



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**“DETERMINACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS DEL TRACTO REPRODUCTIVO
MEDIANTE CULTIVO *IN VITRO* Y SEROLOGÍA EN LAVADOS UTERINOS Y SUERO
SANGUÍNEO DE VACAS LECHERAS DE LA HACIENDA IRUBÍ,
PROVINCIA DE PICHINCHA.”**

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos
para optar por el título de Médico Veterinario Zootecnista.

Profesor Guía
MVZ. Humberto Marcelo Almeida Bravo

Autora
Daniela Freile León

Año
2015

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

.....
Humberto Marcelo Almeida Bravo
Médico Veterinario Zootecnista
C.I.: 170551960-9

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.”

.....
Daniela Freile León
C.I.: 171216655-0

AGRADECIMIENTOS

A mis padres: Por su infinito amor, por su apoyo incondicional y por enseñarme a ser mejor cada día, sin ustedes nada hubiera sido posible.

A mi familia: por siempre apoyarme y ser un pilar fundamental en mi vida.

A Santiago: Por tu amor, paciencia y apoyo durante todo este tiempo.

A Gabriela Añasco: Por tu invaluable amistad, cariño y apoyo a lo largo de este camino que fue más fácil por compartirlo contigo.

A Gabriela Luzuriaga, Mónica Nápoles y Erika Latorre: por su amistad y por su contribución en la elaboración de este trabajo.

A los Doctores Joar García y Marco Coral: Por su apoyo y contribución en el desarrollo de este trabajo.

Al Doctor Christian Cárdenas: Por su constante ayuda en la revisión del presente trabajo.

A todos los profesores y personas que me acompañaron, apoyaron y creyeron en mí.

DEDICATORIA

A todos los animalitos que fueron y son parte esencial de mi vida y a aquellos que sacrificaron su vida y su cuerpo por mi desarrollo profesional.

A Victoria: porque de ahora en adelante mi vida entera está dedicada a ti.

RESUMEN

El presente estudio tiene como objetivo diagnosticar e identificar los principales patógenos que afectan al tracto reproductivo del ganado de leche perteneciente a la Hacienda Irubí en el periodo del posparto, correlacionar a los patógenos con la edad productiva de los animales muestreados y determinar la sensibilidad o resistencia antibiótica de las bacterias cultivadas en lavados uterinos mediante antibiograma.

Para realizar este trabajo se seleccionaron 27 animales que parieron en el periodo Enero-Julio, 2014 y que no presentaron ninguna complicación durante el parto. Se tomaron muestras de sangre para diagnosticar mediante serología Diarrea Viral Bovina, Brucelosis, Leptospirosis y Neosporosis. Adicionalmente, se practicaron lavados uterinos con los cuales se realizó tinción Giemsa para el diagnóstico de Trichomoniasis y cultivos para identificar las bacterias que colonizan el útero, con su respectivo antibiograma. Tanto la toma de muestras de sangre como los lavados uterinos se realizaron en las fechas correspondientes a los días 30 y 60 posparto de cada animal.

Al finalizar el estudio se determinó que el virus de la Diarrea Viral Bovina fue el más prevalente dentro del hato con una frecuencia de presentación de 46,0% en el día 30 y 50,0% en el día 60 posparto. Neosporosis y Leptospirosis ocuparon el segundo y tercer lugar de prevalencia respectivamente, tanto en el día 30 como el día 60 posparto. Mediante los cultivos realizados a los lavados uterinos se determinó que *E. coli* fue la principal bacteria aislada en ambas fechas de muestreo, seguida por *Enterobacter agglomerans* y *Enterococcus faecalis*. Los resultados del antibiograma demostraron que los fármacos pertenecientes a las familias de cefalosporinas y betalactámicos son los que más resistencia bacteriana presentaron. La edad productiva de los animales no está relacionada con los patógenos identificados, pero se demostró que las bacterias desarrolladas en animales jóvenes son más resistentes a los antibióticos que las de los animales mayores.

ABSTRACT

The aim of this study is to diagnose and identify the main pathogens that affect the reproductive tract of dairy cows in Hacienda Irubi during the postpartum period, the relationship between the pathogens and the productive age of the tested animals, and to determine the antibiotic sensibility or resistance from bacteria isolated in the culture of uterine flushes.

Twenty seven cows who's calving date was during the January-July, 2014 period and that had no calving complications were selected for taking blood samples and to perform uterine flushes during days 30 and 60 postpartum. Bovine Viral Diarrhea (BVD), Brucellosis, Leptospirosis and Neosporosis were tested through serology studies. Additionally, uterine flushes were used to test for Trichomoniasis and to perform cultures in order to identify bacteria that grow inside the cow's uterus during the puerperium.

After culminating this study, it was determined that BVD was the most prevalent disease within the herd with a frequency of 46% in day 30 postpartum and 50% in day 60 postpartum. Neosporosis and Leptospirosis occupied the second and third prevalence positions respectively, within the herd. The cultures showed that *E. coli* was the main bacteria isolated, followed by *Enterobacter agglomerans* and *Enterococcus faecalis*. Antibiotics from the Cephalosporin and Beta lactam families showed more resistance than the other tested antibiotic families. The productive age of the tested animals was not associated with the identified pathogens; but younger animals did show more antibiotic resistance than older animals.

INDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.2 ANTECEDENTES	2
1.3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.4 OBJETIVOS.....	3
1.4.1 Objetivo general	3
1.4.2 Objetivos específicos	4
1.5 JUSTIFICACIÓN	4
II. BASES TEÓRICAS	6
2.1 EL PUERPERIO	6
2.1.1 Involución uterina	7
2.1.2 Regeneración del endometrio	9
2.1.3 Eliminación de la contaminación uterina de origen bacteriano.....	9
2.1.4 Reanudación de la actividad ovárica.....	10
2.2 PUERPERIO PATOLÓGICO	12
2.2.1 Influencia de la involución uterina	12
2.2.1.4 Patologías	18
2.2.1.4.2 Brucelosis.....	26
2.2.1.4.3 Leptospirosis	32
2.2.1.4.4 Neosporosis	36
2.2.1.4.5 Trichomoniasis	42
2.2.1.5 Edad y número de partos	45
2.2.2 Anestro posparto.....	45
2.3 Tratamientos para las infecciones uterinas	46
2.4 Resistencia Antibiótica	48
III. DESCRIPCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	52
3.1 TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN	52
3.2 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.....	52

3.3 MATERIALES	53
3.3.1 MATERIALES DE CAMPO	53
3.3.2 MATERIALES FARMACOLÓGICOS	54
3.3.3 MATERIALES DE LABORATORIO.....	54
3.4 MÉTODO	55
3.4.1 Criterios de exclusión	55
3.4.2 Criterios de inclusión	55
3.4.3 Obtención de muestras	55
3.4.3.2 Lavado Uterino.....	57
3.4.3.2.2 Lavado uterino.....	58
3.4.4 Manejo y transporte de muestras.....	59
3.4.5 Manejo de desechos	60
3.5 MÉTODO ESTADÍSTICO	60
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	62
4.1 DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DE ENFERMEDADES Y PATÓGENOS IDENTIFICADOS	63
4.1.1 RESULTADOS DE PRUEBA DE MCNEMAR Y TEST EXACTO DE FISHER	70
4.2 RESULTADOS DE ANÁLISIS UNIVARIADO PARA DEFINIR LA SENSIBILIDAD O RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS	73
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	81
5.1 CONCLUSIONES.....	81
5.2 RECOMENDACIONES	83
REFERENCIAS	84
ANEXOS	93

I INTRODUCCIÓN

1.1 INTRODUCCIÓN

Los problemas reproductivos son una de las principales complicaciones asociadas a grandes pérdidas económicas en la industria ganadera por la estrecha relación que estos guardan con la productividad en un hato (Sánchez, González, Castañeda, Pulido, Guáqueta, Aranda, Rueda, 2011). Según Catena (s.f), existen varios factores como las enfermedades infecciosas que predisponen al animal a padecer alteraciones que afectan de forma negativa al tracto reproductivo y a la consecuente fertilidad de los animales. Adicionalmente, la normalidad con que se lleva a cabo la involución uterina tras el parto, proceso conocido como puerperio, también es un factor muy decisivo en el posterior rendimiento reproductivo de un animal (Noakes, 1999, p. 55).

Las infecciones uterinas son problemas muy comunes, especialmente en ganado de leche cuando el puerperio es patológico. Si bien el útero es un saco que permanece estéril casi todo el tiempo, existen circunstancias como el estado inmunológico del animal y el parto, que predisponen a la infección uterina (Sánchez et al., 2011). Según Sánchez et al., (2011), las bacterias que se han aislado del útero se clasifican en cuatro grupos principales que son: bacterias Gram negativas y positivas, bacterias ácido-alcohol resistentes y bacilos espora formadores.

En la actualidad, se ha determinado que la etiología de los trastornos reproductivos es multifactorial y las enfermedades infecciosas como la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), Diarrea Viral Bovina (DVB), Brucelosis y Leptospirosis, las enfermedades parasitarias como Neosporosis, y las enfermedades protozoaricas como la Trichomoniasis son muy influyentes en la aparición de dichos trastornos (Motta, Waltero, Abeledo, Fernández, 2012).

Para poder diagnosticar e identificar los principales patógenos presentes en el tracto reproductivo de la hembra bovina en edad productiva que causan pérdidas económicas, es importante conocer las bases fisiológicas normales y anormales del aparato reproductor, la fisiopatología de las principales enfermedades reproductivas y los métodos de tratamiento y control para las mismas. Considerando la evolución de los patógenos y la resistencia que los mismos desarrollan, el objetivo de este estudio fue identificar los patógenos del tracto reproductivo y la resistencia antibiótica que los agentes bacterianos del útero han desarrollado frente a los fármacos antimicrobianos más utilizados en el predio estudiado.

1.2 ANTECEDENTES

La prevalencia de las enfermedades reproductivas en los bovinos ha ido incrementando con el tiempo y este escenario se ha agravado con la selección genética de los animales que compromete el estado reproductivo de los mismos (YOO, 2010). Los trastornos reproductivos como la infertilidad y los abortos son los principales problemas que aquejan al sector ganadero y aunque existen múltiples causas para los mismos, las enfermedades reproductivas de origen biológico es decir de origen bacteriano, viral, protozoarico, fúngico etc, son en gran medida responsables de los problemas reproductivos. Dentro de las enfermedades reproductivas bacterianas que afectan al ganado más comúnmente se puede mencionar a la Brucelosis, Leptospirosis, Campylobacteriosis, Salmonelosis y Listeriosis (YOO, 2010). En cuanto a las enfermedades virales se puede mencionar al Herpesvirus bovino, virus de la Diarrea Viral Bovina, entre otros. En el grupo de agentes protozoáricos y otros se menciona enfermedades como la trichomoniasis, la neosporosis y la chlamydiosis (YOO, 2010).

Además de las enfermedades reproductivas antes mencionadas, la normalidad con la que el puerperio se desarrolla en el ganado bovino tiene una gran influencia sobre la futura fertilidad de dichos animales. En un puerperio normal, el útero de un animal recién parido vuelve al estado original de no gestante en

un periodo de 42 a 50 días, mientras que en un puerperio patológico el útero puede infectarse con bacterias por factores como retención de membranas fetales, distocias, partos gemelares, entre otros (Cengic, Varatonivic, Mutevelic, Katica, Mlaco, Cutuk, 2012). Según un estudio realizado por Sánchez et al., (2011), los aislamientos bacterianos provenientes de lavados uterinos en vacas demostraron la presencia de bacterias como *Lactobacillus* sp, *Klebsiella* sp, *Streptococcus* sp. β hemolítico, *Streptococcus* sp α hemolítico, *Streptococcus* sp y *hemolítico* y *Arcanobacterium pyogenes* (*Corynebacterium-Actinomyces pyogenes*).

1.3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad no existe diagnóstico sobre los principales patógenos causantes de los problemas reproductivos en el ganado de leche ni tampoco sobre la resistencia que han desarrollado las bacterias hacia las distintas familias de antibióticos utilizadas en la zona de estudio. En este sentido, es probable que la eficiencia reproductiva del predio se encuentre afectada por la presencia de ciertos patógenos y que los tratamientos antimicrobianos sean inefectivos por la resistencia que las bacterias han ido generando.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo general

Diagnosticar e identificar la presencia de patógenos del tracto reproductivo mediante cultivo in vitro y serología en vacas lecheras de la hacienda Irubí, provincia de Pichincha.

1.4.2 Objetivos específicos

1.4.2.1 Identificar y clasificar los agentes patógenos encontrados en el tracto reproductivo de hembras bovinas a los días 30 y 60 posparto, mediante las técnicas de Rosa de Bengala, Inmunofluorescencia, tinción Giemsa, Microaglutinación, Inmunoensayo y cultivo practicadas en suero sanguíneo y contenido uterino recuperado mediante lavado del útero.

1.4.2.2 Estudiar la sensibilidad y resistencia antibiótica de las bacterias que colonizan el útero mediante cultivo y antibiograma a los 30 y 60 días post parto.

1.4.2.3 Correlacionar la presencia o actividad de la flora bacteriana uterina con la edad productiva de los animales muestreados.

1.5 JUSTIFICACIÓN

En producción ganadera de carne o de leche, la reproducción es un aspecto igual de fundamental que la producción de los animales en términos económicos. Además de los parámetros que involucra todo el proceso de inseminación o de monta natural, existen varios factores que afectan de manera negativa al ambiente de los oviductos y del útero que contribuyen en las alteraciones de la calidad ovocitaria, afectando de esta manera la fecundación y el desarrollo embrionario (Catena,s.f). Los principales factores que afectan al ambiente uterino y de los oviductos son los ambientales, metabólicos, genéticos, nutricionales e infecciosos. La literatura indica que los factores infecciosos que alteran el ambiente uterino causan el 50% de las fallas reproductivas (Catena, s.f). La muerte embrionaria ya sea tardía o temprana, es considerada como uno de los factores más determinantes en las fallas reproductivas y en el incremento del intervalo entre partos. Evidentemente, los efectos de un alto intervalo entre partos son grandes pérdidas económicas y la determinación de que el animal permanezca o no dentro de la explotación (Catena, s.f). Según Alvear (2010), se pierden \$1,7 dólares/vaca, cada día que se alarga el intervalo entre parto. Adicionalmente, las enfermedades reproductivas de los bovinos son importantes económicamente hablando,

incluso más que otros grupos de enfermedades en esta misma especie, por el impacto que estas tienen en la disminución de la producción, en el potencial genético de los animales y el elevado costo que implica la aplicación de tratamientos y servicios veterinarios indispensables en estos casos (Fernández, Silveira y López, 2006).

Tomando en cuenta estos antecedentes y la falta de diagnóstico de los patógenos que afectan al tracto reproductivo, es muy importante determinar los principales agentes causales ya sean bacterianos, virales o parasitarios que afectan a la fertilidad de los bovinos y es igual de importante el determinar los fármacos para los cuales los patógenos bacterianos son sensibles, mitigando de esta manera los efectos negativos de estas patologías.

II BASES TEÓRICAS

2.1 EL PUERPERIO

El puerperio es el periodo que se presenta después del parto, donde el aparato reproductor de la hembra bovina vuelve a su estado normal, en condición de no gestante (Noakes, 1999, p. 55). El puerperio normal, es un estado muy importante de alcanzar ya que es una de las condiciones necesarias para lograr una fertilidad óptima, donde el animal concebirá nuevamente entre los 45-60 días post parto (Morales y Cavestany, 2012). Este periodo de involución uterina comienza inmediatamente después del parto y termina el momento en que la función reproductiva es restablecida para poder desarrollar otra gestación (Senger, 2003, p. 327).

Existe un gran número de fenómenos o cambios que se presentan durante el puerperio, siendo los más importantes: la involución uterina, regeneración del endometrio, eliminación de la contaminación uterina de origen bacteriano y el retorno a la actividad cíclica normal del ovario (Noakes, 1999, p.55).

Según Galina (2008), el puerperio tiene dos etapas principales, la primera es el puerperio temprano y la segunda es el puerperio clínico. El puerperio temprano inicia con la expulsión de la placenta 6 horas después del parto y tiene una duración aproximada de 10 días. En este periodo, el animal expulsa una cantidad pequeña de loquios por la vulva, pero la mayoría de este contenido es reabsorbido en el útero. En los casos en que la involución uterina es normal, este órgano se contrae fuertemente a la palpación, donde se pueden evidenciar varios pliegues. Durante los primeros 6 días posteriores al parto, el útero no puede ser abarcado en su totalidad con la mano del técnico (Galina, 2008, p. 198).

Por su parte, el puerperio clínico comprende el periodo que le toma al útero en volver a su tamaño normal de no gestante. Tiene una duración aproximada de

tres semanas y se presenta luego del puerperio temprano. Una vez que esta fase ha terminado, el endometrio se ha regenerado por completo y el cuello se ha vuelto a cerrar, pero su tamaño sigue estando ligeramente hipertrofiado (Galina, 2008, p. 199). Tanto el cuello del útero como el cuerno gestante presentan un incremento en su tamaño a diferencia del cuerno no gestante. Estos cambios pueden ser solo evidenciados con la palpación ya que a simple vista no es posible distinguir el estado de parición reciente en el animal (Galina, 2008, p. 199).

2.1.1 Involución uterina

Durante su involución, el útero sufre una reducción de tamaño para volver a su estado normal, tornándose más retraído y retornando a su posición en la cavidad pélvica, evidenciándose una disminución significativa tanto en su diámetro como en su longitud. El cuello del útero y en menor grado la vagina también presentan un grado de involución (Noakes, 1999, p. 57). Este proceso suele ser bastante rápido en un inicio, pero la velocidad disminuye de manera gradual, completándose aproximadamente a los 42 días pos parto (Noakes, 1999, p. 57).

Luego del parto, el útero se convierte en una especie de saco grande y vacío, cuyo peso aproximado es de 9kg. En un puerperio normal, el útero debe alcanzar un peso de 1kg dentro de los 30 días pos parto (Galina, 2008, p.195). Por su parte, el cuerno gestante alcanza una longitud de 1 metro y un diámetro de 40cm durante la gestación. La involución de esta estructura se da de la siguiente manera: en los 5 primeros días posparto, el diámetro del mismo se reduce a la mitad, a los 10 días alcanza una longitud de 50cm y un peso de 4,5kg (Galina, 2008, p.195). El peso del cuerno se mantiene estable durante 25 días por el hecho de que su involución es más lenta que la del resto de estructuras del útero (Galina, 2008, p.196).

Durante el puerperio, el miometrio sufre una serie de contracciones repetidas y fuertes que tienen como función alcanzar varios resultados como los

siguientes. En primer lugar, las contracciones uterinas facilitan la expulsión y descarga de fluidos y tejidos residuales del útero. Segundo, producen una compresión de la vasculatura uterina, disminuyendo de esta manera el riesgo de una hemorragia. Finalmente, al contraerse el útero es capaz de reducir su tamaño hipertrofiado para volver al tamaño normal de no gravidez (Senger, 2003, p.329). La mayor parte de estas contracciones son causadas por la liberación de oxitocina y modifican la contractibilidad de las células miometriales, lo que tiene como resultado la eliminación de las membranas placentarias y la disminución del lumen uterino (Galina, 2008, p.196).

