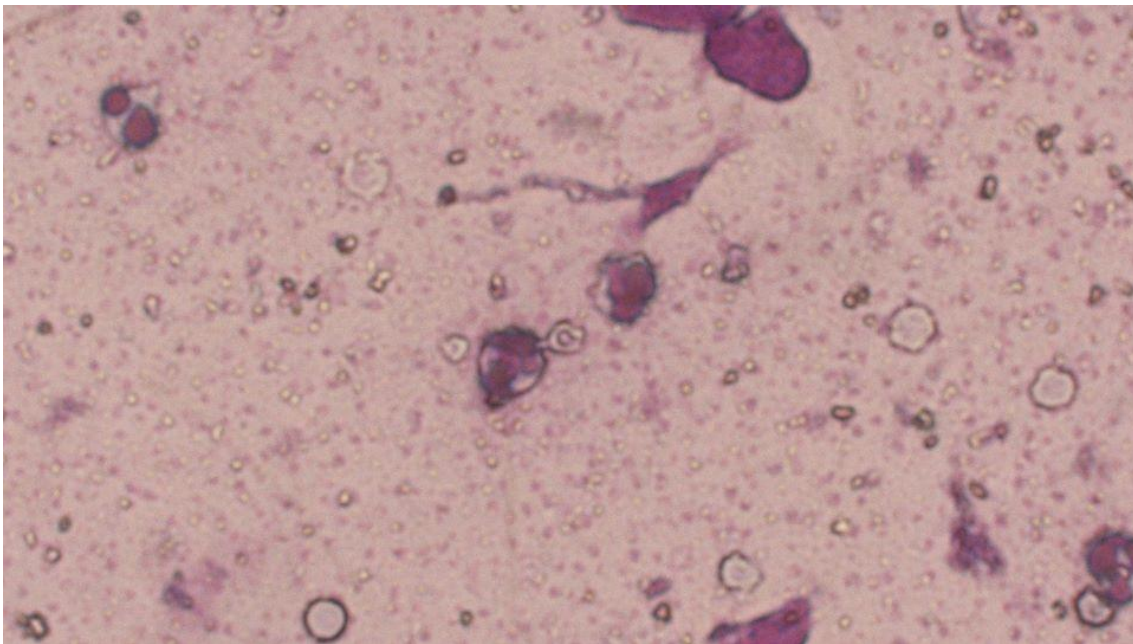
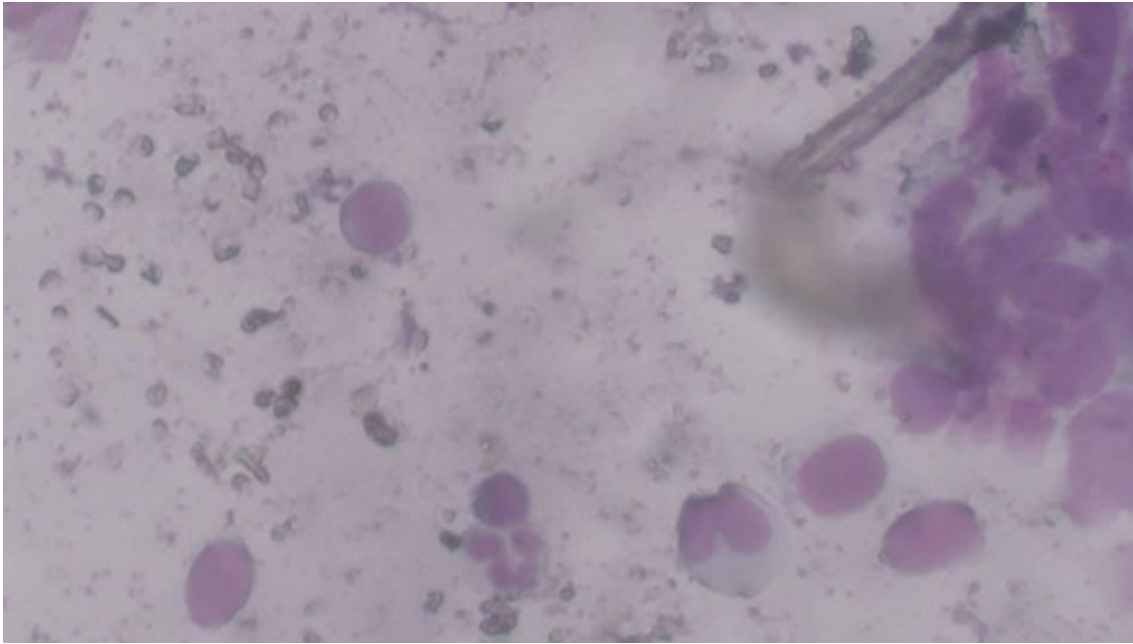
### Anexo 8. Tinción de las muestras citológicas.





### Anexo 9. Evaluación de polimorfo nucleares





**Anexo 10. Pruebas estadísticas**
**Promedio de la variable porcentaje PMN (primera lectura)**

Tratamiento	Media	Error estándar	Límite de confianza al 95%	
			mínimo	máximo
GOz	6,94	1,27	4,40	9,48
GC	7,34	1,18	4,98	9,70

**Promedio de la variable porcentaje PMN (segunda lectura)**

Tratamiento	Media	Error estándar	Límite de confianza al 95%	
			mínimo	máximo
GOz	3,72	1,40	0,32	5,95
GC	7,63	1,12	5,50	10,04

**Promedio de la variable servicios por concepción**

Tratamiento	Media	Error estándar	Límite de confianza al 95%	
			mínimo	máximo
GOz	2,1	0,25	1,58	2,60
GC	3,1	0,23	2,61	3,55

**Promedio de la variable intervalo parto primer servicio**

Tratamiento	Media	Error estándar	Límite de confianza al 95%	
			mínimo	máximo
GOz	75,12	4,65	65,81	84,42
GC	66,11	4,31	57,49	74,74

**Promedio de la variable días abiertos**

Tratamiento	Media	Error estándar	Límite de confianza al 95%	
			mínimo	máximo
GOz	126,24	9,72	106,80	145,69
GC	148,95	9,01	130,93	166,97