




Uso de la ozonoterapia intrauterina para tratar la endometritis subclínica en vacas repetidoras de servicios

Bryan M. Romero-Aguilar[✉], Jhonny A. Narvárez-Terán[✉], Carlos Ortuño-Barba¹[✉] 

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
Universidad de Cuenca, Azuay, Ecuador.

Introducción

La endometritis subclínica (ES) es la inflamación endometrial generalmente determinada por citología, en ausencia de material purulento en la vagina (Barański *et al.*, 2012; Yáñez *et al.*, 2022). En animales sin signos de endometritis clínica, la forma subclínica de la enfermedad se diagnostica midiendo la proporción de neutrófilos presentes en muestras recolectadas al lavar la luz uterina o usando un citocepillo (Sheldon *et al.*, 2006). Las patologías uterinas juegan un papel primordial en la reducción de la eficiencia reproductiva, con retrasos en el retorno de la actividad ovárica posparto, aumento de los intervalos parto-primero servicio y parto-concepción, disminución de las tasas de preñez de 56% al 30%, aumento del número de servicios por concepción y mayores tasas de sacrificio (Yáñez *et al.*, 2022). La prevalencia de ES en vacas lecheras lactantes posparto ha variado entre 7 y 53% (Lopdell *et al.*, 2011), y su presencia se asoció con vacas repetidoras de servicio después de la inseminación artificial (de Lima, 2020).

Desde principios de siglo se han implementado nuevas técnicas de diagnóstico para mejorar la

detección de las enfermedades uterinas, como la ultrasonografía y la citología uterina (Kasimanickam *et al.*, 2004; Polat *et al.*, 2015). La citología uterina se considera la técnica de diagnóstico más confiable y precisa para evaluar la presencia de leucocitos polimorfonucleares (PMN). Esta es fácil de realizar, es específica y económica, y las muestras se pueden obtener utilizando la técnica de lavado uterino o el citocepillo (Ricci *et al.*, 2017; Cengiz *et al.*, 2021). En la actualidad los diferentes tratamientos terapéuticos como la ozonoterapia están enfocados en mejorar el ambiente intrauterino para la supervivencia del embrión, despertando el interés de usar terapias alternativas a los antibióticos aplicados por vía intrauterina contra los procesos infecciosos uterinos (Elvis y Ekta, 2011). La ozonoterapia se ha utilizado con frecuencia en medicina veterinaria y buiatría contra enfermedades como la mastitis, metritis, endometritis, membrana fetal retenida, vaginitis y urovagina (Zobel *et al.*, 2012). Por tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la ozonoterapia en el tratamiento de la endometritis subclínica en vacas repetidoras.

Palabras clave: endometritis, citología, útero, ozono

Materiales y Métodos

Esta investigación se realizó en 2 haciendas de la provincia del Azuay, Ecuador, ubicadas a una altitud de 2,680 msnm. Se seleccionaron 42 vacas repetidoras con ES de raza Holstein (no gestantes luego de 3 o más servicios consecutivos) con ciclos estrales regulares (17 – 23 días), multíparas (de 2-6

partos), con una condición corporal de 2.5 a 3 (en escala de 1 al 5), alimentadas con una dieta basal 90 % de pastura, 10 % de balanceado y con similares condiciones de manejo. Los animales seleccionados fueron divididos en dos grupos: 1) se le aplicó 500 mg de suspensión intrauterina de Cefapirina

¹ Autor para la correspondencia: E-mail: carlos.ortuno@ucuenca.edu.ec



benzatinica (Metricure®) (G1 n=21); 2) se le aplicó ozono intrauterino a una concentración de 45 µg/ml en 60 ml de agua bidestilada (G2 n=21). Se excluyeron vacas con secreciones purulentas en la vagina al momento del examen ginecológico.

El diagnóstico de endometritis subclínica se realizó mediante citología endometrial empleando la técnica de Cytobrush descrita por Kasimanickam *et al.*, (2004). Las muestras para el aislamiento bacteriano fueron tomadas por la técnica antemencionada, que una vez obtenida se introdujo con el citocepillo en el medio de transporte. En el laboratorio se cultivaron en agar Sangre y agar Macconkey, y se incubaron a 37 °C durante 48 horas para el aislamiento de los agentes bacterianos. La identificación de agentes bacterianos se basó en métodos convencionales, incluyendo tinción de

Gram, morfología de colonias y pruebas bioquímicas convencionales. Las vacas con citologías con porcentajes $\geq 5\%$ de PMNs se consideraron con ES (Madoz *et al.*, 2013). A las 24 horas de tomadas de muestras, y una vez hecho el diagnóstico, se aplicaron los tratamientos descritos anteriormente. Todas las vacas fueron revaloradas a las 72 horas post-tratamiento. Luego de finalizar la fase experimental, los animales fueron sometidos a un protocolo de sincronización con inseminación artificial a tiempo fijo. El diagnóstico de preñez se realizó el día 45 post inseminación mediante ultrasonografía. Para el análisis estadístico se utilizó el análisis de varianza (ANOVA), estadígrafos básicos, además, pruebas de comparación de medias para los polimorfonucleares, y la prueba de Chi-cuadrado para comparar la tasa de preñez.