Como se mencionó anteriormente, dentro de las funciones que cumplen las contracciones uterinas se encuentra la expulsión de los distintos contenidos del útero. Los loquios pueden ser definidos como el líquido que se acumula dentro del útero después del parto. Este líquido está formado principalmente por elementos que provienen de la reparación del útero, secreciones expulsadas por las glándulas de la mucosa uterina, leucocitos, glóbulos rojos, bacterias y células epiteliales de descamación (Galina, 2008, p.196).

La valoración de las características de los fluidos uterinos es muy importante ya que proporciona una idea sobre la normalidad con la que está desarrollándose el puerperio. Durante los dos primeros días, los fluidos deben ser sero-sanguinolentos, cuyo aspecto puede cambiar el momento que empiezan a disolverse las carúnculas. En este momento, el contenido se vuelve más denso por la aparición de cantidades variables de sangre (Galina, 2008, p.196). Durante los días 7 a 14 el color del contenido cambia de rojo oscuro a café chocolate, posteriormente adquiere un color cristalino parecido al del moco estral, pero por el hecho de que este se mezcla con el tejido caruncular puede adquirir una apariencia purulenta que puede durar hasta los 18 días después del parto. Este contenido no presenta ningún tipo de olor, lo que significa que la involución es completamente normal (Galina, 2008, p.196).

2.1.2 Regeneración del endometrio

Al igual que ocurre en las carúnculas, el epitelio glandular e intercaruncular es sometido a un proceso de degeneración y descamación. Desde el primer día luego del parto, se puede observar la aparición de un epitelio nuevo que recubre de manera progresiva a todo el endometrio, incluyendo a las carúnculas (Galina, 2008, p. 198).

Esta neoeptelización termina entre los días 15 a 30 pos parto. La pared endometrial se llena de monocitos, histiocitos, mastocitos, polimorfonucleares, y células gigantes multinucleadas que también contribuyen con la eliminación de la contaminación presente. La recuperación del endometrio como estructura histológica normal se completa entre los 30 y 40 días posteriores al parto, momento en el cual culmina el puerperio (Galina, 2008, p. 198).

2.1.3 Eliminación de la contaminación uterina de origen bacteriano

Durante la gestación, el útero mantiene condiciones estériles que desaparecen durante el parto (Hafez y Hafez, 2000, p. 157). El momento del parto, la barrera física que el cérvix y la vagina proveen para el útero desaparecen por el hecho de que el cérvix queda relajado algunos días después del parto, posibilitando el ingreso de bacterias que se encuentran en la vagina o en la piel cercana a esta zona. El 93% de los animales que se encuentran dentro de los primeros 15 días pos parto presentan contaminación bacteriana en el contenido uterino, mientras que entre los 46-60 días pos parto, este valor disminuye, afectando sólo al 9% de los animales (Cengic et al., 2012).

Para que el útero pueda prepararse para la siguiente gestación, se deben cumplir 3 procesos. El primer proceso consiste en un mecanismo de defensa, donde se presenta una infiltración masiva de glóbulos blancos en la luz uterina que se encargan de fagocitar los patógenos que se encuentran en este órgano al inicio del posparto (Hafez y Hafez, 2000; p. 158). El segundo proceso que se presenta es una secreción masiva de prostaglandinas durante las primeras dos semanas posparto que producen contracciones del miometrio, y la

consecuente expulsión de líquidos y membranas fetales retenidas en el útero (Hafez y Hafez, 2000, p. 158). El tercer y último proceso es la secreción de estrógenos por parte de los ovarios, que le otorga mayor resistencia al útero a contraer infecciones ya que esto estimula el flujo sanguíneo hacia el útero lo que a su vez incrementa la actividad fagocítica de las células blancas (Hafez y Hafez, 2000,p. 158).

La velocidad con que la involución uterina ocurre, al igual que el desempeño reproductivo subsiguiente dependen de varios factores como el tipo de parto, la estación del año, el amamantamiento, la frecuencia del ordeño, las condiciones climáticas bajo las que el animal es explotado, la cantidad de leche producida, la calidad de la nutrición, la raza y problemas de salud antes y después del parto (Cengic et al., 2012).

2.1.4 Reanudación de la actividad ovárica

Durante la gestación, las hembras bovinas presentan niveles elevados de progesterona y lactógeno placentario, lo que modifica la relaciones que existen en el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (IRAC, 2004). El objetivo de estas modificaciones se basa principalmente en priorizar funciones como el mantenimiento del cuerpo lúteo, el desarrollo de la glándula mamaria y las adaptaciones metabólicas del animal. Esto a su vez, tiene como resultado un periodo prolongado de aciclicidad, que permanece por un tiempo considerable luego del parto (IRAC, 2004). La primera ovulación que se presenta luego del parto es el principal signo de que el animal ha logrado superar el bloqueo que se produjo por la gestación previa (IRAC, 2004).

Por el hecho de que en la fase terminal del parto hay una elevada concentración de progesterona y de estrógenos, se presenta una depresión del ritmo natural de la secreción pulsátil del factor liberador de gonadotropinas (GnRH) y aunque el contenido de esta hormona es normal en el hipotálamo, la adenohipófisis es menos sensible a su acción, lo que a su vez tiene como resultado una liberación muy pobre de hormona luteinizante (LH) a nivel

hipofisiario (Elli, 2005, p.147). La LH alcanza concentraciones basales de forma gradual, presentando picos episódicos a partir del décimo día posparto (Elli, 2005, p.148). Se ha establecido que el animal recién parido ha superado la inhibición que se indujo como producto de la gestación, el momento en que el individuo puede liberar a la circulación general la máxima cantidad de LH, como respuesta a una sola dosis de GnRH (Roche y Boland, 1991).

A diferencia de la LH, la secreción de la hormona folículo estimulante (FSH) permanece normal, aumentando su concentración plasmática a los 5 días posparto (Elli, 2005, p.148). La frecuencia de los pulsos de FSH y LH dependen de la frecuencia de los pulsos de GnRH, que aumenta hasta el punto de generar un pulso cada hora hasta que se genere la ovulación (Galina, 2008, p. 200). El primer folículo dominante, con un diámetro mayor o igual a 10mm aparece a los $11,6 \pm 8,9$ días posparto y la primera ovulación se da a los $27,3 \pm 3$ días posparto (Elli, 2005, p.148). Una vez que ha ocurrido la ovulación, los pulsos de GnRH y LH disminuyen a uno cada cuatro o seis horas (Galina, 2008, p.200).

En resumen, la reanudación de la actividad ovárica se ha producido el momento que se presenta un patrón de ondas foliculares, lo que a su vez conlleva la consecuente aparición de un grupo de folículos, la divergencia de uno de ellos y la subsiguiente dominancia del mismo (Galina, 2008, p. 200). En este momento, las concentraciones de FSH descienden a su nivel más bajo por la acción conjunta que ejercen la inhibina y el estradiol producidos por el mismo folículo, pero los folículos presentan una mayor capacidad de respuesta a los pulsos constantes de LH (Galina, 2008, p. 201).

2.2 Puerperio patológico

Tras el parto, las hembras bovinas son infértiles por un periodo de tiempo variable y dependiente de ciertos factores que contribuyen a dicha infertilidad. Estos factores predisponentes se han clasificado en dos grupos principales: la influencia de la involución uterina y el anestro posparto (Short, Bellows, Staigmiller, Berardine, Custer, 1990).

2.2.1 Influencia de la involución uterina

La influencia de la involución uterina es uno de los principales factores que contribuye a la infertilidad posparto. En condiciones normales, las vacas productoras de leche reinician la actividad cíclica entre los 15-20 días después del parto. Con estas consideraciones, no existe un verdadero anestro posparto cuando el proceso fisiológico de involución uterina se presenta con normalidad (IRAC, 2004). Existen varios factores como la genética, la nutrición, el tipo de parto, ciertas patologías que afectan la reproducción y la edad y número de partos de los animales, que tienen un importante efecto en el desarrollo de la involución uterina dentro del rango de tiempo establecido (Rekwot, Ogwu, Oyedipe, 2002).

2.2.1.1 Genética

En la actualidad, se conoce que algunos parámetros reproductivos como el periodo parto-primera ovulación y la condición corporal tienen un grado de heredabilidad moderado de $h^2=0.13$ a 0.28 (Darwash, Lamming y Woolliams, 1997) y $h^2=0.2$ a 0.3 respectivamente (Jones, White y Brothstone, 1999). Este último parámetro se encuentra asociado con el periodo parto-primera ovulación y con el balance energético posparto ya que cuando un animal recién parido cae en balance energético negativo, pierde condición corporal y consecuentemente se retrasa en retornar a una actividad ovárica normal (Butler, 2000). Con estas consideraciones, en la actualidad los criterios de selección de los animales también incluyen parámetros reproductivos además de los productivos (Hernández Cerón, s.f).

2.2.1.2 Nutrición

Por el hecho de que los animales recién paridos son incapaces de consumir la cantidad de materia seca que requieren para cubrir sus necesidades fisiológicas posparto, estos deben recurrir a sus reservas corporales de grasa y proteína. Generalmente, las vacas productoras de leche caen en un balance energético negativo, donde la suma de la energía que requieren para su mantenimiento y para producir leche supera la cantidad de energía consumida, lo que conlleva al proceso de utilización de reservas corporales antes mencionado. Según Villa-Godoy et al, (1988), el punto más bajo del balance energético negativo en estos animales se presenta entre los 70 a 80 días posparto, y en vacas de primer parto puede durar hasta el día 100 luego del parto.

Todos los animales recién paridos caen en balance energético negativo, pero a la vez tienen la capacidad de adaptarse a los cambios producidos por este proceso. En los casos en que los animales fallan en esta adaptación como consecuencia de un bajo consumo de alimento ya sea por problemas de salud, disponibilidad y calidad de alimento, o complicaciones durante el parto entre otros, se pueden ver afectados ciertos procesos reproductivos en el animal (Hernández Cerón, s.f). El impacto del balance energético negativo sobre la reproducción de los animales, ha sido asociado frecuentemente con retrasos en la presentación de la primera ovulación posparto, disminución en las concentraciones séricas de ciertas hormonas como la progesterona, lo que a su vez tiene como resultado una incapacidad en la supervivencia embrionaria. Adicionalmente, el balance energético negativo impacta de forma negativa en el desarrollo de los folículos y en la capacidad de los ovocitos para desarrollar embriones viables (Hernández Cerón, s.f).

Además de lo mencionado anteriormente, la nutrición mineral juega un rol fundamental en el mantenimiento de la preñez y disminuye la probabilidad de ocurrencia de fenómenos como malformaciones y muerte fetal o embrionaria precoz (Bermúdez, s.f). Se ha demostrado que deficiencias de minerales como

fósforo, calcio, Manganeso, Magnesio, yodo, cobre, zinc, selenio y molibdeno entre los días 25 a 40 de gestación, incrementan la posibilidad de que los animales gestantes presenten las alteraciones mencionadas anteriormente (Bermúdez, s.f). En los casos en que las deficiencias ocurren en el último trimestre de gestación, las alteraciones que se producen son: partos prematuros, mortinatos y también se ha evidenciado el síndrome de mal adaptación perinatal (Bermúdez, s.f).

2.2.1.3 Tipo de parto:

Las distocias, los abortos, la gestación gemelar, el sexo de la cría, el parto de fetos muertos, y la inducción al parto son los principales factores que contribuyen a la retención de membranas fetales en vacas lecheras periparturientas (Frazer, 2007, p. 193). Adicionalmente, la literatura indica que los partos que se adelantan o se atrasan en su término, también predisponen a las vacas a la retención de membranas fetales (Smith, 2010, p.1437).

La retención de membranas fetales es uno de los problemas principales y más difíciles de manejar que se observan en el periodo del parto en el ganado de leche. Esta condición, predispone a los animales a contraer infecciones uterinas, volviéndolas 6 veces más propensas que los animales que no presentan retención de membranas fetales (Frazer, 2007, p. 193).

La placenta cotiledonaria de los bovinos suele ser expulsada entre las 3 y 8 horas posteriores al parto, por lo que se considera que hay retención placentaria cuando han transcurrido 12 horas posparto y la misma no ha sido expulsada (Smith, 2010, p.1436). Según Smith (2010), las razas lecheras son más propensas a presentar retenciones placentarias que las razas cárnicas y esta condición tiene una prevalencia que varía entre el 8 y el 12% tras el parto espontáneo de terneros únicos. El sexo del ternero ha demostrado contribuir en la incidencia de presentación de las retenciones de membranas fetales, siendo los partos de terneros machos los que más predisponen a la madre a retener las membranas fetales. La causa por la que la retención de membranas fetales

se presenta en los bovinos se debe a la falta de separación que ocurre entre los cotiledones fetales y las criptas de las carúnculas maternas, proceso que generalmente empieza en los últimos meses de la gestación (Smith, 2010, p.1437). Actualmente, se han obtenido asociaciones de diversos factores que contribuyen a la falta de separación de la placenta, pero se desconocen los motivos precisos que las ocasionan. Una de las asociaciones que se han determinado es entre las carencias de selenio y vitaminas A y E con una mayor incidencia de retenciones de las membranas fetales (Smith, 2010, p.1437).

2.2.1.3.1 Infecciones uterinas

En el puerperio, una gran parte de los bovinos presentan contaminación uterina causada por varios microorganismos que residen transitoriamente en el tracto reproductivo y que en involuciones uterinas normales, son eliminados rápidamente (Smith, 2010, p.1442). Según Sánchez et al., (2011), existen cuatro grupos principales bajo los cuales se agrupan las bacterias aisladas del útero bovino y estos son: bacterias Gram negativas y positivas, bacterias ácido-alcohol resistentes y bacilos formadores de esporas. Como parte del grupo de las bacterias Gram negativas se ha podido aislar a *Pseudomonas* spp, *E. coli*, *Klebsiella* spp, *Proteus* spp y *Prevotella* spp. Los géneros *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, *Lactobacillus* spp, y *Enterococcus* spp, pertenecen al grupo de las Gram positivas. Dentro del grupo ácido-alcohol resistente se ha podido aislar a *Arcanobacterium pyogenes* (*Corynebacterium-Actinomyces pyogenes*), y como parte de los bacilos formadores de esporas que se han identificado como causantes de problemas reproductivos se puede mencionar al género *Clostridium* spp y en menor grado a *Mycoplasma* spp (Sánchez, 2011). Algunos estudios indican que las infecciones uterinas donde predomina *E. coli* en la primera semana posparto están asociadas con cuadros subsecuentes de endometritis (LeBlanc, 2008).

Según Frazer (2007), las infecciones uterinas se clasifican de acuerdo a la capa del útero que se compromete por la infección. Los términos que se

utilizan por este sistema de clasificación son endometritis, metritis y piometra (Frazer, 2007, p. 195).

2.2.1.3.1.1 Endometritis

La endometritis es la inflamación de la capa glandular del útero, conocida como endometrio. Las características de esta enfermedad son que los animales que la padecen no presentan enfermedad sistémica y la descarga uterina que puede ser purulenta o no está asociada a infecciones bacterianas crónicas del útero que ocurren pasado las 3 semanas pos parto (LeBlanc, 2008). Histológicamente, la endometritis causa interrupciones en el epitelio endometrial, infiltración de células inflamatorias, acumulación de linfocitos, congestión vascular y edema (LeBlanc, 2008).

La endometritis tiende a presentarse entre la segunda y la octava semana post-parto (Smith, 2002, p.1308). Los trastornos locales que se pueden identificar en animales con endometritis consisten en cantidades variables de emisiones de exudado seroso, sero-purulento y muco-purulento, que puede llegar a ser francamente purulento. Generalmente, las secreciones son intermitentes y se identifican de mejor forma durante el estro (Fernández, Silveira y López, 2006). En algunos animales, las secreciones se acumulan en el fondo de los sacos vaginales y son fácilmente observables en los exámenes ginecológicos con el uso de espéculos vaginales (Fernández et al., 2006). En algunas ocasiones, los animales con endometritis pueden presentar signos tales como pirexia, disminución del apetito y de la producción láctea. En el examen ginecológico a través de la palpación, se puede apreciar un incremento en el grosor y el tamaño del útero (Fernández et al., 2006).

La prevalencia de la endometritis varía entre el 25 y el 60% (Fernández et al., 2006). Según Palmer (2008), actualmente el diagnóstico de la endometritis se basa en la presencia de uno o más de los signos clínicos que se exponen a continuación: descargas uterinas anormales visibles en la zona de la vulva, contenido uterino anormal distinguible por examen ginecológico ambos dentro

de las 3 a 6 semanas posteriores al parto, irregularidad en el ciclo estral e incremento en las tasas de servicios por concepción. Adicionalmente, en base a estos signos, la endometritis ha sido sometida a un sistema de subclasificación como endometritis clínica y subclínica, siendo la forma clínica aquella en la que los signos de enfermedad son visibles y detectables, mientras que en la endometritis subclínica se describe la presencia de neutrófilos en el lumen uterino sin descargas aparentes (Palmer, 2008).

2.2.1.3.1.2 Metritis

La metritis es un proceso inflamatorio más profundo y severo donde se compromete toda la pared uterina, incluido el miometrio (Fernández et al., 2006). Los animales con metritis presentan signos de enfermedad sistémica incluyendo fiebre, descarga uterina fétida y de color café, debilidad, anorexia, frecuencia cardíaca elevada y disminución en la producción. Esta alteración generalmente se produce 7 días luego del parto (LeBlanc, 2008) y puede o no haber retención de las membranas fetales (Radostits, Gay, Hinchcliff y Constable, 2007, p. 60). La etiología de la metritis es multifactorial, pero se ha determinado que la combinación de ciertos factores como una acción dispareja de los neutrófilos, una involución uterina anormal en el puerperio, la retención de membranas fetales y la contaminación del útero predisponen a los animales a desarrollar esta patología (Radostits et al., 2007, p. 60). Algunos estudios han demostrado que la flora bacteriana del útero en los días 5-7 post-parto está compuesta por bacterias como *Arcanobacterium* (*Actynomices* o *Corynebacterium pyogenes*), *Bacteroides* spp., *Fusobacterium necrophorum* y *E. coli*, especialmente en animales con retención de membranas fetales (Radostits et al., 2007, p. 60). Otras bacterias que han sido aisladas con menor frecuencia son *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp., *Pseudomona aureginosa*, *Proteus* spp, y *Clostridium* spp (Radostits et al., 2007, p. 60).

2.2.1.3.1.3 Perimetritis

La perimetritis puede ocurrir como consecuencia de una infección uterina grave, por rotura uterina, por penetración de la vagina durante la monta, por

inseminaciones traumáticas o por intervenciones obstétricas y cesáreas. Esta enfermedad tiene como características la inflamación de la superficie peritoneal del útero y puede ir acompañada de una peritonitis localizada o difusa. Posteriormente, se suelen establecer adherencias entre el útero y otros órganos pélvicos y abdominales (Smith, 2010, p. 1443). Los signos clínicos que se presentan en esta patología son fiebre, anorexia parcial o completa, depresión, dolor abdominal y estasis del tracto digestivo (Smith, 2010, p.1444).