Resultados y Discusión

El porcentaje de PMNs, en el G1 disminuyó de 12,50 % a 6,55 % en las citologías realizadas antes y después del tratamiento intrauterino, respectivamente; en cambio, para G2, el porcentaje de PMNs disminuyó de 11,50 % a 4,00 % respectivamente (Tabla 1) ($P < 0.05$), lo cual indica mayor efectividad del tratamiento con O_3 . Los puntos de corte determinados por Madoz *et al.* (2013) considera animales positivos a ES cuando presentan $\geq 5\%$ de PMNs después de los 60 días post parto. Se observó que luego de aplicarse la cefapirina benzatinica el porcentaje de PMNs se encontraba por encima del 5%, mientras que el grupo que recibió O_3 se encontraba por debajo de este valor. Según los resultados, en este estudio el ozono tuvo mayor efecto en la recuperación del endometrio en VR con ES, al compararlo con la cefapirina benzatinica.

El porcentaje de preñez en VR después de la aplicación de los tratamientos fue 33,0 % en G1 y 48,0 % en G2, sin diferencia estadística entre tratamientos ($P > 0.05$). Sin embargo, existe mayor probabilidad de recuperar la fertilidad en animales tratados con ozono. Así, en el estudio de Da Luz (2013) aplicaron pajillas ozonificas (*Ripromed palhinhas*®) 10 horas antes de la inseminación artificial en VR de raza Holstein – Friesian y obtuvieron 43 y 26% de preñez en los animales tratados y no tratados con ozono respectivamente ($P > 0,05$). Samardžija (2014) evaluó el efecto de la aplicación de un aerosol de espuma ozonificada (*Riger spray, Novagen*) intrauterina en VR con o sin crecimiento bacteriano en el útero, y obtuvo 33 y 60 % de preñez, respectivamente. Zobel (2013) puso a prueba la eficiencia del ozono intrauterino mediante

Tabla 1. Efecto del tratamiento sobre el porcentaje de PMNs y rendimiento reproductivo

	G1	G2
Días abiertos	279,0 ± 27,4 ^a	273 ± 22,3 ^a
Numero de servicios	3,8 ± 0,19 ^a	3,9 ± 0,25 ^a
% PMNs	12,5 ± 0,99 ^a	11,5 ± 1,19 ^a
% PMNs 72 horas post tratamiento	6,55 ± 0,75 ^a	4,0 ± 0,52 ^b
Porcentaje de preñez	33,0 ± 0.18 ^a	48,0 ± 0.19 ^a

Letras diferentes en la misma fila presenta diferencias significativas para un $a-b P < 0,05$



un ensayo de tres grupos: Grupo A (PGF2 α), Grupo B (cefapirina + PGF2 α) y Grupo C (ozono + PGF2 α), obteniendo un mayor número de vacas preñadas después de la primera inseminación artificial posterior al tratamiento en el Grupo C ($P < 0,05$). Los resultados obtenidos en los cultivos bacterio-lógicos demostraron que independientemente del tratamiento aplicado, un 62 % (26/42) de las vacas repetidoras presentaron crecimiento bacteriano y el 38 % (16/42) de las diagnosticadas con endometritis subclínica no presentaron aislamiento bacteriano (Tabla 2).

Los datos obtenidos corroboran lo observado por Pothmann *et al.*, 2015, quienes evaluaron la prevalencia de ES y la presencia de agentes bacterianos en vacas repetidoras, y determinaron que en el 47,1% de las muestras no hubo aislamiento

Tabla 2 Resultado del cultivo bacteriológico en vacas repetidoras con endometritis subclínica.

Bacterias	Endometritis Subclínica	
	%	n
Staphylococcus spp.	45,24	(19/42)
Escherichia coli	9,5	(4/42)
Pseudomonas Spp.	7,4	(3/42)
Bacillus spp.	9,5	(4/42)
Sin Aislamiento	38,0	(16/42)

to bacteriano. Las principales bacterias aisladas en el estudio de Pothmann *et al.* (2015) fueron *Trueperella pyogenes* (0.8%), *Escherichia coli* (2.5%), *Corynebacterium spp.* (20.7%), *Streptococcus spp.* (19.0%) y *Staphylococcus spp.* (14.9%).