2.2.1.3.1.4 Piometra

La piometra se caracteriza por una acumulación de exudado purulento dentro del lumen uterino, la consecuente retención del cuerpo lúteo y la falta de signos de estro (Fernández et al., 2006). En esta condición, el cérvix de los animales enfermos se cierra por completo, por lo que no hay salida de las secreciones a través de la vagina (Fernández et al., 2006). Según Smith (2010), la piometra en las vacas productoras de leche se presenta en animales que ovulan antes de que terminen de eliminar los microorganismos que infectan al útero durante el puerperio. La persistencia del cuerpo lúteo se debe a que el contenido uterino anómalo impide la liberación de prostaglandina F del endometrio, o porque dicha hormona queda secuestrada dentro de la luz uterina (Smith, 2010, p. 1443). Dadas las elevadas concentraciones de progesterona que se presentan por la persistencia del cuerpo lúteo, el útero se somete a la influencia de esta hormona, lo que tiene como consecuencia una depresión de la actividad fagocítica de los neutrófilos uterinos, el cierre completo del cuello uterino y la consecuente persistencia de la infección uterina (Smith, 2010, p. 1443). Generalmente, esta patología no pone en peligro la vida del animal y se ha determinado que también puede ser ocasionada por *Tritrichoma foetus*. El tratamiento de elección para la piometra es el uso de PGF sistémica (Smith, 2002, p. 1309).

2.2.1.4 Patologías

La existencia de enfermedades reproductivas que tienen como consecuencia reabsorciones, abortos, nacimiento de fetos muertos o crías débiles e

infertilidad es uno de los principales problemas que impacta de manera negativa a las producciones de ganado bovino (Motta et al., 2012). Una de las mayores preocupaciones para los médicos veterinarios y los productores de ganado bovino es que, a pesar de manejar las explotaciones adecuadamente a través de planes sanitarios y nutricionales bien estructurados y de llevar a cabo un buen manejo general, existen animales cuyo comportamiento productivo y reproductivo es contradictorio con las medidas practicadas ya que suelen infértiles, presentando repetición de servicios, abortos y reabsorciones embrionarias (Hafez y Hafez, 2005). Según Giraldo et al, (2012), son varias las causas de los trastornos reproductivos como el aborto y la infertilidad y estos pueden ir desde errores básicos de manejo hasta enfermedades multifactoriales. Las enfermedades infecciosas como Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), brucelosis, leptospirosis, Diarrea Viral Bovina (DVB) y en menor grado enfermedades parasitarias y protozoáricas como la Neosporosis y Trichomoniasis respectivamente, producen infertilidad en el ganado bovino tanto de carne como de leche (Motta et al., 2012).

2.2.1.4.1 Diarrea Viral Bovina

2.2.1.4.1.1 Generalidades

El virus de la diarrea viral bovina (VDVB), también conocida como enfermedad de las mucosas es una enfermedad de origen viral, con distribución mundial y que produce infecciones de carácter endémico en casi todas las poblaciones bovinas. El VDVB, afecta principalmente a animales jóvenes criados en sistemas intensivos y semi-intensivos, en los que produce desórdenes de carácter respiratorio, reproductivo y digestivo (Fernández, Costantinini, Barrandeguy, Parreño, Schiappacassi, Maliandi, Leunda y Odeón, 2009).

La característica particular que este virus posee es su variabilidad genética y antigénica, que le ayuda a sobrevivir mediante la creación de cepas mutantes, que le ayudan a evadir la respuesta inmunitaria del hospedador. Otra de las características particulares de este virus es que posee una cepa citopática y una cepa no citopática. La cepa no citopática es la más abundante y la única

que posee la capacidad de producir una infección persistente. La cepa citopática sólo se encuentra en animales con enfermedad de las mucosas y es originada a partir de la cepa no citopática por un reordenamiento del RNA viral (Stanchi, 2010, p. 449).

Los trastornos reproductivos ocasionados por el VDVB son los que mayores implicaciones económicas representan dentro de todos los gastos que implica esta enfermedad (Lértora, 2003).

2.2.1.4.1.2 Etiología

La Diarrea Viral Bovina es una enfermedad viral producida por el virus de Diarrea Viral Bovina (VDVB) que pertenece al género Pestivirus y a la familia Flaviviridae (Obando y Rodríguez, 2005). Los VDVB son esféricos, envueltos y tienen un diámetro de 40 a 60nm. Están compuestos por una cadena simple de ARN compactado por una cápside proteica, que a su vez está rodeada por una membrana de fosfolípidos que posee tres glicoproteínas ancladas a ella (Lértora, 2003). Como característica particular del VDVB, existen dos biotipos de este virus, que se han diferenciado según su efecto sobre los cultivos celulares como citopático (cp) y no citopático (ncp). Adicionalmente, las cepas del VDVB se han dividido en dos genotipos VDVB-I y VDVB-II, según su caracterización molecular (Fernández et al, 2009).

2.2.1.4.1.3 Epidemiología

En el Ecuador no existen datos oficiales sobre la prevalencia de la Diarrea Viral Bovina. Sin embargo, en una investigación realizada por Saa, Gúzman, Perea, García-Bocanegra, Arenas, Carbonero, (2013), se estudiaron 2367 muestras de animales pertenecientes a 346 explotaciones de leche y de doble propósito en las provincias de Azuay, Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo, donde se obtuvieron los resultados que se exponen a continuación. Según el estudio antes mencionado, la seroprevalencia individual real de la DVB alcanzó un valor del 36,2%, la prevalencia por explotaciones fue de 74%, y la prevalencia

intrarebaño alcanzó valores que oscilaron entre el 11.1 y el 100% (Saa et al., 2013).

2.2.1.4.1.4 Patogenia

Como se mencionó anteriormente, el VDVB posee dos biotipos conocidos como citopático (cp) y no citopático (ncp) que se clasifican según su comportamiento en cultivos celulares. Como característica de cada biotipo, se ha determinado que el biotipo cp infecta predominantemente a células epiteliales, mientras que el biotipo ncp ha demostrado afinidad por células linfocitarias (Rondón, 2006).

Una vez que se ha producido el contacto del virus con las membranas mucosas orales o nasales, la replicación de este se desarrolla en las células epiteliales de manera predilecta en las tonsilas palatinas, puntualmente en las células epiteliales de la cripta. La adhesión de la membrana plasmática y la penetración en la célula dan inicio a la replicación, teniendo una proteína de superficie de 50kD como receptor específico, por mediación de la proteína de envoltura E2 (Rondón, 2006). Actualmente, se especula que por el hecho de que el biotipo cp tiene mayores títulos de replicación en la mucosa nasal que el biotipo ncp, el primer biotipo mencionado tiene una diseminación bastante eficiente en animales susceptibles. Las células mitóticamente activas como fagocitos mononucleares, linfocitos y células epiteliales son aquellas por las que el VDVB presenta mayor tropismo (Rondón, 2006).

2.2.1.4.1.5 Manifestaciones Clínicas

Los signos clínicos que se presentan como resultado de la infección por el VDVB varían de manera sustancial entre y dentro de distintas manadas por factores inmunitarios como el estado vacunal de los animales y la presencia o no de animales persistentemente infectados (MacLachlan y Dubovi, 2011, p. 476). Adicionalmente, otros factores como la cepa y el biotipo viral, la edad del hospedador, factores estresantes y otros patógenos presentes contribuyen en la amplia variedad de signos clínicos (Lértora, 2003).

2.2.1.4.1.5.1 Diarrea viral bovina aguda

Se la ha caracterizado como una infección post natal aguda que afecta a bovinos inmunocompetentes y seronegativos, cuya severidad varía en cada animal afectado (Kelling, 1996).

2.2.1.4.1.5.2 Infección subclínica

La mayor parte de infecciones causadas por este virus son subclínicas y de severidad moderada. Los animales con este tipo de infección, generalmente presentan signos como fiebre, leucopenia transitoria, descarga oculonasal; y la mortalidad y morbilidad asociadas con la infección subclínica son alta y baja, respectivamente (Kelling, 1996).

2.2.1.4.1.5.3 Complejo diarrea neonatal bovina

En los animales en los que la transferencia pasiva de anticuerpos falla, el VDVB participa como uno de los componentes del complejo diarrea neonatal bovina (De Verdier Klingenberg, 2000). En este complejo, los neonatos afectados son infestados no solo por el VDVB, sino que dado el efecto inmunodepresivo del mismo, también sufren de infecciones concurrentes por enteropatógenos, que dan como resultado manifestaciones clínicas severas como cuadros entéricos, además de las observadas en los pacientes con VDVB (De Verdier Klingenberg, 2000).

2.2.1.4.1.5.4 Infección aguda severa

La infección aguda severa tiene una alta mortalidad y morbilidad, y los signos característicos de la misma son: respiratorios, fiebre elevada, abortos, diarrea, baja en la producción de leche e incluso muerte súbita (Lértora, 2003).

2.2.1.4.1.5.5 Síndrome hemorrágico

El genotipo 2 del VDVB es el responsable de producir el síndrome hemorrágico en los animales afectados. Estos animales se caracterizan por presentar mucosas anémicas que a su vez tienen hemorragias petequiales y equimóticas, hemorragias en varios sistemas de órganos, hipertermia, diarrea con sangre,

epistaxis, anemia, trombocitopenia, leucopenia y muerte (Stanchi, 2010, p. 449).

2.2.1.4.1.5.6 Enfermedades respiratorias

Aunque el VDVB per se no ocasiona enfermedades respiratorias, este sí produce una inmunodepresión tanto pulmonar como sistémica, que tiene como consecuencia un incremento en la patogenicidad de los agentes respiratorios (Lértora, 2003).

2.2.1.4.1.5.7 Trastornos reproductivos

2.2.1.4.1.5.7.1 Infección congénita

Cuando el biotipo ncp infecta al feto, las posibles consecuencias son abortos, nacimiento de terneros muertos, efectos teratogénicos o la infección congénita que persiste en el neonato. Cuando la infección se da en el primer trimestre de embarazo, la principal consecuencia es el aborto de un conceptus que es demasiado pequeño como para ser percibido por el humano encargado (Manual de la OIE sobre animales terrestres, 2008). En estos casos, la vaca abortada volverá a presentar señales de estro, pero presentará fallas en el mantenimiento de la gestación, como sucede en los casos de muerte embrionaria temprana. Otro posible resultado de este tipo de infección es la muerte del producto, la consecuente reabsorción de fluidos por parte del feto, lo que a su vez tiene como consecuencia la momificación del mismo (Manual de la OIE sobre animales terrestres, 2008). Generalmente, los fetos abortados presentan edema subcutáneo, además de efusiones pleurales y peritoneales. Adicionalmente, en este tipo de infección se pueden presentar anomalías congénitas como retraso en el crecimiento, defectos del Sistema Nervioso Central (SNC) como hipoplasia cerebelar y desmielinización, defectos oculares como cataratas y atrofia retinal, y en algunos casos incluso se pueden presentar defectos esqueléticos como la artrogrifosis en los casos más extremos (Manual de la OIE sobre animales terrestres, 2008).

Cuando los fetos nacen muertos, se ha propuesto que la infección congénita se dio en los 150 días de gestación, y los ternos parecen estar totalmente desarrollados pero no logran sobrevivir (Manual de la OIE sobre animales terrestres, 2008). En los casos en que la infección se da luego de los 110 días de gestación, el sistema inmunológico del feto estará totalmente desarrollado, por lo que comúnmente se formarán anticuerpos que permitirán un ternero y nacimiento normal (Manual de la OIE sobre animales terrestres, 2008).

2.2.1.4.1.5.8 Animales persistentemente infectados

Los animales persistentemente infectados (PI), son aquellos donde es posible aislar el virus ya sea de sangre o tejidos en dos ocasiones seguidas, con un intervalo de no menos de dos semanas (Stanchi, 2010, p. 450). Las principales características de estos animales son que permanecen virémicos a lo largo de toda su vida y no tienen la capacidad de producir anticuerpos contra la cepa que los infectó y creó la inmunotolerancia (Stanchi, 2010, p. 450). Para que un animal sea PI, el feto debe infectarse exclusivamente con el biotipo ncp antes de los 110 de gestación, lo que implica que el sistema inmunológico del animal no se ha desarrollado, por lo que el VDVB no es reconocido como agente infeccioso por el organismo del animal (Manual de la OIE sobre animales terrestres, 2008). No existen lesiones patognomónicas en estos animales, y los signos varían desde animales aparentemente normales hasta animales débiles que presentan dificultad para levantarse y succionar (Manual de la OIE sobre animales terrestres, 2008).

2.2.1.4.1.5.9 Enfermedad de las mucosas

La enfermedad de las mucosas (EM) es una condición esporádica en la que únicamente los animales PI entre seis meses y dos años de edad sufren de una sobreinfección con el biotipo cp (Markey, Leonard, Archambault, Cullinane, Maguire, 2013, p.620). El cuadro clínico de esta patología consiste en depresión, fiebre, descarga nasal mucopurulenta, ptialismo, diarrea acuosa profusa y cojeras. La fatalidad de esta enfermedad es del 100%, y solo un pequeño porcentaje de los animales logra sobrevivir unos pocos meses, hasta

alcanzar un estado de debilidad severa y la muerte en poco tiempo (Markey et al, 2013, p. 620).

2.2.1.4.1.6 Diagnóstico

Sin duda alguna, el diagnóstico adecuado y oportuno del VDVB juega un rol fundamental en el control de esta enfermedad. Actualmente, existen varios métodos diagnósticos que facilitan la identificación oportuna de animales enfermos, PI y sanos (Dubovi, 2013).

Según Ridpath (2010), varios autores consideran que el aislamiento viral es el “gold standard” para el diagnóstico del VDVB. Sin embargo, según Dubovi (2013), las principales desventajas y debilidades de esta prueba radican en el hecho de que el aislamiento viral no siempre es posible de obtener en muestras clínicas por factores como el momento de recolección de la muestra, el transporte de la muestra y el procesamiento de la misma. Para poder recolectar una muestra válida, es importante que el responsable de su obtención conozca sobre la patogénesis de la enfermedad infecciosa para de esta manera poder recolectar una muestra correcta en el momento apropiado, maximizando así las posibilidades de obtener una espécimen viable para el aislamiento viral (Dubovi, 2013). En los casos en los que se está obteniendo muestras de un animal PI, es muy probable que sí sea posible aislar el virus de cualquier tipo de muestra, pero en los casos en los que la naturaleza de la infección no es conocida, se recomienda recolectar una muestra de sangre para que las células mononucleares sean identificadas (Dubovi, 2013).

Actualmente, tanto por facilidad de desarrollo como por costos más bajos, la detección de antígenos por medio de inmunohistoquímica o ELISA, y la detección de ácidos nucleicos por medio de PCR son las pruebas más comúnmente utilizadas para el diagnóstico del VDVB (Ridpath, 2010). Por el hecho de que ninguna prueba diagnóstica puede diferenciar entre infección aguda y animales PI en una sola muestra, es indispensable que se colecten dos muestras del mismo animal con un intervalo de 3 semanas, para poder identificar a los PI (Ridpath, 2010).

2.2.1.4.1.7 Prevención y Control

Los animales persistentemente infectados con el VDVB son sin duda el principal mecanismo por el cual el pestivirus se mantiene dentro de una población de bovinos, lo que convierte a estos animales en la principal fuente de transmisión para animales susceptibles (Givens y Marley, 2013). En este sentido, una de las mejores herramientas para controlar la expansión de la enfermedad dentro de una población consiste en la identificación y la consecuente eliminación de los PI, para evitar que el virus se mantenga dentro de la población e infecte a otros animales (Givens y Marley, 2013).

La vacunación ha sido un método eficiente en disminuir la diseminación del VDVB, pero no es capaz de eliminar el virus de una población por sí solo. Esto último se debe al hecho de que como se mencionó anteriormente, existe una alta heterogeneidad en las cepas del VDVB, la protección fetal otorgada por la vacuna es muy baja, y sobre todo porque la vacunación no elimina a los animales PI de una población (Ridpath, 2010).

Con estos antecedentes, se puede decir que los objetivos de la vacuna contra el VDVB son prevenir la enfermedad clínica luego de la exposición, y prevenir la infección fetal, de la cual derivan los animales PI (Ridpath, 2010). Los programas de vacunación deben ser diseñados considerando factores estresantes que disminuyen la respuesta de los animales a las vacunas, y diferencias en la respuesta inmunológica relacionadas con la edad y con la gestación (Ridpath, 2010).

2.2.1.4.2 Brucelosis

2.2.1.4.2.1 Generalidades

El género *Brucella* se compone particularmente por bacterias patógenas que afectan a mamíferos, en los que produce enfermedades crónicas. Dentro de todas las especies de *Brucella* que existen, por lo menos cuatro son patógenas para el hombre, que adquiere la enfermedad a través de los reservorios animales, por lo que se considera a la Brucelosis como una zoonosis (Stanchi, 2010, p. 281). Además de la importancia que esta enfermedad tiene en lo que

a la salud pública respecta, desde el punto de vista económico, las pérdidas por esta enfermedad son muy importantes para el sector pecuario. Los problemas reproductivos producidos por Brucelosis como abortos, neonatos débiles, metritis e infertilidad, afectan no solo a los bovinos sino también a ovinos, caprinos, porcinos, entre otros, dando como resultado una disminución en la producción de carne, leche y lana; además de los altos costos que implica el tratamiento médico de humanos y animales con Brucelosis (Stanchi, 2010, p. 281).

2.2.1.4.2.2 Clasificación y Morfología:

Actualmente, el género *Brucella* ha sido incluido dentro del phylum de las Proteobacterias, específicamente en la clase α -proteobacterias (Stanchi, 2010, p. 281). Las Brucelas, son cocobacilos gramnegativos, aerobios estrictos, inmóviles, no esporulados y no poseen cápsula; presentan un metabolismo de tipo oxidativo (Stanchi, 2010, p. 282). Dentro del género *Brucella*, se han identificado seis especies que se han agrupado en base a características metabólicas, culturales, estructurales, de huésped preferencial y de patogenicidad. Los seis grupos antes mencionados corresponden a *B. abortus*, *B. mellitensis*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis* y *B. canis* (Stanchi, 2010, p. 282). Dado que el presente estudio se realizó en bovinos, la revisión bibliográfica sobre esta bacteria se enfocará principalmente en *B. abortus*, que es la especie que afecta principalmente a bovinos y es transmitida a los humanos (Radostits et al., 2007, p. 966).

2.2.1.4.2.3 Epidemiología:

La Brucelosis bovina, también conocida como enfermedad de Bang, es producida por la especie *Brucella abortus* y es la principal causa de abortos en los bovinos, en países donde la enfermedad no se encuentra controlada (Radostits et al., 2007, p. 966). Adicionalmente, la brucelosis es una enfermedad zoonótica distribuida mundialmente, y que tiene serias implicaciones económicas, especialmente en países en desarrollo. La prevalencia de la infección por esta enfermedad varía considerablemente entre manadas, áreas y países (Radostits et al., 2007, p. 966).

En el ganado bovino, la infección se puede presentar en animales de todas las edades, pero su presentación es más común en animales sexualmente maduros. Generalmente, se presentan brotes de abortos en novillas que no han sido vacunadas, luego del quinto mes de gestación. En los machos infectados con *Brucella abortus*, los principales signos son orquitis, epididimitis y vesiculitis seminal (Radostits et al., 2007, p. 966).

Según el Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina, (2009), se caracterizaron cinco regiones epidemiológicas en el Ecuador, de acuerdo a la prevalencia de esta enfermedad, que se determinó mediante la encuesta serológica en la población bovina de las provincias de la Sierra y Costa ecuatorianas realizada por el Programa Nacional de Sanidad Animal del Ministerio de Agricultura y Ganadería en 1979, información que permanece como único trabajo de cobertura regional disponible en la actualidad (Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina, 2009)

La región Uno de Alta Prevalencia, corresponde a las provincias del norte de la sierra Ecuatoriana, integrada por Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo; y tiene una prevalencia del 1.97 al 10.62%. La región Dos de Alta prevalencia, corresponde a las provincias de Esmeraldas, Manabí, Santa Elena, Guayas, Los Ríos, El Oro, y Santo Domingo de los Tsáchilas; y presenta una prevalencia entre 4.2 y 10.62% (Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina, 2009). La región Tres de Baja Prevalencias se conforma por las provincias de Bolívar, Cañar, Azuay y Loja, y su prevalencia es de 1.3 al 2.6% (Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina, 2009). La región Cuatro de Baja Prevalencia corresponde a las provincias amazónicas sobre las que no se dispone de información, pero se ha planteado la hipótesis de que los niveles de ocurrencia son bajos, por los sistemas de producción existentes en esta región (Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina, 2009). Finalmente, la última región epidemiológica caracterizada es la Región Cinco Indemne, correspondiente a la Islas Galápagos; donde se determinó que las Islas son indemnes a la

Brucelosis, luego de obtener resultados negativos de muestreos serológicos en algunas propiedades ubicadas en las islas Santa Cruz, Isabela, San Cristóbal y Floreana (Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina, 2009).

2.2.1.4.2.4 Patogenia:

De manera general, los animales afectados con brucelosis adquieren la infección de forma directa, a través de las mucosas como por ejemplo la oronasal. Esto ocurre por el hecho de que los animales son susceptibles a ingerir alimentos contaminados o a inhalar polvo proveniente de establos que poseen microorganismos secretados por secreciones corporales como la leche o exudados vaginales que se presentan luego del aborto en animales infectados (Rivers, Andrews, González-Smith, Donoso y Oñate, 2006). Una vez que la bacteria ingresa al organismo del animal, independientemente de la vía de entrada, las células fagocíticas ya sea en su interior o de manera libre, transportan a las brucelas a los ganglios linfáticos que se encuentran más cerca de la zona de entrada. Cuando las bacterias que ingresaron no son destruidas, estas tienen la capacidad de permanecer vivas en el interior de la célula por largos periodos de tiempo. El periodo de incubación de *Brucella* dentro de los ganglios linfáticos puede variar de dos semanas a siete meses (Songer y Post, 2005, p. 203). La hiperplasia reticuloendotelial y linfática es la manera en que los ganglios linfáticos responden a la agresión bacteriana a la que se somete el organismo con la presencia de esta enfermedad, y su aparición puede tardar varias semanas, y persistir durante meses (Rivers et al, 2006). Dentro de los fagosomas, *Brucella* tiene la capacidad de sobrevivir y multiplicarse, acidificando rápidamente su medio, inhibiendo de esta manera la fusión del fagosoma que la contiene y el lisosoma. Mediante estudios experimentales, se ha logrado identificar que la infección por *Brucella* tiene dos fases. La primera fase se produce en las primeras dos semanas, donde la bacteria se multiplica rápidamente; y en la segunda fase, el número de bacterias se estabiliza hasta la quinta o sexta semana de infección, para luego decrecer de forma gradual, hasta desaparecer (Rivers et al, 2006).

2.2.1.4.2.5 Signos Clínicos

En el ganado vacuno, la brucelosis es una enfermedad que afecta primordialmente a las hembras, ya que los toros pueden infectarse, pero no diseminan la infección venéreamente con facilidad (Songer y Post, 2005, p. 201). En los machos, *Brucella abortus* se localiza en los testículos, donde produce orquitis, epididimitis e inflamación de los órganos reproductivos unilateralmente, además de pérdida de la libido. Por su parte, los principales signos encontrados en las vacas son abortos durante o después del quinto mes de gestación, nacimiento de terneros débiles o retenciones placentarias. Aunque las vacas infectadas tienden a abortar una sola vez, la placenta es colonizada por *Brucella* en cada gestación (Songer y Post, 2005, p. 201).

2.2.1.4.2.6 Diagnóstico

En la actualidad, las pruebas serológicas basadas en la aglutinación siguen siendo las más utilizadas en el diagnóstico de brucelosis en varias especies animales por su aplicación simple que no requiere de reactivos adicionales. Dentro de todas las pruebas de aglutinación, la prueba de Rosa de Bengala es ampliamente utilizada en medicina veterinaria para realizar un diagnóstico general "screening" y un diagnóstico rápido en medicina humana de brucelosis, especialmente en zonas endémicas. La prueba de Rosa de Bengala es altamente sensible, fácil de usar, los resultados se obtienen rápidamente, y tiene un costo mínimo en relación a los otros métodos diagnósticos (Cho, Nam, Kim, Heo, Cho, Hwang, Kim, Kim, Jung y More, 2010). Según un estudio realizado por Matope, Muma, Toft, Gori, Lund, Nielsen y Skjerve (2011), la sensibilidad de la prueba de Rosa de Bengala es de 94.7%, y la especificidad de la misma prueba es de 99.0%.

Adicionalmente, el diagnóstico de laboratorio para brucelosis se basa en la examinación directa de especímenes clínicos mediante la utilización de cultivos bacterianos y serología (Songer y Post, 2005, p. 203). Para realizar cultivos bacterianos se recomienda la utilización de especímenes tales como tejidos fetales abortados, especialmente de pulmones, bazo y estómago, placenta,

nódulos linfáticos, útero post parturiento, descargas vaginales, semen, orina y médula ósea. El cultivo puede ser hecho en agar sangre y para la incubación se debe proporcionar un ambiente que contenga de 8% a 10% de CO₂, durante 3 a 5 días. La prueba de anillo en leche es otro método diagnóstico para esta enfermedad (Songer y Post, 2005, p. 203).

Según Cantero, Mon, Cravero, Samartino, Conde, Gutiérrez, Rovira, Gil, Piaggio, Núñez y Romano (2011), las pruebas serológicas más utilizadas para el diagnóstico de brucelosis son la aglutinación con antígeno en placa (BPA), seroaglutinación en tubo (SAT) y fijación de complemento.

2.2.1.4.2.7 Prevención y Control

El diagnóstico constante y la eliminación mediante el sacrificio de animales infectados es el único método eficiente para el control de la brucelosis en animales. El aislamiento de animales sospechosos y los programas Nacionales de erradicación en cada país, han favorecido a la erradicación de esta enfermedad en países como los Estados Unidos de América (Songer y Post, 2005, p. 206). La vacunación en el ganado ha sido un método bastante eficiente en el control de la brucelosis bovina. Actualmente, existen dos vacunas contra la brucelosis. La vacuna cepa 19, se utiliza en animales adultos y en animales jóvenes a los 4 y 12 meses de edad. La desventaja de esta cepa radica en el hecho que produce falsos positivos en las pruebas serológicas, ya que las mismas no pueden diferenciar entre los anticuerpos vacunales y los naturales (Songer y Post, 2005, p. 206). La cepa RB-51 es una vacuna más nueva que la cepa 19 y se distingue por ser no virulenta. Adicionalmente, otra diferencia que la cepa RB-51 mantiene frente a la cepa 19, consiste en que los anticuerpos vacunales de animales inmunizados con esta cepa no son distinguidos en las pruebas serológicas. Los terneros deben ser vacunados a la edad de 4 y 10 meses (Songer y Post, 2005, p. 206).

Aunque el tratamiento para animales con brucelosis no es propugnado por los gobiernos, se sabe que *Brucella* spp, es susceptible a agentes antimicrobianos como tetraciclinas, rimfanpicina, fluoroquinolonas, aminoglucósidos y

estreptomycin. En casos de brucelosis humana, el tratamiento indicado consiste en una combinación de doxiciclina con rifampicina durante 6 semanas; en los casos en que se presentan complicaciones como endocarditis o meningitis por brucelosis, se recomienda una terapia con rifampicina, tetraciclinas, y aminoglucósidos (Songer y Post, 2005, p. 207).

2.2.1.4.3 Leptospirosis

2.2.1.4.3.1 Generalidades

En la actualidad, se han identificado más de 200 serovariedades de *Leptospira*, las cuales producen una infección conocida como leptospirosis y que es reconocida como una de las principales causas de abortos, parto de fetos muertos y nacimiento de terneros débiles alrededor de todo el mundo (Frazer, 2007, p. 154). La leptospirosis es considerada como la zoonosis de mayor distribución a nivel mundial. Las grandes pérdidas económicas asociadas a la leptospirosis, se deben principalmente a los fenómenos como la agalactia, los abortos y la muerte perinatal producida por esta enfermedad (Stanchi, 2010, p. 320).

2.2.1.4.3.2 Clasificación y morfología

Las leptospiras son espiroquetas móviles, que tienen un diámetro de 0,1 a 0,3 μ m y una longitud de 6 a 20 μ m. Son aeróbicas obligadas, gramnegativas y tienen la capacidad de sobrevivir en el ambiente por un periodo de hasta 6 meses (Smith, 2010, p. 968). Los ambientes húmedos y calientes, con un pH oscilante entre 7,2 y 8 son los predilectos para esta bacteria (Smith, 2010, p. 968). La clasificación y taxonomía actual de *Leptospira* consiste en un sistema complejo basado en las características genéticas y serológicas de este grupo de bacterias. La clasificación serológica de *Leptospira* consiste en el agrupamiento antigénico del lipopolisacárido (LPS) y otros antígenos de superficie, mediante la prueba de absorción por aglutinación cruzada (CAAT) (Smith, 2010, p. 968). Las serovariedades que presentan relación antigénica son combinadas en serogrupos mayores, pero también pueden ser caracterizadas en serotipos (Smith, 2010, p. 968). Según la nomenclatura

actual, las especies genómicas identificadas son *L. interrogans*, *L. borgpetersenii* y *L. kirschneri*. Dentro de la especie genómica *L. interrogans* se encuentran las serovariedades *Canicola*, *Pomona*, *Icterohaemorrhagiae*, *Bratislava* y *Hardjo* (tipo *hardjoprajitno*). Las serovariedades *Hardjo* (tipo *hardjo-bovis*), y *Ballum* conforman la especie genómica *L. borgpetersenii*, y la serovariedad *Gryppotyphosa* compone a la especie genómica *L. kirschneri* (Smith, 2010, p. 968).

2.2.1.4.3.3 Epidemiología

La leptospirosis es una enfermedad caracterizada por su distribución a nivel mundial. Las leptospiras generalmente colonizan los túbulos contorneados proximales del riñón y pueden ser excretadas por la orina de los animales reservorios por largos periodos de tiempo, lo que facilita la transmisión de hospedador a hospedador (Stanchi, 2010, p. 320). La transmisión a los hospedadores accidentales se da principalmente por contacto con alimentos o agua contaminados con orina proveniente de hospedadores de mantenimiento infectados (Smith, 2010, p. 968). Otra forma de transmisión es cuando los animales tienen contacto con fetos infectados o secreciones uterinas. Dada la afinidad que las leptospiras tienen por ambientes cálidos, se ha determinado que las infecciones de animales en zonas cálidas son mayores y la enfermedad tiene una incidencia estacional que incrementa durante el verano y el otoño en zonas frías y durante la estación lluviosa en zonas cálidas (Smith, 2010, p. 968).

Se ha determinado que los bovinos son los principales reservorios de mantenimiento de las serovariedades *hardjo*, tipo *harjoprajitno* y *hardjo-bovis*, siendo esta última la más común alrededor del mundo. Adicionalmente, la literatura indica que el ganado bovino también puede ser tanto anfitrión de mantenimiento como accidental de las serovariedades *pomona* y *gryppotyphosa*, las cuales están implicadas principalmente en la infección renal de esta especie de animales (Smith, 2010, p. 968).

Los demás serotipos tienen preferencia por otros animales como por ejemplo icterohaemorrhagiae afecta a ratas, canicola afecta a los perros y pomona tiene predilección por los cerdos (Roca, 2006). A pesar de lo antes mencionado, estas serovariedades también pueden ser encontradas con cierta frecuencia en el ganado bovino (Songer y Post, 2005, p. 247).

Según la OIE (s.f), se desconoce la magnitud de la leptospirosis en el Ecuador. En el año 2004, se identificaron 72 predios afectados, donde se reportaron 482 casos positivos en una población de 1,018 animales (OIE, s.f).

2.2.1.4.3.4 Patogenia

Generalmente, las leptospiras acceden a nuevos huéspedes a través de las mucosas conjuntival, oral y nasal, y a través de abrasiones en la piel. La ingestión de agua contaminada facilita el ingreso del germen por las mucosas digestivas de los animales (Roca, 2006). Una vez que las leptospiras han ingresado al organismo a través de las mucosas, estas ingresan rápidamente al torrente sanguíneo alcanzando y distribuyéndose en todos los tejidos. Entre las 24-48 horas de infección, las leptospiras pueden ser aisladas de todos los tejidos del cuerpo de los animales, incluido el líquido cefalorraquídeo, aunque no hayan manifestaciones neurológicas en los pacientes (Stanchi, 2010, p. 323). La severidad de las lesiones producidas por *Leptospira* tiene una correlación proporcional con la cantidad de microorganismos presentes. La respuesta inmunitaria del hospedador es igual de rápida que la diseminación de la bacteria, por lo que se presenta una rápida formación de anticuerpos específicos que conducen a una eliminación de las bacterias de los tejidos, excepto del riñón, incluso antes de que el animal desarrolle uremia, ictericia u otro tipo de secuela clínica (Stanchi, 2010, p. 323).

2.2.1.4.3.5 Signos Clínicos

Como se mencionó anteriormente, la serovariedad hardjo tiene preferencia por los bovinos como hospedadores, en los que produce abortos esporádicos e infertilidad sin que se presenten otros signos clínicos (Songer y Post, 2005, p. 247). Una particularidad de la infección por la serovariedad antes mencionada

es que la expulsión fetal suele retardarse algunos días después de la muerte del feto. Las bacterias suelen colonizar con frecuencia la parte superior del aparato reproductivo, al igual que los riñones. En la fase aguda de la infección, ciertos animales hembras pueden presentar mastitis grave a moderada (Songer y Post, 2005, p. 247). En algunos animales, se puede presentar fiebre, agalactia y mastitis conjuntamente, lo que se conoce como "síndrome de la leche caída" o "mastitis flácida". En los casos en que la infección es producida por variedades no adaptadas al hospedador, se presentan signos más graves como anemia hemolítica, hepatitis, infección sistémica grave y nefritis intersticial que se presenta con más frecuencia en becerros que en adultos (Smith, 2010, p. 968).

2.2.1.4.3.6 Diagnóstico

Para el diagnóstico de leptospirosis se deben considerar los antecedentes clínicos y de vacunación. La mayoría de pruebas diagnósticas de leptospirosis son las que identifican anticuerpos contra esta bacteria y los que identifican su ADN en los tejidos o secreciones corporales del paciente (Frazer, 2007, p. 155). Las pruebas serológicas de microaglutinación (MAT) que consisten en la identificación de anticuerpos son un método diagnóstico fácil, económico y accesible, por lo que se lo suele utilizar comúnmente (Frazer, 2007, p. 155).

Para estas pruebas se sugiere utilizar antígenos vivos de *Leptospira* (Songer y Post, 2005, p. 249). Los métodos utilizados para identificar leptospirosis o su ADN en tejidos o líquidos corporales son inmunofluorescencia, cultivo, histopatología con coloraciones especiales y PCR (Frazer, 2007, p. 156).

2.2.1.4.3.7 Prevención y Control

Los métodos de prevención más eficaces sobre todo para las serovariedades no adaptadas al hospedador consisten en el drenaje o separación del agua estancada, mantenimiento de ambientes secos y limpios, limitar el contacto del alimento y de los bovinos con roedores u otros animales salvajes (Post y Songer, 2005, p.250). En el caso de las serovariedades adaptadas al hospedador como hardjo, es importante eliminar o tratar a los portadores

renales ya que mediante su orina se disemina la enfermedad (Smith, 2010, p. 970).

En la actualidad se cuenta con vacunas pentavalentes y monovalentes. La vacuna inactivada pentavalente se utiliza para combatir infecciones contra *L. canicola*, *grippotyphosa*, *hardjo*, *icterohaemorrhagiae*, y *pomona* es recomendada para usar en becerros y bovinos adultos, con el fin de prevenir la enfermedad clínica. La desventaja de esta vacuna es que no siempre evita la colonización renal y la eliminación de la bacteria por la orina producida por la serovariedad *hardjo* tipo *hardjo-bovis* (Smith, 2010, p. 970). Con estas consideraciones se ha desarrollado la vacuna monovalente con la serovariedad *hardjo* tipo *hardjo-bovis*, que previene la infección de la serovariedad *hardjo*, y la consecuente colonización renal y reproductiva (Smith, 2010, p. 970). La duración de la inmunidad vacunal es de 6 a 12 meses (Post y Senger, 2005, p. 250).

En los casos de leptospirosis aguda, el tratamiento de elección consiste en el uso de penicilina o estreptomina. Se ha descrito el uso de doxiciclina en humanos y perros infectados, especialmente durante la fase de leptospiruria (Post y Senger, 2005, p. 250). Es importante mencionar que los agentes antimicrobianos son poco efectivos cuando el daño renal es severo, condición en la cual se recomienda dar una terapia de apoyo basada en fluidoterapia electrolítica (Post y Senger, 2005, p. 250).

2.2.1.4.4 Neosporosis

2.2.1.4.4.1 Generalidades

La neosporosis bovina es una enfermedad producida por el parásito protozoario intracelular *Neospora caninum*. Es una enfermedad grave que afecta a varias especies animales en todo el mundo como por ejemplo caprinos, ovinos, venados, rinocerontes, equinos, bovinos y alpacas (Frazer, 2007, p. 159). Aunque en la actualidad se conoce que esta enfermedad

produce importantes pérdidas productivas y reproductivas, y consecuentemente económicas, todavía no se ha logrado obtener un tratamiento preventivo para la infección en bovinos (Moore, Odeón, Venturini y Campero, 2005). Los estadios parasitarios que se reconocen en el ciclo de este parásito son taquizoíto, bradizoíto y esporozoíto (McAllister, Dubey, Lindsay, Jolley, Wills y McGuire, 1998).