Conclusiones

La administración intrauterina de ozono redujo el porcentaje de polimorfonucleares en vacas las repetidoras de servicio. Además, se logró aislamiento bacteriano en 26 de las 42 vacas repetidoras de

servicios muestreadas. Las principales bacterias aisladas fueron *Staphylococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Bacillus spp.* y *Pseudomonas spp.*

Literatura Citada

- Barański, W., Podhalecz-Dzięgielewska, M., Zduńczyk, S., Janowski, T. (2012). The diagnosis and prevalence of subclinical endometritis in cows evaluated by different cytologic thresholds. *Theriogenology*, 78(9), 1939-1947. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.07.018>.
- Cengiz, M., Altun, S., Comakli, S., Cengiz, S., Hayirli, A. (2021). A reliable method using the cytobrush for diagnosis of subclinical endometritis in dairy cattle during the late lactational period. *Animal Reproduction Science*, 235, 106891. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106891>.
- Elvis, A. M., Ekta, J. S. (2011). Ozone therapy: A clinical review. *Journal of natural science, biology, and medicine*, 2(1), 66. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.82319>.
- Kasimanickam, R., Duffield, T. F., Foster, R. A., Gartley, C. J., Leslie, K. E., Walton, J. S., Johnson, W. H. (2004). Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 62(1-2), 9-23. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.03.001>.
- Leitman, N. R., Busch, D. C., Mallory, D. A., Wilson, D. J., Ellersieck, M. R., Smith, M. F., Patterson, D. J. (2009). Comparison of long-term CIDR-based protocols to synchronize estrus in beef heifers. *Animal Reproduction Science*, 114(4), 345-355. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.10.014>.
- Lima, F. S. D. (2020). Recent advances and future directions for uterine diseases diagnosis, pathogenesis, and management in dairy cows. *Animal Reproduction*, 17(3):e20200063. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2020-0063>.
- Lopdell, T., Berg, M. C., Green, M. P., & Back, P. J. (2011). Effect of sub-clinical uterine infection on plasma amino acid concentrations in early lactation dairy cows. In *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* (Vol. 71, pp. 291-295). New Zealand Society of Animal Production.



- da Luz, N. F. V. 2013. Estudo do Efeito da Aplicação Intrauterina de Ozono Sobre a Taxa de Gestação, Após Inseminação Artificial, em Vacas Repetidoras de Raça Frísia Holstein (Doctoral dissertation, Universidade de Lisboa (Portugal)).
- Madoz, L. V., Giuliadori, M. J., Jaureguiberry, M., Plöntzke, J., Drillich, M., de la Sota, R. L. 2013. The relationship between endometrial cytology during estrous cycle and cutoff points for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *Journal of dairy science*, 96(7), 4333-4339. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6269>.
- Polat, B., Cengiz, M., Cannazik, O., Colak, A., Oruc, E., Altun, S., Salar, S., Bastan, A. 2015. Endometrial echotexture variables in postpartum cows with subclinical endometritis. *Animal Reproduction Science*, 155, 50-55. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.01.015>
- Pothmann, H., Prunner, I., Wagener, K., Jaureguiberry, M., de la Sota, R. L., Erber, R., Aurich, C., Ehling-Schulz M., Drillich, M. 2015. The prevalence of subclinical endometritis and intrauterine infections in repeat breeder cows. *Theriogenology*, 83(8), 1249-1253. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.01.013>.
- Ricci, A., Bonizzi, G., Sarasso, G., Gallo, S., Dondo, A., Zoppi, S., & Vincenti, L. 2017. Subclinical endometritis in beef cattle in early and late postpartum: Cytology, bacteriology, haptoglobin and test strip efficiency to evaluate the evolution of the disease. *Theriogenology*, 94, 86-93. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.02.006>.
- Samardžija, M. (2014). Effect of intrauterine ozone treatment in cows with repeat-breeding syndrome after bacteriological testing of uterine swabs. In *Proceedings of the 18th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR)*, p. 93.
- Sheldon, I. M., Lewis, G. S., LeBlanc, S., Gilbert, R. O. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65(8), 1516-1530. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.08.021>.
- Yáñez, U., Herradón, P. G., Becerra, J. J., Peña, A. I., & Quintela, L. A. (2022). Relationship between postpartum metabolic status and subclinical endometritis in dairy cattle. *Animals*, 12(3), 242. <https://doi.org/10.3390/ani12030242>.
- Zobel, R., Tkalčić, S., Štoković, I., Pipal, I., Buić, V. (2012). Efficacy of ozone as a novel treatment option for urovagina in dairy cows. *Reproduction in domestic animals*, 47(2), 293-298. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01857.x>.
- Zobel, R. (2013). Endometritis in Simmental cows: Incidence, causes, and therapy options. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 37(2), 134-140. <https://doi.org/10.3906/vet-1105-2>.