2.2.1.4.4.2 Clasificación y morfología

Neospora caninum es un parásito protozooario intracelular obligado que pertenece al phylum Apicomplexa y a la familia Sarcocystidae. La morfología de *N. caninum* es muy parecida a la de *Toxoplasma gondii*, mientras que taxonómicamente se lo ha relacionado con otros protozoarios como *Hammondia heydorni* e *Isospora bigemina*. Los estadios parasitarios reconocidos en el ciclo de *N. caninum* son: taquizoíto, bradizoíto y esporozoíto (Moore, Odeón, Venturini y Campero, 2005). Los taquizoítos presentan una forma que puede ser globular o de media luna, tienen una longitud de 3 a 7 μm y un ancho de 1 a 5 μm . A diferencia de los taquizoítos, los bradizoítos tienen una replicación más lenta y se encuentran dentro de unos quistes tisulares que poseen una forma redonda u ovalada. Los bradizoítos pueden medir hasta 107 μm y poseen una pared de 4 μm de ancho. Tanto los taquizoítos como los bradizoítos son intracelulares (Moore et al., 2005). Los esporozoítos son los ooquistes que se eliminan en las heces del hospedador definitivo, pueden ser esféricos o subsféricos, tienen un tamaño del 10 a 11 μm , son incoloros y cada ooquiste posee dos esporocistos los que a su vez contienen cuatro esporozoítos cada uno (Moore et al., 2005).

2.2.1.4.4.3 Epidemiología

La neosporosis es una enfermedad de distribución mundial que afecta a varios animales como bovinos, perros, ovinos, caprinos, equinos, entre otros (Dubey, Schares, Ortega-Mora, 2007). En el Ecuador no existen datos oficiales sobre la prevalencia de esta enfermedad; sin embargo, Lozada Rivadeneira (2004) realizó un estudio para Neosporosis, para el cual se procesaron 395 muestras

en la sierra centro norte del Ecuador, 37 en Cotopaxi, 40 en Imbabura, 261 de Pichincha y 57 en Tungurahua. Los animales muestreados provenían de 34 hatos con distintas tasas de abortos y reabsorciones que además llevaban a cabo esquemas vacunales contra IBR, Diarrea Viral Bovina, leptospirosis y Brucelosis (Lozada, 2004). Dentro de las 395 muestras, 241 no presentaban antecedentes de abortos y/o reabsorción, 110 presentaron por lo menos un aborto, 27 tenían antecedentes de reabsorción fetal y 17 animales presentaron antecedentes de abortos y reabsorciones (Lozada, 2004). De acuerdo a los resultados obtenidos mediante el uso de un kit comercial de ELISA basado en serología fueron positivos el 48,1% de los animales con antecedentes de reabsorción fetal, el 71,8% de animales con por lo menos un aborto, el 76,5% de los animales con antecedentes de abortos y reabsorciones fetales y el 25,3% de los animales sin antecedentes de reabsorciones y/o abortos (Lozada, 2004).

2.2.1.4.4 Patogenia

N. caninum posee tres estados parasitarios infecciosos que son los taquizoitos, bradizoitos y esporozoitos. Se sabe que los perros y los coyotes son los únicos hospedadores definitivos, mientras que el ganado y algunos otros tipos de animales de sangre caliente pueden actuar como hospedadores intermediarios. Los taquizoitos y los bradizoitos se desarrollan en los tejidos de los hospedadores intermediarios y definitivos, mientras que los esporozoitos solo están presentes y son excretados por las heces del hospedador definitivo (Dubey, Buxton y Wouda, 2006). *N. caninum* tiene la capacidad de dividirse rápidamente una vez que ingresa a la célula, siendo capaz de infectar a varios tipos celulares como células neurales, células del endotelio vascular, hepatocitos, miocitos, células renales, macrófagos alveolares y a los trofoblastos placentarios. Los taquizoitos representan un estado de replicación lenta del parásito y esta forma puede ser encontrada en tanto en perros como en fetos bovinos con infección congénita. Esta forma del parásito puede crear quistes tisulares que se pueden encontrar en el cerebro y médula, y en menor grado en músculo esquelético (Dubey, Buxton y Wouda, 2006).

La transmisión de *N. caninum* se puede dar por dos vías: la vía transplacentaria exógena y la transplacentaria endógena. La vía exógena consiste en la eliminación de ooquistes eliminados en las heces de los hospedadores definitivos, la consecuente ingestión de los mismos por parte de los bovinos a través del agua o el pasto. Esto a su vez tiene como resultado la infección del feto en el caso de las hembras (Dubey, Buxton y Wouda, 2006). Los animales con infección congénita adquirida a través de la vía endógena, llevan la infección consigo hasta la adultez lo que conlleva a la infección de sus fetos y se conoce como transmisión. Esta última es la vía a través de la cual el parásito es propagado dentro de una manada (Dubey, Buxton y Wouda, 2006).

2.2.1.4.4.5 Signos Clínicos

Según Haddad, Dohoo y VanLeewen (2005), existen dos factores principales que determinan qué manifestaciones clínicas presentará el animal infectado y estos son el hecho de que el animal esté o no preñado el momento que contrae la infección y la fase de la gestación en la que la infección ocurre que se divide en temprana, media y tardía.

En los casos en que la infección se desarrolla cuando el animal no está preñado, los animales no presentan signos clínicos pero puede haber seroconversión, además del desarrollo de inmunidad mediada por células que involucra proliferación celular y producción de interferón-gamma (IFN-gamma) (Haddad, Dohoo y VanLeewen, 2005). El IFN-gamma producido por las células T-CD4 en este tipo de infección, produce una multiplicación limitada de parásitos intracelulares y la persistencia de la infección por bradizoitos en quistes tisulares en el sistema nervioso central (Haddad, Dohoo y VanLeewen, 2005).

Generalmente, cuando la infección se da durante los primeros 3 meses de gestación (gestación temprana), se produce muerte embrionaria y repetición de los signos de estro (Haddad, Dohoo y VanLeewen, 2005). En los casos en que la infección ocurre durante la gestación media (entre los 3-7 meses de

gestación), el feto puede ser abortado o puede llegar a nacer muy débil y anormal. En esta fase de la gestación, el sistema inmunológico del feto no está desarrollado, por lo que su única defensa proviene de la respuesta inmunológica materna. En los casos en que esta respuesta no es lo suficientemente fuerte, el feto es abortado, pudiendo demostrar en ciertos casos autólisis (Dubey, Buxton y Wouda, 2006). En los casos en que la infección se da en la gestación tardía, los fetos que tienen un sistema inmunológico más desarrollado pueden nacer siendo débiles y con una formación muy pobre del Sistema Nervioso Central o con encefalomiелitis por el daño tisular producido por los taquizoítos en el SNC (Haddad, Dohoo y VanLeewen, 2005). También existe la posibilidad de que los animales infectados en esta fase de la gestación nazcan normales pero siendo seropositivos a *N. caninum* (Dubey, Buxton y Wouda, 2006).

2.2.1.4.4.6 Diagnóstico

Actualmente, la Organización Mundial de la Salud no ha estandarizado ningún protocolo diagnóstico para la neosporosis (Bartels, van Maanen, van der Meulen, Dijkstra, Wouda, 2012). Tomando en cuenta lo antes mencionado, varios países en la Unión Europea han establecido laboratorios certificados y de referencia nacional para el diagnóstico de esta enfermedad. Dentro de los métodos diagnósticos, la detección de anticuerpos en suero o en leche del tanque de enfriamiento por medio de métodos como ELISA y pruebas de fluorescencia indirecta (IFA) son los más óptimos y recomendados (Bartels et al., 2012). La ventaja entre la prueba IFA y ELISA es que la primera no tiene reacción cruzada con *Toxoplasma gondii*, por lo que se la recomienda con mayor seguridad. Adicionalmente, existen otros métodos diagnósticos como PCR en sangre o semen de animales sospechosos y pruebas de aglutinación directa (Ortega-Mora, Fernández-García y Gómez-Bautista, 2006). Cabe recalcar que estas últimas pruebas diagnósticas mencionadas no han sido validadas para el diagnóstico de esta enfermedad, sino más bien se las ha usado con propósito investigativos (Ortega-Mora et al., 2006).

2.2.1.4.4.7 Prevención y control

En términos económicamente beneficiosos, se ha establecido que los hatos que presenten prevalencias de *N. caninum* menores o iguales a 21% pueden permanecer de esa manera sin necesidad de implementar medidas de control (Hecker, Venturini, Campero, Odeón, Moore, 2012). En los casos en que la prevalencia de *N. caninum* es superior al 21%, se recomiendan algunas medidas de control que han demostrado cierto grado de eficacia limitando el ciclo del parásito (Dubey, Schares, Ortega-Mora, 2012). Tales medidas consisten en controlar el ingreso de caninos a las fuentes de alimento y agua destinados al consumo bovino, eliminar de forma adecuada los fetos abortados, y también es muy importante el control de roedores dentro de la explotación (Dubey, Schares, Ortega-Mora, 2007). Existen otras medidas más drásticas como la eliminación de todos los animales infectados, pero estas no garantizan la infección post natal y son económicamente inviables, por lo que no se las recomienda (Hecker et al., 2012).

Lamentablemente, en la actualidad no existe una vacuna disponible para la neosporosis. Por el hecho de que la vacuna ideal para esta enfermedad debe evitar abortos, transmisión transplacentaria y evitar la persistencia de la infección, todavía no se ha logrado desarrollar una que cumpla con todas estas funciones. Cabe mencionar que se han evaluado numerosos tipos de vacunas como las inactivadas y las vacunas con parásitos vivos las cuales han demostrado baja eficacia, no previenen la infección vertical, y la vacuna con parásitos vivos incluso produce infecciones crónicas (Hecker et al., 2012). Por todos estos motivos es muy importante que las haciendas mantengan adecuadas medidas de bioseguridad, para poder mantener a la población con menores grados de infección por *N. caninum* (Dubey, Schares, Ortega-Mora, 2007).

2.2.1.4.5 Trichomoniasis

2.2.1.4.5.1 Generalidades

La trichomoniasis es una enfermedad venérea que afecta al ganado bovino, tiene distribución mundial, y se caracteriza por muerte fetal temprana, abortos, piometra e infertilidad, lo que tiene como consecuencia alargamiento del intervalo entre partos (Bowman, 2009; p. 318). El agente causal de esta enfermedad es el protozooario *Tritrichomonas foetus* (Bowman, 2009; p. 318). El parásito permanece en el pene del toro, por lo que es transmitido durante la monta o por inseminación artificial con semen de animales infectados. La trichomoniasis puede afectar a toros de todas las edades, siendo más común en animales adultos (The Merck Veterinary Manual, 2010).

2.2.1.4.5.2 Clasificación y morfología

El agente causal de la trichomoniasis es el parásito protozooario flagelado y piriforme *Tritrichomonas foetus*. El parásito mide entre 8-18 μm de longitud y entre 4-9 μm de ancho, posee un flagelo posterior y tres anteriores, y también tiene una membrana ondulante (The Merck Veterinary Manual, 2010).

2.2.1.4.5.3 Epidemiología

Los toros actúan como portadores del parásito que vive ya sea en la superficie del pene o en el prepucio y es transmitido a las hembras durante el coito. En las circunstancias en las que el contagio a una hembra se produce durante el coito, el parásito se desarrolla en la vagina y en el útero, produciendo abortos y reabsorciones fetales (Elsheikha y Ahmed Khan, 2011; p. 108). La trichomoniasis está ampliamente distribuida a nivel mundial, y se la considera como la principal causa de infertilidad en animales que se reproducen de forma natural en varios países (Elsheikha y Ahmed Khan, 2011; p. 108). Lamentablemente, no se han podido recopilar datos sobre la prevalencia de la Trichomoniasis en el Ecuador.

2.2.1.4.5.4 Patogenia

Trichomona foetus se reproduce mediante fisión binaria, lo que tiene como consecuencia una alta multiplicación del parásito en un corto periodo de tiempo; no se ha reconocido ninguna fase quística o sexual de este parásito (Elsheikha y Ahmed Khan, 2011; p. 109). Una vez que se produce el contagio por medio de la monta o por la inseminación con semen contaminado, los trofozoitos del parásito se adhieren a la superficie de las células epiteliales a lo largo de todo el tracto reproductivo, por lo que el parásito puede ser encontrado en todas las formas de secreciones provenientes del aparato reproductor de la hembra bovina (The Merck Veterinary Manual, 2010). En cuanto a los toros, el parásito solo se encuentra en el pene y en las membranas prepuciales, por lo que la enfermedad no afecta ni a la calidad del semen ni al apetito sexual (The Merck Veterinary Manual, 2010). La patogenia del aborto como consecuencia de la trichomoniasis bovina es desconocida, pero se cree que el efecto citotóxico del parásito sobre las membranas fetales y sobre el endometrio produce el aborto. Adicionalmente, se piensa que algunas enzimas producidas por el parásito como la cistein proteasa, en condiciones óptimas de pH actúan contra varias proteínas como la fibronectina, las inmunoglobulinas y la lactoferrina (Elsheikha y Ahmed Khan, 2011, p. 109).

2.2.1.4.5.5 Signos clínicos

La infección crónica en toros, no produce ningún signo evidente. En la hembra bovina, el signo inicial es la vaginitis, que cuando un animal está gestante y la infección avanza hacia el cérvix y el útero, se tiene como resultado el aborto temprano que ocurre generalmente entre las semanas 1-16 de gestación. En hembras no gestantes se puede evidenciar flujo uterino, y en ciertos animales incluso se puede llegar a presentar una piometra (Manual de la OIE sobre animales terrestres, 2008). En algunas ocasiones, los animales preñados pueden llevar su gestación a término y parir terneros normales. De manera general, las hembras que estuvieron infectadas durante la gestación se recuperan y crean inmunidad contra esta enfermedad, que puede durar todo el periodo de cría (Manual de la OIE sobre animales terrestres, 2008).

2.2.1.4.5.6 Diagnóstico

Para el diagnóstico de la trichomoniasis, se recomienda recolectar muestras de secreciones prepuciales como el esmegma en el caso del macho y de moco cervico vaginal en el caso de la hembra. En los casos en los que se presenta un aborto, lo que se recomienda es recolectar muestras de placenta o líquidos placentarios y alternativamente contenido abomasal (García y Lista, 2005). En las hembras es preferible tomar las muestras de exudado vaginal dos días antes o dos días después del estro, ya que se ha demostrado que es más fácil identificar al parásito durante este periodo (García y Lista, 2005). Una vez que se obtienen las muestras, se realiza el aislamiento del protozooario utilizando medios de cultivo específicos como Plastridge y Diamond, o también se pueden utilizar medios comerciales como BioMed Diagnostic, entre otros. La sensibilidad de los medios específicos y comerciales varía del 81 al 97%. En el caso de los machos, se recomienda realizar los cultivos tres veces durante tres semanas para poder diagnosticar a un animal como negativo (García y Lista, 2005). La prueba de PCR es otro método que representa un diagnóstico seguro para esta enfermedad, sin embargo dado su elevado costo y mayor complejidad se lo practica con menor frecuencia (Elsheikha y Ahmed Khan, 2011, p. 109).

2.2.1.4.5.7 Prevención y control

En la actualidad existen vacunas de células completas que se encuentran disponibles comercialmente tanto en forma de vacuna monovalente como en forma de vacuna polivalente que contiene protección contra *Campylobacter* y *Leptospira* spp. Estas vacunas han demostrado ser efectivas para las hembras, no así para los machos (Manual de la OIE sobre animales terrestres, 2008). Como otra medida de prevención y control, se ha definido que permitir el desarrollo de inmunidad en las hembras al dejarlas descansar en términos reproductivos, puede ayudar a prevenir esta enfermedad. Eliminar a los toros infectados y comprar ejemplares vírgenes para la reproducción son otras medidas altamente recomendadas especialmente en hatos donde se practica la monta natural (Elsheikha y Ahmed Khan, 2011; p. 109). Llevar a cabo

inseminación artificial dentro de un hato puede disminuir de manera significativa la infección por *Trichomonas* dentro de un mismo grupo de animales (Elsheikha y Ahmed Khan, 2011; p. 109).

2.2.1.5 Edad y número de partos

En cuanto a la relación que existe entre la edad de un animal lo que en términos generales implica el número de partos, con la involución uterina, se ha determinado que los animales jóvenes, es decir de primer parto, tienen una involución uterina más rápida, pero el retorno a la actividad cíclica de los ovarios es más lento (Baez, 2010). Esto se debe a que por el hecho de que las vacas jóvenes siguen en crecimiento, tienen una menor frecuencia de pulsos de LH, por lo que el anestro pos parto se puede prolongar entre 1 y 4 semanas más que en animales múltiparos (Baez, 2010).

2.2.2 Anestro posparto

El anestro posparto es una condición mejor conocida como intervalo parto-primer servicio, bajo la cual el animal que la padece carece de comportamiento estral a lo largo de un periodo de tiempo, que en condiciones pastoriles normales se espera que sea entre 45 y 60 días posteriores al parto (Morales y Cavestany, 2012). Actualmente, se han desarrollado distintos índices que ayudan a medir la eficiencia reproductiva de un hato, siendo el intervalo parto-primer servicio uno de ellos (Morales y Cavestany, 2012).

En la actualidad se ha desarrollado una clasificación para el anestro de acuerdo a la dinámica folicular o lútea que lo domina. La primera clasificación es el anestro Tipo I que se caracteriza por ondas foliculares emergentes, sin desviación de los folículos, se ha establecido que menos del 10% de los animales la presentan y está causada por extrema subnutrición (Peter, Vos y Ambrose, 2009). El anestro Tipo II es la segunda clasificación y se caracteriza por presentar emergencia de ondas foliculares con desviación y crecimiento de los folículos; puede o no puede haber folículo dominante, y finaliza con la atresia y regresión de dicho folículo pero los pulsos de LH son bajos o el folículo produce pocas concentraciones de estrógenos (Peter, Vos y Ambrose,

2009). El anestro posparto Tipo III consiste en el desarrollo y establecimiento de un folículo dominante, con la diferencia de que este no ovula y persiste en el ovario. Se ha establecido que la insensibilidad del hipotálamo a la retroalimentación positiva del estradiol o una alteración en la respuesta del folículo dominante a las gonadotropinas son los factores causantes de este tipo de anestro (Peter, Vos y Ambrose, 2009). El anestro posparto Tipo IV es la última clasificación y a diferencia de los otros tipos de anestro, en el Tipo IV el animal ovula, presenta celo y forma el cuerpo lúteo el cual no sufre regresión, prolongando de esta manera la fase lútea. La etiología de esta alteración es múltiple y se mencionan factores predisponente como enfermedades durante el primer mes de lactancia, distocias, estrés, ovulación temprana luego del parto e infecciones uterinas (Peter, Vos y Ambrose, 2009).

Según Morales y Cavestany (2012), existen varios factores predisponentes para el anestro post parto dentro de los que se pueden mencionar condiciones corporales bajas, balance energético negativo, distintas enfermedades, vacas de alta producción, y la estación del año.

2.3 Tratamientos para las infecciones uterinas

Los tratamientos para los distintos tipos de infecciones uterinas que fueron mencionadas anteriormente deben estar orientados principalmente a salvar la vida del animal en casos de infecciones severas y a mejorar la fertilidad en estos animales, que se ve afectada por la infección presente (Kasimanickam, Duffield, Foster, Gartley, Leslie, Walton, Johnson, 2005). Con esta última consideración, la terapia utilizada para tratar las infecciones uterinas debe eliminar los patógenos que se encuentran en el útero, procurando abarcar el menor tiempo de retiro tanto de carne como de leche. En términos generales, el éxito de una terapia para las infecciones uterinas depende de algunos factores como la evacuación de los fluidos del útero, la sensibilidad de los agentes infecciosos al medicamento utilizado, la concentración y el número de dosis utilizadas del medicamento, y la exposición de todo el endometrio a la droga (Kasimanickam et al., 2005).

2.3.1 Antibióticos

La selección de una terapia antibiótica debe ser hecha en base a las siguientes consideraciones y criterios:

En primer lugar, es importante que el antibiótico sea activo frente a los principales patógenos del útero y que tenga la capacidad de mantener su acción activa dentro del ambiente uterino (Sheldon y Dobson, 2004). Según Sheldon y Dobson (2004), la identificación de bacterias anaeróbicas en muestras uterinas pos parto sugiere que el útero es un ambiente anaeróbico, por lo que no se recomienda utilizar antibióticos inefectivos en condiciones anaeróbicas como los aminoglucósidos. Por el hecho de que el contenido uterino es rico en materia y fluidos orgánicos que contienen una gran cantidad de bacterias tanto Gram positivas como negativas, aeróbicas y anaeróbicas, se recomienda seleccionar antibióticos de amplio espectro que no se inactiven en presencia de materia orgánica como por ejemplo las sulfonamidas (Kasimanickam et al., 2005).

Como segunda consideración para la selección de una terapia antibiótica, es importante tener en cuenta que el fármaco debe alcanzar concentraciones suficientes en el sitio de infección, lo que está estrechamente relacionado tanto con las propiedades del antibiótico como las del vehículo (Azawi, 2008). Las propiedades farmacocinéticas del antibiótico deben permitir que el mismo tenga una rápida distribución a través de la cavidad uterina y que sea capaz de penetrar al endometrio (Kasimanickam et al., 2005).

La tercera y última consideración sugiere que el antibiótico no debe inhibir los mecanismos de defensa naturales del útero, deben ser bien tolerados por el animal y no deben irritar el endometrio (Azawi, 2008). Con estas consideraciones, si bien es cierto que en algunas ocasiones se recomienda el uso de infusiones uterinas de antibióticos, en la actualidad se sabe que la irritación que estas producen son más perjudiciales que beneficiosas en el tratamiento de una infección (Azawi, 2008).

2.3.2 Hormonas

Para poder utilizar terapias hormonales de manera eficiente en infecciones uterinas, es muy importante conocer la endocrinología reproductiva normal y patológica, además de las características terapéuticas de los productos hormonales disponibles comercialmente (Azawi, 2008). Según Melendez, McHale, Bartolome, Archbald y Donovan (2004), la administración de prostaglandina F₂α (PGF₂ α) en el posparto, disminuye el intervalo parto-primer servicio ya que promueve la evacuación del contenido uterino. El uso de la PGF₂ α se ha determinado como el tratamiento de elección para animales con endometritis, ya que la disminución en las concentraciones de progesterona, junto con el incremento en las concentraciones de estrógenos asociadas a la luteólisis y al crecimiento folicular, producen la máxima resistencia del útero a las infecciones bacterianas. Adicionalmente, otro beneficio de esta terapia es que esta hormona no altera a la leche, por lo que la misma no se debe descartar (Meléndez et al., 2004).

La terapia en base a estradiol también es recomendada, sobre todo para estimular contracciones del miometrio, fagocitosis y producción de moco, aunque existe una contraposición que establece que esta terapia no tiene beneficio alguno sobre animales con infecciones uterinas ni en el desempeño reproductivo de los animales (Azawi, 2008). Algunos países han prohibido el uso de estradiol por los altos niveles residuales del mismo en la leche (Azawi, 2008).

2.4 Resistencia Antibiótica

Según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (ESFA), (s.f), la resistencia antibiótica se refiere a la habilidad de los microorganismos para resistir tratamientos antimicrobianos. Según el mismo autor, el abuso o el mal uso de fármacos antimicrobianos están asociados con la emergencia y la diseminación de microorganismos resistentes, dando como resultado tratamientos inefectivos y patógenos altamente resistentes que implican un alto riesgo para la salud pública. Un ejemplo bastante claro e importante de

patógenos resistentes es el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA).

Cuando se utilizan fármacos antifúngicos o antibacterianos para tratar infecciones, el resultado de estas terapias depende de muchos factores. El éxito de una terapia antimicrobiana no sólo depende de la actividad intrínseca del fármaco en contra del agente patógeno, sino que también depende de que la droga alcance el sitio de la infección en concentraciones suficientes (Markey et al, 2013; p. 99). La respuesta del animal contra el agente infeccioso determina el curso subsecuente de la infección. En la actualidad, la resistencia por parte de las bacterias y los hongos a los fármacos antimicrobianos es un problema que concierne tanto a la medicina humana como a la medicina veterinaria (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, s.f). Los microorganismos pueden ser resistentes a ciertas drogas porque los mecanismos que se requieren para crear sensibilidad antimicrobiana están ausentes en la célula. En algunas ocasiones, este fenómeno se conoce como resistencia constitutiva o intrínseca (Tenover, 2006). La resistencia genética adquirida puede ser desarrollada por una mutación cromosómica o por adquisición de material genético transmisible y no está presente en todas las especies de microorganismos, sino sólo en algunas cepas (Tenover, 2006). Existen varias fuentes de microorganismos resistentes tanto patógenos como comensales que pueden ser los animales y sus heces, alimentos de origen animal que se contaminan durante su procesamiento, frutas o vegetales provenientes de ambientes contaminados, agua contaminada, y los seres humanos que trabajan o están en contacto con animales (Federation of veterinarians of Europe, s.f.).

Según Markey et al., (2010), por el hecho de que las mutaciones cromosómicas tienen una tasa de ocurrencia baja, anteriormente se consideraba que este mecanismo de adquirir resistencia por parte de las bacterias era más lento que la resistencia adquirida por la transmisión horizontal de elementos. Sin embargo, en la actualidad se sabe que la

presencia de agentes antimicrobianos incrementa las tasas de mutación, lo que tiene como resultado un incremento en el desarrollo de resistencia por mutaciones. En términos generales se puede decir que el intercambio de información genética consiste en transmitir genes de resistencia viejos a hospedadores nuevos.

La transmisión de resistencia horizontal se origina por la incorporación de genes de resistencia de organismos donantes a las bacterias receptoras, a través de mecanismos como la conjugación, transducción, transformación o por elementos genéticos móviles (Tenover, 2006).

La conjugación es el proceso mediante el cual la bacteria donante transfiere un plásmido de ADN al organismo receptor, generalmente a través de los pili sexuales. La transferencia de resistencia por transducción ocurre cuando la transferencia de genes de resistencia se da por medio de bacteriófagos. La transferencia de resistencia por transformación es menos común, y en estos casos se presenta un consumo de ADN libre por una bacteria competente, aunque actualmente no se considera que este proceso juegue un papel importante en la transferencia de resistencia (Markey et al, 2010; p. 99).

En términos generales, los mecanismos de resistencia consisten en modificaciones del agente antimicrobiano per se, disminución en el acúmulo intracelular del agente antimicrobiano, o modificación del sitio de destino del agente (Markey et al, 2010;p. 99).

Adicionalmente, con frecuencia se ha observado que el desarrollo de resistencia hacia una droga, genera resistencia cruzada hacia otro tipo de droga. Este tipo de resistencia se ha observado más comúnmente en las familias de las sulfonamidas, tetraciclinas, aminoglucósidos y macrólidos. Algunos estudios han demostrado que niveles elevados de resistencia a tetraciclinas se han identificado en casos en que el uso de esta droga como tratamiento es casi nulo, lo que puede explicar el fenómeno antes mencionado (Markey et al, 2010;p. 100).

Para poder definir resistencia antibiótica en ambientes no clínicos es importante entender que un organismo resistente es aquel de quien se conoce que posee genes de resistencia o aquellos que no pueden ser inhibidos en el sitio de infección. De la misma manera es importante conocer que un organismo sensible es aquel que no varía su concentración mínima inhibitoria (CMI) en diferentes ambientes o ante la exposición a distintas concentraciones del fármaco antimicrobiano (Walsh, 2013). En este sentido, el Comité Europeo para Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana ha generado tablas de referencia mundial para definir el punto de corte para el CMI de los antibióticos (Walsh, 2013).

III DESCRIPCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN

Este trabajo es una investigación exploratoria longitudinal de tipo cualitativo. Por medio de la observación directa, se procuró validar el planteamiento del problema. Adicionalmente, se aplicaron técnicas cualitativas para asociación de variables, análisis e interpretación de datos, lo que la convierte en una investigación no solo exploratoria, sino también inferencial (Hernandez Sampieri, 2010).

3.2 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El predio estudiado cuenta con una superficie cultivable de 53 hectáreas destinadas a la explotación de ganado de leche principalmente de raza Holstein. Actualmente, la hacienda mantiene 62 vacas en rejo, 2 vacas secas, 6 vientres preñadas, 16 vientres vacías, 10 cabezas de 12,01 meses hasta la primera inseminación artificial, 8 animales de 6,01 a 12 meses, y 7 terneras de 0-6 meses, dando un total de 111 animales. La duración promedio de la lactancia en el predio es de 307 días y 91 días de permanencia en el seco. El 25,8% de los animales en rejo tienen una lactancia mayor a los 301 días. En cuanto a los parámetros reproductivos, se manejan 1,8 servicios por concepción, el índice de concepción es de 54,72%, y la tasa de preñez es de 30,75%. El promedio de días en el intervalo parto-primer servicio y en los días abiertos es de 123 y 171 días respectivamente. El intervalo entre partos alcanza un promedio de 396 días, y el índice de fertilidad es del 63%.

Las características ambientales y geográficas de la propiedad estudiada se describen a continuación:

País:	Ecuador
Provincia:	Pichincha
Cantón:	Quito
Altitud:	2480 m.s.n.m.
Ubicación:	00° 10' 29" Latitud Norte y 78° 24' 32" Longitud Oeste.
Temperatura promedio:	16° centígrados

El predio estudiado vende la leche producida en el mismo a la pasteurizadora DPA, por lo que como parte de las exigencias que esta empresa imparte para sus proveedores se realizan muestreos serológicos bianuales que la certifican como "predio libre de Brucelosis". La última certificación de predio libre fue emitida por AGROCALIDAD en Septiembre del 2014.

3.3 MATERIALES

3.3.1 MATERIALES DE CAMPO

- 100 Tubos vacutainer sin anticoagulante (tapa roja)
- 100 agujas para vacutainer
- 2 Vacutainer
- 100 agujas para anestesia epidural de calibre 18
- 100 jeringas de 5cc
- 100 Jeringas de 50cc
- 60 sondas Foley de dos vías, calibre 16, 23 pulgadas de largo
- 1 Jeringa de 20cc para inflar el balón de las sondas
- 1 mandril para sonda
- 1 marcador permanente
- Hieleras portátiles
- Cooler

- 100 fundas ziplock
- Contenedor de tubos vacutainer
- 50 Cloruro de sodio de 100ml
- Gasas estériles
- 3 rollos de papel toalla
- Cinta adhesiva color negro
- Recipiente para objetos cortopunzantes
- Recipiente para desechos infecciosos
- 1 balde

3.3.2 MATERIALES FARMACOLÓGICOS

- 3 frascos de Lidocaína de 50ml
- 1 Frasco de solución yodada de 1L
- 1 frasco de alcohol metílico de 1L

3.3.3 MATERIALES DE LABORATORIO

- Tinción GIEMSA
- Antígenos
- Rosa de bengala
- Medios de cultivo
- Discos de antibióticos
- Espectrofotómetro
- Máquina centrífuga
- Microscopio
- Pipetas
- Tubos de ensayo
- Incubadora
- Refrigeradora
- Cronómetro
- Virus de la Diarrea Viral Bovina prueba para anticuerpos BVDV-Ab marca SVANOVIR

- Kit para prueba de anticuerpos de Neospora caninum cELISA marca VMRD

3.4 MÉTODO

La hacienda Irubí posee 113 hembras bovinas principalmente de raza Holstein, de las cuales 52 cabezas conforman el rejo. Como parte de los criterios de inclusión, los animales del rejo y del seco fueron los únicos preseleccionados para la realización de este estudio, los cuales a su vez fueron sometidos a criterios de exclusión.

3.4.1 Criterios de exclusión

Se excluyó de la investigación a todos los animales que no hayan tenido ningún parto, que hayan abortado o presentado parto distócico en la última gestación, animales cuya fecha de parto haya sido antes o después del intervalo Enero-Julio del 2014 y que no hayan llegado al término normal de la gestación.

3.4.2 Criterios de inclusión

Los animales muestreados debieron presentar por lo menos un parto, siendo la fecha del último parto entre los meses de Enero a Julio del 2014 y tanto la gestación como el parto debieron presentarse con normalidad. Todos los animales debieron estar sometidos a las mismas medidas de manejo y control sanitario.

3.4.3 Obtención de muestras

En base a los criterios de inclusión, se seleccionaron 27 animales que cumplieron con los mismos y a cada uno de los animales seleccionados se le tomó una muestra de sangre y se realizó lavado uterino en las fechas correspondientes a los días 30 y 60 posteriores al parto. La toma de muestras se realizó en los ordeños de la madrugada, específicamente a las 4:00h para poder entregar las muestras al laboratorio dentro del horario de atención. Los animales muestreados fueron ordeñados al último y se comenzó con los

muestreos una vez que todos los animales del rejo terminaron de ser ordeñados.

La obtención de muestras de sangre se llevó a cabo para realizar las siguientes pruebas serológicas: Rosa de Bengala para Brucelosis, microaglutinación (MAT) para *Leptospira* y ELISA para Neospora y Diarrea Viral Bovina. Los lavados del útero se realizaron para llevar a cabo cultivos que identifiquen las bacterias presentes en el útero y determinar la presencia de *Trichomonas* mediante la técnica de tinción GIEMSA.

3.4.3.1 Toma de muestras de sangre

La vena coccígea es comúnmente utilizada para la obtención de sangre venosa, especialmente cuando se requiere muestrear a un grupo grande de animales o cuando la vena yugular no es accesible (Bassert y McCurnin, 2010, pp. 625). Para llevar a cabo este procedimiento, se desarrolló la técnica de venipuntura descrita por Bassert y McCunin, (2010). Para empezar la toma de muestras de sangre, se inmovilizó a los animales en la manga de ordeño y las patas traseras fueron atadas por seguridad del operador. Antes de continuar con el resto del procedimiento, se verificó que todos los materiales como las agujas, vacutainer, gasas y tubos vacutainer estuvieran listos. Con una mano se levantó la cola de cada animal muestreado hasta que la misma alcanzó una posición vertical. Seguido esto, la superficie ventral de la cola fue desinfectada con gasas estériles y alcohol para remover tierra y heces. Una vez desinfectada la cola se procedió con la punción utilizando una aguja de 21 G x 1.5 pulgadas misma que fue conectada a un vacutainer. Para la punción se identificó el espacio suave que se encuentra entre dos vértebras de la superficie caudal de la cola, palpando las prominencias óseas de las mismas.

Este espacio es un canal óseo en el aspecto ventral de los cuerpos vertebrales que protege a los vasos sanguíneos (Bassert y McCurnin, 2010, p. 625). Tras identificar este espacio anatómico, se insertó la aguja perpendicularmente a la línea media hasta sentir el hueso. Luego, se insertó el tubo vacutainer a la

aguja y se la retrajo lentamente hasta obtener flujo sanguíneo y se dejó llenar el tubo de tapa roja hasta que el flujo pare por sí solo. Una vez que obtuvo la muestra, se retiró el tubo, luego la aguja, se soltó la cola para que vuelva a su posición normal y se aplicó presión en el sitio de la punción durante 15 segundos para evitar la formación de un hematoma. Fue necesario obtener un solo tubo por animal para todas las pruebas serológicas realizadas. Luego de terminar de tomar la muestra de cada animal, se rotuló el tubo con el nombre del animal muestreado y se lo dejó reposar en posición vertical dentro del contenedor de tubos vacutainer hasta terminar el muestreo de todos los animales.

3.4.3.2 Lavado Uterino

3.4.3.2.1 Identificación de espacios anatómicos y anestesia epidural

Antes de comenzar con el protocolo de lavado uterino y de anestesia epidural se realizó palpación rectal para identificar el cervix y el cuerpo del útero para posteriormente proceder con el lavado uterino. Una vez que se logró identificar estos espacios, se realizó el protocolo de anestesia epidural en base a la técnica descrita por Bryant (2010). Para comenzar con el protocolo de anestesia epidural el operador se colocó guantes de látex y procedió con la desinfección del espacio sacro-coccígeo que corresponde a la zona de punción, frotando gasas empapadas con alcohol y solución yodada tantas veces como fue necesario en cada animal hasta obtener una gasa sin rastros de suciedad. Seguido esto, se sujetó la cola del animal y se la movió de arriba hacia abajo hasta sentir una especie de hendidura en la base de la misma que corresponde al espacio sacro-coccígeo. Luego de identificar este espacio, una aguja de calibre 18 fue introducida en el mismo con un ángulo de punción de 45° hasta llegar al espacio epidural. Posteriormente, se colocaron 3 gotas de lidocaína en el cono de la aguja con el fin de observar el efecto de succión que se produce en el espacio epidural. Cuando se observó que las gotas se absorbieron rápidamente, se colocaron 3ml de lidocaína y en los casos en que no se observó la succión se movió la aguja lentamente hasta encontrar el espacio epidural. Una vez que se aplicó la anestesia, se retiró la aguja y se

aplicó presión en la zona de punción por 2 minutos, mientras que simultáneamente se esperaba que el anestésico haga efecto. Para verificar la efectividad de la anestesia se levantaba la cola y se la dejaba caer percibiendo la presencia o no de resistencia por parte del animal.

3.4.3.2.2 Lavado uterino

3.4.3.2.2.1 Limpieza de la vulva

Una vez que se terminó con el protocolo de anestesia epidural y mientras la misma hacía efecto, se procedió con la limpieza de la vulva. Para este efecto se llenó un balde con agua tibia y se mojó en él el papel toalla. Se frotó la vulva con el papel mojado tantas veces como fue necesario en cada animal hasta remover los restos de heces y obtener un papel limpio.

3.4.3.2.2.2 Lavado del útero

El lavado uterino fue realizado en base a la técnica descrita en el Manual de Entrenamiento para Transferencia de Embriones en Bovinos de la FAO (s.f). Antes de empezar con el procedimiento, se llenó completamente la jeringa de 50cc con cloruro de sodio y la jeringa para inflar el balón de la sonda se llenó con 10cm de aire. Luego, se abrió el empaque de la sonda Foley, se la sujetó en el extremo correspondiente a la vías y se introdujo el mandril por la vía principal a través de todo el lumen de la sonda hasta llegar a la punta. Seguido esto, el operador colocó la sonda dentro de su empaque inicial hasta colocarse el guante de inseminación. Posteriormente, el operador identificó el cérvix mediante palpación rectal y una vez que lo pudo sujetar, el auxiliar abrió los labios de la vulva para que el operador introduzca la sonda a través de la vagina, pasando por el cérvix hasta llegar al cuerpo del útero. Una vez que la sonda llegó al cuerpo del útero, el auxiliar conectó la jeringa de aire a la vía accesoria de la sonda, empujó el émbolo de la jeringa e infló el balón de aire de la sonda. El operador verificó mediante palpación rectal que el balón estuviera inflado y posteriormente retiró únicamente el mandril, sin extraer la mano que sujetaba al cérvix ni la sonda. Luego, se conectó la jeringa de 50cc con cloruro de sodio a la vía principal de la sonda y se realizó la infusión de todo el

contenido de la jeringa dentro del útero, la jeringa se dejó conectada a la sonda. Una vez que los 50cc de cloruro de sodio fueron introducidos en el útero, el operador masajeó suavemente este órgano por aproximadamente 15 segundos y luego se absorbió el líquido introducido jalando nuevamente el émbolo de la jeringa. Una vez que se recuperó por lo menos la mitad de la cantidad de líquido introducido, se desconectó la jeringa de la sonda, se desinfló el balón de aire absorbiéndolo con la misma jeringa que lo infló y se retiró la sonda jalándola lentamente hacia afuera. Tras obtener la muestra, se rotuló el émbolo la jeringa con el nombre del animal muestreado utilizando marcador permanente, se tapó la jeringa y se dejó descansar la muestra en posición vertical hasta terminar de muestrear al resto de animales. Cuando se terminó la toma de muestra de sangre y el lavado uterino, los animales fueron liberados y retornados al potrero con el resto del rejo. Los materiales reutilizables como el mandril fueron lavados con agua y jabón y luego fueron desinfectados con alcohol para evitar contaminación de las siguientes muestras. El resto de materiales fue limpiado en caso de haberse ensuciado y posteriormente se los guardó en un gabinete seco, limpio y asegurado para evitar manipulación por parte de otras personas.

3.4.4 Manejo y transporte de muestras

Una vez que todas las muestras de sangre fueron obtenidas en cada fecha de muestreo, se introdujo el contenedor de tubos vacutainer dentro de un cooler junto con las hieleras portátiles para transportar las muestras a una temperatura inferior a la ambiental.

Al terminar con la toma de todas las muestras de lavado uterino en cada fecha, se envolvió el barril o cuerpo de la jeringa con cinta adhesiva negra para disminuir la cantidad de luz en contacto con la muestra y se metió la muestra dentro de una funda ZIPLOCK para ser transportada al laboratorio a temperatura ambiente.

Se procuró entregar las muestras en el laboratorio en un periodo menor a 4 horas después de obtenidas las muestras para evitar alteraciones en los resultados.

3.4.5 Manejo de desechos

Como parte de las medidas de bioseguridad practicadas en el predio estudiado, se dividió los materiales utilizados para la realización de este estudio en 2 grupos: corto punzantes y de riesgo biológico.

Dentro del grupo de los materiales corto punzantes se ubicaron a las agujas y jeringas utilizadas para la obtención de muestras de sangre y para la anestesia epidural, mismas que fueron depositadas en un contenedor pequeño de color rojo, rotulado específicamente para objetos corto punzantes. Dentro del grupo de los desechos de riesgo biológico se ubicó a las sondas Foley y a los guantes de inseminación. Estos materiales fueron depositados en un contenedor grande de color rojo, rotulado con el nombre de riesgo biológico.

Una vez concluida la obtención de muestras en todas las fechas correspondientes, se retiraban los desechos de los distintos contenedores y se los llevaba en fundas de basura al Subcentro de Salud de la parroquia para que posteriormente sean manejados de la misma manera que los desechos de dicho lugar.

3.5 Método estadístico

El método estadístico que se realizó para el presente estudio consistió en 3 etapas principales. En la primera etapa se generaron dos bases de datos en el programa Microsoft Excel. La primera base de datos contiene la edad, número de partos, fecha de último parto, fecha de muestreo, las distintas enfermedades y los patógenos identificados mediante serología y cultivo del lavado uterino.

Cada uno de los grupos mencionados corresponde a una columna que contiene los resultados obtenidos en cada animal mediante las distintas pruebas diagnósticas utilizadas. La palabra SI corresponde a los casos

positivos y NO a los casos negativos. La segunda base de datos contiene la identificación de los animales muestreados, su edad, número de partos, el número de cultivo, los microorganismos identificados en cada animal y los distintos antibióticos probados para cada bacteria en el antibiograma. Los resultados del antibiograma fueron definidos utilizando la letra "S" para las bacterias sensibles, "R" para las bacterias resistentes, "I" para las bacterias con sensibilidad intermedia y "NA" para los casos en que no se realizó antibiograma a un fármaco.

En el segundo paso se realizaron tablas de contingencia con datos provenientes de la primera base de datos entre todas las posibles correlaciones que existen entre los factores de riesgo que son la edad, el número de partos y las enfermedades o patógenos, con los efectos que son la metritis y el estado reproductivo de los animales una vez finalizada la investigación.

El tercer paso consistió en realizar las pruebas estadísticas seleccionadas para el análisis e interpretación de resultados. El Test Exacto de Fisher se utilizó para determinar correlaciones estadísticamente significativas que indiquen dependencia entre un factor y un efecto para lo que se determinó el p-valor utilizando el programa "R Project". Posteriormente se aplicó el análisis univariado utilizando el programa SPSS para determinar la distribución de frecuencias tanto de las enfermedades y patógenos identificados como de la resistencia antibiótica. El programa SPSS también se utilizó para aplicar la prueba de McNemar con el fin de contrastar los niveles de cambio en los patógenos y enfermedades presentes en los días 30 y 60 posparto.

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Esta investigación tuvo como propósito identificar los principales patógenos que afectan al tracto reproductivo en los días 30 y 60 posparto de las hembras bovinas en la Hacienda Irubí, provincia de Pichincha. Adicionalmente, se procuró identificar la sensibilidad o resistencia antibiótica por parte de las bacterias cultivadas del contenido recuperado mediante lavado del útero.

La información obtenida en esta investigación proporciona datos estadísticos sobre la frecuencia de presentación de los patógenos identificados, su persistencia entre las fechas de muestreo, la relación que los patógenos guardan con ciertas condiciones reproductivas como la metritis y el estado reproductivo, la sensibilidad o resistencia de las bacterias hacia los antibióticos y la relación entre la edad productiva de los animales con la presencia o actividad de la flora bacteriana y los resultados del antibiograma.

4.1 DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DE ENFERMEDADES Y PATÓGENOS IDENTIFICADOS

Tabla 1. Clave para abreviaciones de patógenos identificados en los cultivos de lavados uterinos

STAI	<i>Staphylococcus intermedius</i>
SDGC	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> grupo C
ENTFAE	<i>Enterococcus faecalis</i>
STREVIBO	<i>Streptococcus viridans</i> grupo bovis
CITSP	<i>Citrobacter</i> sp.
ENTSP	<i>Enterococcus</i> sp.
STAU	<i>Staphylococcus Aureus</i>
KNEU	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
ENTAER	<i>Enterobacter aerogenes</i>
ACINESP	<i>Acinetobacter</i> sp.
STREVIRMI	<i>Streptococcus viridans</i> subespecie mitis
STAUMRSA	<i>Staphylococcus Aureus</i> cepa MRSA
SGG	<i>Streptococcus</i> grupo G
CANDSP	<i>Candida</i> sp.
ACINEIWO	<i>Acinetobacter iwoffii</i>
ECOLI	<i>Escherichia coli</i>
STREPBO	<i>Streptococcus bovis</i>
ASPERSP	<i>Aspergillus</i> sp.
KOXY	<i>Klebsiella oxytoca</i>
ENTAG	<i>Enterobacter agglomerans</i>
KLEBSP	<i>Klebsiella</i> sp.
STREVIRBO	<i>Streptococcus viridans</i> grupo bovis

Tabla 2. Distribución porcentual de frecuencias de patógenos y enfermedades diagnosticados en el día 30 posparto

	Respuestas		Porcentaje de casos
	Nº	Porcentaje	
RESULTADOS DVB 1	12	20,7%	46,2%
30d ^a Leptospir- osis 1	1	1,7%	3,8%
Neosporo- sis 1	6	10,3%	23,1%
Total	19	100,0%	73,1%

Nota: Se determina el número de casos positivos y el porcentaje de prevalencia de las distintas enfermedades probadas y de las bacterias identificadas en el día 30 posparto. En respuestas, el número describe el número de animales positivos a las enfermedades probadas y el porcentaje equivale al valor porcentual de los casos positivos. El porcentaje de casos representa el valor de los casos positivos con respecto a la muestra.

Tabla 3. Distribución porcentual de frecuencias de patógenos y enfermedades diagnosticados en el día 60 posparto

	Respuestas		Porcentaje de casos
	Nº	Porcentaje	
RESULTA DVB 2	13	19,1%	50,0%
DOS 60d ^a Leptospir- osis 2	2	2,9%	7,7%
Neosporo- osis 2	5	7,4%	19,2%
Total	20	100,0%	76,9%

Nota: Se determina el número de casos positivos y el porcentaje de prevalencia de las distintas enfermedades probadas y de las bacterias identificadas en el día 60 posparto. En respuestas, el número describe el número de animales positivos al patógeno o enfermedad y el porcentaje equivale al valor porcentual de los casos positivos. El porcentaje de casos representa el valor de los casos positivos con respecto a la muestra.

Se identificó y diagnosticó la presencia de animales seropositivos a varios patógenos infecciosos como *Leptospira* sp , *Brucella* sp, Virus de la Diarrea Viral Bovina y *Neospora caninum*; y utilizando el contenido recuperado mediante lavado del útero se diagnosticó la presencia de *Tritrichomona foetus* utilizando la técnica de tinción GIEMSA y también se identificaron bacterias y hongos que se desarrollaron en el cultivo realizado al lavado uterino en las fechas correspondientes a los días 30 y 60 posparto.

El porcentaje más alto de animales seropositivos en los días 30 y 60 posparto fue de (46,2%) y (50,0%) respectivamente para el virus de Diarrea Viral Bovina.

Si bien otras investigaciones señalan que la DVB tiene una amplia distribución mundial y que en el Ecuador su prevalencia individual alcanza el 36,2% de los animales, mientras que la prevalencia por explotaciones es del 74%, los datos obtenidos en el presente estudio no son muy distintos, pero pueden diferir en cierto grado por el pequeño tamaño de la muestra estudiada. Dado que el predio en estudio sí vacuna a los animales contra este virus, se puede inferir que la alta prevalencia de animales seropositivos puede estar relacionada con la rápida tasa de mutación del virus y/o la presencia de actividad viral dentro o en los alrededores del hato, factores que según varios autores son las principales herramientas de transmisión y supervivencia de este virus dentro de un mismo grupo de animales. Adicionalmente, es importante recalcar que dada la presencia de altos títulos de anticuerpos para el VDVB en todos los animales muestreados, se los puede clasificar como inmunocompetentes ya sea por desafíos inmunológicos previos por el virus o por efecto de la vacunación.

Neosporosis y leptospirosis ocuparon el segundo y tercer puesto de animales seropositivos respectivamente, tanto en las muestras del día 30 como del día 60 posparto, mientras que brucelosis no tuvo prevalencia alguna en ninguna de las dos fechas de muestreo. Estos resultados pueden explicarse por el hecho de que a excepción de la brucelosis, neosporosis y leptospirosis no son enfermedades de declaración obligatoria, por lo que el Ecuador no ha desarrollado programas de control para dichas enfermedades, otorgándoles así una mayor prevalencia. Adicionalmente, por el hecho de que el predio estudiado posee caninos domésticos y salvajes y roedores que rondan, orinan, defecan y consumen libremente de las fuentes de agua destinadas al ganado, la presencia de serovariedades provenientes de animales salvajes que no están presentes en las vacunas como el de *Leptospira wolffi* o la transmisión de los distintos estadios parasitarios infecciosos de *N. caninum* incrementa. En cuanto a leptospirosis, es importante aclarar que si bien la mayoría de animales presentó títulos para uno o más serovares, los valores de los títulos en su mayoría eran inferiores a 300, lo que sugiere exposición más no implica enfermedad, salvo dos animales que tuvieron títulos de 400 para los serovares

icterohemorrágica y pomona lo que les convierte en animales enfermos de leptospirosis.

El porcentaje de prevalencia de neosporosis en el día 30 posparto fue de 23,1% y de 19,2% en el día 60 posparto, lo que quiere decir que el predio estudiado se encuentra dentro de los límites superiores de prevalencia permitidos antes de recomendar la implementación de medidas de control. Mediante la técnica de tinción GIEMSA se determinó que no hubo casos positivos para trichomoniasis en ningún animal muestreado tanto en el día 30 como en el día 60 posparto. Estos resultados son fácilmente explicables ya que por el hecho de que el predio sólo maneja protocolos de inseminación artificial, no existe riesgo de presencia de toros portadores del parásito.

Tabla 4. Frecuencia de patógenos identificados mediante cultivo de lavados uterinos en el día 30 posparto

Patógeno	Frecuencia	Porcentaje
SDGC	2	4,25%
ENTFAE	5	10,6%
ECOLI	16	34,04%
KOXY	2	4,25%
ENTAG	9	19,1%
STREVIRMI	2	4,25%
KLEBSP	2	4,25%
ACINESP	1	2,13%
ACINEIWO	1	2,13%
STAUMRSA	1	2,13%
SGG	1	2,13%
STAI	2	4,25%
KNEU	1	2,13%
CANDSP	1	2,13%
ASPERSP	1	2,13%
TOTAL	47	47

Tabla 5. Frecuencia de patógenos identificados mediante cultivo de lavados uterinos en el día 60 posparto

Patógeno	Frecuencia	Porcentaje
ENTFAE	3	6%
ECOLI	16	32%
KOXY	1	2%
ENTAG	8	16%
KLEBSP	2	4%
ACINESP	2	4%
STAUMRSA	1	2%
STAU	4	8%
ENTSP	2	4%
ENTAER	4	8%
STREPBO	1	2%
CITSP	1	2%
CANDSP	3	6%
STREVIBO	1	2%
ASPERSP	1	2%
TOTAL	50	100%

Tabla 6. Distribución porcentual de frecuencia de presentación de los patógenos identificados en los cultivos a los días 30 y 60 posparto

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
ACINEIWO	1	,9	,9
ACINESP	3	2,8	2,8
ASPERSP	2	1,8	1,8
CANDSP	4	3,8	3,8
CITSP	1	,9	,9
ECOLI	32	29,0	29,0
ENTAER	4	3,8	3,8
ENTAG	18	17,0	17,0
ENTFAE	8	7,5	7,5
ENTSP	2	1,9	1,9
KLEBSP	4	3,8	3,8
KNEU	1	,9	,9
KOXY	3	2,8	2,8
SDGC	2	1,8	1,8
SGG	1	,9	,9
STAI	2	1,8	1,8
STAU	4	3,8	3,8
STAUMRSA	2	1,8	1,8
STREPBO	1	,9	,9
STREVIBO	1	,9	,9
STREVIRMI	2	1,8	1,8
Total	98	100,0	100,0

De acuerdo a los resultados obtenidos del cultivo de lavados uterinos, *E. coli* fue la principal bacteria aislada en ambas fechas de muestreo con un porcentaje de prevalencia de 34,04% y 32,0% en los días 30 y 60 posparto, respectivamente. *Enterobacter agglomerans* ocupó el segundo lugar de prevalencia en los lavados uterinos con un porcentaje de 19,1% en el día 30 posparto y de 16,0% en el día 60 posparto. El tercer porcentaje de prevalencia más alto en el día 30 posparto fue para *Enterococcus faecalis* con un 10,6%, mientras que en el día 60 posparto las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Enterobacter aerogenes* ocuparon el tercer lugar con una prevalencia del 8%. Adicionalmente, en menores porcentajes se identificó la presencia de bacterias gram positivas como *Streptococcus* spp, *Enterococcus* spp, bacterias

gram negativas como *Klebsiella* spp, y otras enterobacterias como *Acinetobacter* spp en ambas fechas de muestreo. Estos resultados muestran congruencia con los hallazgos publicados en investigaciones previas que han demostrado que las bacterias más prevalentes del grupo de las gram positivas son *Enterococcus* spp, *Streptococcus* spp y *Staphylococcus* spp, mientras que en el grupo de las gram negativas se destacan *Pseudomonas* spp, *E. Coli* y *Klebsiella* spp. También se identificó la presencia de *Staphylococcus aureus* cepa resistente a la meticilina (SMRSA). Si bien el número de casos no fue significativo con respecto a la muestra, su presencia en los cultivos implica una contaminación del animal por parte de la manipulación humana ya que esta bacteria ha sido reportada principalmente en humanos.

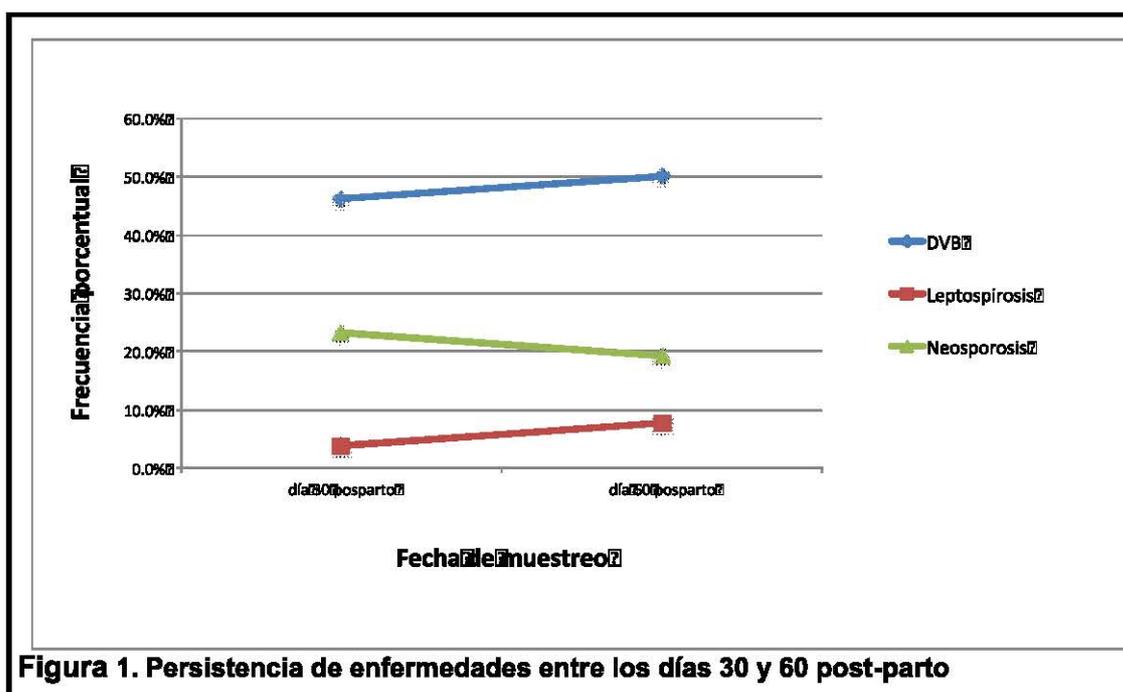
De acuerdo a los resultados obtenidos de los cultivos en ambas fechas de muestreo, se podría decir que la involución uterina no está desarrollándose normalmente en estos animales ya que de acuerdo a la literatura, en un puerperio normal, entre los 46-60 días posparto sólo el 9% de los animales presentan contaminación del útero, mientras que el presente estudio muestra que el 100% de los animales tienen contaminación uterina de origen bacteriano en el día 60 posparto. La mayoría de bacterias aisladas en los cultivos son enterobacterias que podrían estar presentes ya sea por contaminación de la muestra el momento de su obtención o por la cercanía que el ano tiene con la vagina, incrementando el riesgo de contaminación el momento del parto.

4.1.1 RESULTADOS DE PRUEBA DE MCNEMAR Y TEST EXACTO DE FISHER

Tabla 7. Cálculo de la significancia exacta bilateral mediante la prueba de McNemar para contrastar la persistencia de patógenos y enfermedades presentes en los días 30 y 60 posparto

CONTRASTE	SIG. Exacta bilateral	Significancia
DVB 1 y DVB 2	1,000	No
Leptospirosis 1 y Leptospirosis 2	1,000	No
Neosporosis 1 y Neosporosis 2	1,000	No
Entfae 1 y Entfae 2	0,727	No
Staumrsa 1 y Staumrsa 2	1,000	No
Ecoli 1 y Ecoli 2	1,000	No
Aspersp 1 y Aspersp 2	1,000	No
Koxy 1 y Koxy 2	1,000	No
Entag 1 y Entag 2	1,000	No
Metritis 1 y Metritis 2	0,250	No

Nota: Una significancia exacta bilateral inferior a 0,05 implica un incremento o disminución significativos de casos positivos entre los días 30 y 60 posparto.



En base al análisis de persistencia que se realizó para los patógenos que se presentaron en ambas fechas de muestro se puede decir que dado que la significancia exacta bilateral de ninguna de las comparaciones fue inferior a 0,05, la tendencia de las enfermedades y patógenos se mantiene casi igual en ambas fechas, lo que sugiere cronicidad en el carácter de ciertas patologías como las infecciones uterinas. En el caso de Diarrea Viral Bovina se puede decir que la mayoría de los animales seropositivos son inmunocompetentes ya sea por actividad viral o por vacunación. Por su parte, leptospirosis presenta variaciones en la cantidad de anticuerpos y en las serovariedades para los que estos se presentan. En este sentido, se deduce la presencia de hospedadores de mantenimiento que exponen a los bovinos a la enfermedad, además de los anticuerpos que se generan por la vacunación. En cuanto a los animales seropositivos a neosporosis también se podría hablar de una infección persistente, sin embargo sería muy importante determinar si los animales muestreados contrajeron la infección antes de la inseminación o durante la gestación media o tardía, midiendo la seropositividad *N. caninum* de sus crías ya que la transmisión vertical es uno de los principales mecanismos de propagación de neosporosis.

Tabla 8. Cálculo del p-valor mediante la Prueba Exacta de Fisher para determinar asociaciones entre patógenos y condiciones reproductivas presentes en los animales muestreados

Asociación	Prueba estadística	P valor	Odds ratio	Nivel de confianza	Intervalo de confianza
Leptospirosis 1 vs. Metritis 1	Test exacto de Fisher	2.365e-05	7.866739	0.95	7.866739-Inf
Acinesp 1 vs. Metritis 1	Test exacto de fisher	2.365e-05	7.866739	0.95	7.866739-Inf
Metritis 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de fisher	0.135786	0.5391982	0.95	0.5391982-Inf
Leptospirosis 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de fisher	0.07977	0	0.95	0.000000-2.121406
Entsp2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de fisher	0.07977	0	0.95	0.000000-2.121406

Nota: Un p valor inferior a 0,05 implica una correlación significativa entre el patógeno y la condición reproductiva. El odds ratio define la probabilidad de ocurrencia de una condición de salud en base al riesgo.

El número 1 colocado con los patógenos o las condiciones reproductivas representa a las muestras tomadas en el día 30 posparto y el número 2 corresponde a las muestras tomadas en el día 60 posparto.

En el análisis estadístico de las asociaciones entre patógenos y condiciones reproductivas se consideró como condición reproductiva a la metritis y al estado reproductivo de los animales luego de realizar esta investigación ya que ambos son condiciones dependientes de la presencia de ciertos patógenos. Por practicidad, en este capítulo sólo se exponen las asociaciones que tuvieron un p valor significativo, pero el resto de asociaciones y su p valor se muestran en el ANEXO 1. De acuerdo a los resultados obtenidos mediante el Test Exacto de Fisher, existe una alta correlación entre la presencia de Leptospirosis 1 y Acinetobacter spp 1 y la metritis en el día 30 posparto. Los animales que presentan estos patógenos tienen 7.86 veces más probabilidad de presentar metritis que los animales que no los poseen. Con la misma prueba estadística se puede interpretar que los casos de metritis en el día 30 posparto tienen cierto grado de influencia sobre el estado reproductivo posterior de los animales ya que esta correlación presenta un p valor de 0,136.

Los patógenos *Leptospira* sp y *Acinetobacter* sp del día 60 posparto presentan una correlación levemente significativa con el estado reproductivo, al tener un p valor de 0,07. Si bien se ha establecido que el p valor debe ser inferior a 0,05 para ser significativo, un p valor de 0,07 y 0,136 no se aleja del 0,05 por lo que llama la atención como significancia estadística. En este sentido, es importante considerar que dado el pequeño tamaño de la muestra, los resultados pueden deberse a ello por lo que se los debería repetir en una muestra más grande para comprobarlos.

4.2 RESULTADOS DE ANÁLISIS UNIVARIADO PARA DEFINIR LA SENSIBILIDAD O RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

Tabla 9. Frecuencia de sensibilidad y resistencia para Amikacina

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos Sensible	20	18.9	100.0

Nota: Frecuencia: Número de repeticiones de un valor. Porcentaje: representación porcentual de la frecuencia del valor en relación con otros valores de la misma variable. Porcentaje válido: frecuencia porcentual calculada

Tabla 10. Frecuencia de sensibilidad y resistencia para Estreptomina

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos Sensible	42	39.6	100.0

Nota: Frecuencia: Número de repeticiones de un valor. Porcentaje: representación porcentual de la frecuencia del valor en relación con otros valores de la misma variable. Porcentaje válido: frecuencia porcentual calculada

Tabla 11. Frecuencia de sensibilidad y resistencia para Gentamicina

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos Sensible	41	38.7	100.0

Nota: Frecuencia: Número de repeticiones de un valor. Porcentaje: representación porcentual de la frecuencia del valor en relación con otros valores de la misma variable. Porcentaje válido: frecuencia porcentual calculada

Tabla 12. Frecuencia de sensibilidad y resistencia para Amoxicilina

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	Sensible	6	5.7	66.7
	Resistente	3	2.8	33.3
	Total	9	8.5	100.0

Nota: Frecuencia: Número de repeticiones de un valor. Porcentaje: representación porcentual de la frecuencia del valor en relación con otros valores de la misma variable. Porcentaje válido: frecuencia porcentual calculada

Tabla 13. Frecuencia de sensibilidad y resistencia para Penicilina

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	Sensible	11	10.4	100.0

Nota: Frecuencia: Número de repeticiones de un valor. Porcentaje: representación porcentual de la frecuencia del valor en relación con otros valores de la misma variable. Porcentaje válido: frecuencia porcentual calculada

Tabla 14. Frecuencia de sensibilidad y resistencia para Ampicilina

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	Sensible	35	33.0	42.2
	Intermedio	6	5.7	7.2
	Resistente	42	39.6	50.6
	Total	83	78.3	100.0

Nota: Frecuencia: Número de repeticiones de un valor. Porcentaje: representación porcentual de la frecuencia del valor en relación con otros valores de la misma variable. Porcentaje válido: frecuencia porcentual calculada

Tabla 15. Frecuencia de sensibilidad y resistencia para Oxacilina

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	Sensible	9	8.5	81.8
	Resistente	2	1.9	18.2
	Total	11	10.4	100.0

Nota: Frecuencia: Número de repeticiones de un valor. Porcentaje: representación porcentual de la frecuencia del valor en relación con otros valores de la misma variable. Porcentaje válido: frecuencia porcentual calculada

Tabla 16. Frecuencia de sensibilidad y resistencia para Amoxicilina+Ac.Clavulanico

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	Sensible	62	58.5	81.6
	Intermedio	3	2.8	3.9
	Resistente	11	10.4	14.5
	Total	76	71.7	100.0

Nota: Frecuencia: Número de repeticiones de un valor. Porcentaje: representación porcentual de la frecuencia del valor en relación con otros valores de la misma variable. Porcentaje válido: frecuencia porcentual calculada

Tabla 17. Frecuencia de sensibilidad y resistencia para Cefalexina

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	Sensible	57	53.8	67.1
	Intermedio	3	2.8	3.5
	Resistente	25	23.6	29.4
	Total	85	80.2	100.0

Nota: Frecuencia: Número de repeticiones de un valor. Porcentaje: representación porcentual de la frecuencia del valor en relación con otros valores de la misma variable. Porcentaje válido: frecuencia porcentual calculada

Tabla 18. Frecuencia de sensibilidad y resistencia para Cefuroxime

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	Sensible	2	1.9	25.0
	Resistente	6	5.7	75.0
	Total	8	7.5	100.0

Nota: Frecuencia: Número de repeticiones de un valor. Porcentaje: representación porcentual de la frecuencia del valor en relación con otros valores de la misma variable. Porcentaje válido: frecuencia porcentual calculada

Tabla 19. Frecuencia de sensibilidad y resistencia para Ceftazidina

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	Sensible	3	2.8	100.0

Nota: Frecuencia: Número de repeticiones de un valor. Porcentaje: representación porcentual de la frecuencia del valor en relación con otros valores de la misma variable. Porcentaje válido: frecuencia porcentual calculada

Tabla 20. Frecuencia de sensibilidad y resistencia para Ceftriaxona

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	Sensible	76	71.7	88.4
	Intermedio	1	.9	1.2
	Resistente	9	8.5	10.5
	Total	86	81.1	100.0

Nota: Frecuencia: Número de repeticiones de un valor. Porcentaje: representación porcentual de la frecuencia del valor en relación con otros valores de la misma variable. Porcentaje válido: frecuencia porcentual calculada

Tabla 21. Frecuencia de sensibilidad y resistencia para Ciprofloxacina

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	Sensible	80	75.5	98.8
	Intermedio	1	.9	1.2
	Total	81	76.4	100.0

Nota: Frecuencia: Número de repeticiones de un valor. Porcentaje: representación porcentual de la frecuencia del valor en relación con otros valores de la misma variable. Porcentaje válido: frecuencia porcentual calculada

Tabla 22. Frecuencia de sensibilidad y resistencia para Cloranfenicol

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	Sensible	67	63.2	98.5
	Resistente	1	.9	1.5
	Total	68	64.2	100.0

Nota: Frecuencia: Número de repeticiones de un valor. Porcentaje: representación porcentual de la frecuencia del valor en relación con otros valores de la misma variable. Porcentaje válido: frecuencia porcentual calculada

Tabla 23. Frecuencia de sensibilidad y resistencia para Sulfatrimetropin

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	Sensible	74	69.8	98.7
	Resistente	1	.9	1.3
	Total	75	70.8	100.0

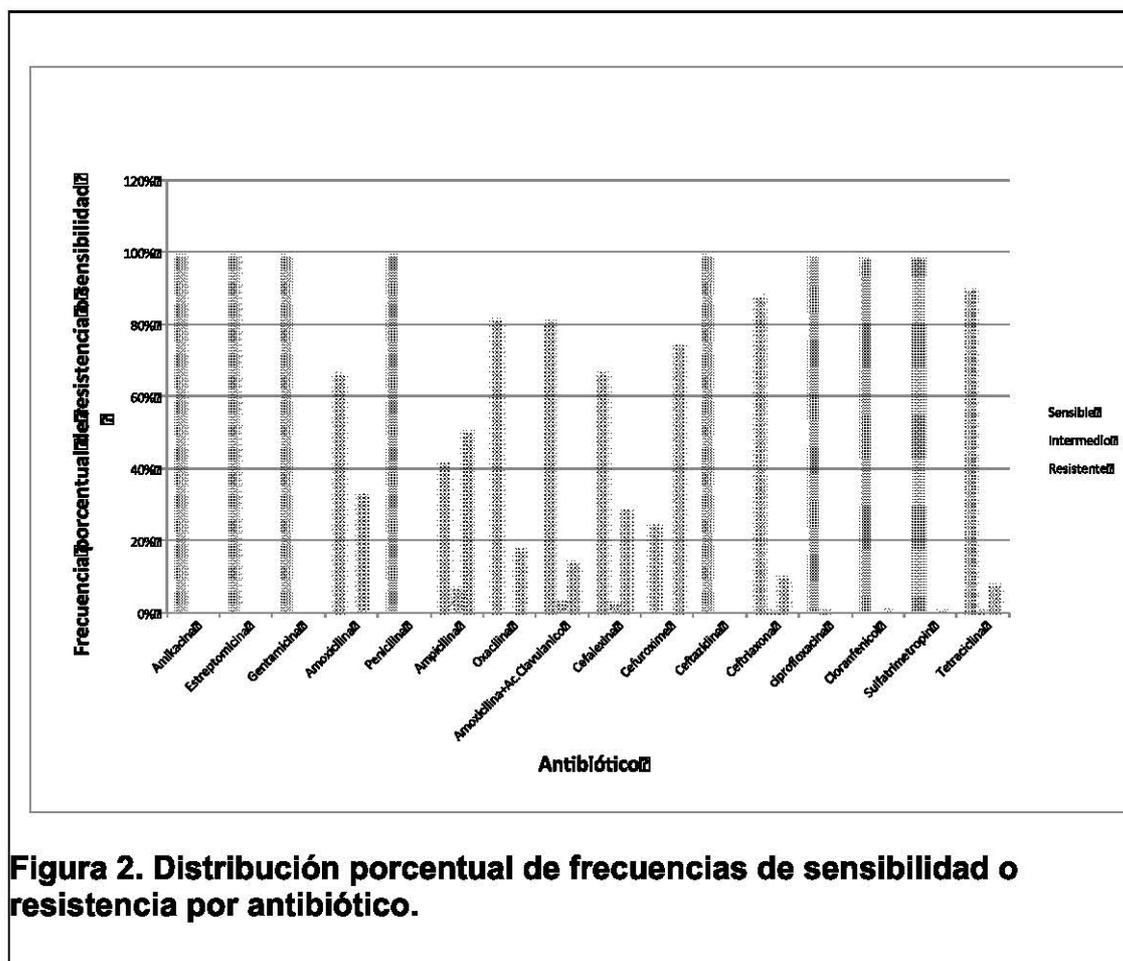
Nota: Frecuencia: Número de repeticiones de un valor. Porcentaje: representación porcentual de la frecuencia del valor en relación con otros valores de la misma variable. Porcentaje válido: frecuencia porcentual calculada

Tabla 24. Frecuencia de sensibilidad y resistencia para Tetraciclina

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	Sensible	74	69.8	90.2
	Intermedio	1	.9	1.2
	Resistente	7	6.6	8.5
	Total	82	77.4	100.0

Nota: Frecuencia: Número de repeticiones de un valor. Porcentaje: representación porcentual de la frecuencia del valor en relación con otros valores de la misma variable. Porcentaje válido: frecuencia porcentual calculada

Fuente: Elaboración propia.



De acuerdo a los resultados del análisis univariado se puede definir al cefuroxime como el antibiótico que más casos de resistencia presentó, mientras que la amikacina, estreptomina, gentamicina, penicilina y ceftazidina no presentaron resistencia alguna. Aunque no se pudo realizar una prueba estadística que analice los resultados por familia de antibiótico, el orden que se

le ha otorgado a los resultados en la figura 2 permite distinguir que la familia antibiótica que más resistencia presentó fue la de las cefalosporinas, seguida por los betalactámicos. La tetraciclina, el cloranfenicol y las sulfonamidas también demuestran un bajo pero existente nivel de resistencia. Es importante tomar en cuenta que el laboratorio encargado de realizar las distintas pruebas no ensayó el mismo número de veces a todas las familias, por lo que en antibióticos probados en menor cantidad no se puede comprobar la resistencia o sensibilidad que las bacterias han generado hacia ellos. Los resultados descritos demuestran lo contrario a lo esperado ya que en ganado de leche las penicilinas, la tetraciclina, el cloranfenicol y las sulfonamidas son las familias más utilizadas, mientras que las cefalosporinas y los betalactámicos se utilizan con mayor frecuencia en pequeñas especies. De acuerdo a lo descrito en la literatura, este fenómeno podría explicarse por la existencia de resistencia cruzada que se ha evidenciado con frecuencia en las familias de las sulfonamidas, tetraciclinas, aminoglucósidos y macrólidos. En estos casos, el desarrollo de resistencia hacia cierto fármaco antimicrobiano puede generar resistencia hacia otro tipo de antibiótico. Adicionalmente, para comprobar los resultados obtenidos en este estudio sería muy importante definir si los microorganismos aislados poseen los genes de resistencia o alternativamente, verificar la CMI ante distintas concentraciones de antibióticos para poder definirlos como resistentes o sensibles con toda certeza.

Tabla 25. Relación entre número de partos y resultados de antibiograma

			RESULTADOS ANTIBIOGRAMA			Total
			Sensible	Intermedio	Resistente	
Nú- mero de par- tos	1	Recuento	141	9	38	188
		% dentro de Número de partos	75,0%	4,8%	20,2%	
	2	Recuento	83	0	12	95
		% dentro de Número de partos	87,4%	0%	12,6%	
	3	Recuento	47	2	10	59
		% dentro de Número de partos	79,7%	3,4%	16,9%	
	4	Recuento	33	0	10	43
		% dentro de Número de partos	76,7%	0%	23,3%	
	5	Recuento	46	0	17	63
		% dentro de Número de partos	73,0%	0%	27,0%	
	6	Recuento	95	3	14	112
		% dentro de Número de partos	84,8%	2,7%	12,5%	
	7	Recuento	11	0	3	14
		% dentro de Número de partos	78,6%	0%	21,4%	
Total		Recuento	456	14	104	574

Nota: Recuento representa el número de veces que se realizó antibiograma. Porcentaje dentro de número de partos representa el porcentaje de bacterias sensibles, intermedias y resistentes identificadas en los grupos formados con el número de partos.

En base a los resultados del análisis de respuesta múltiple realizado por el programa SPSS, se puede decir que si bien los animales con 5 partos presentaron un 27,0% y los de 4 partos presentaron 23,3% de casos de resistencia, el recuento total de antibiogramas realizados a estos grupos es de apenas 63 y 43 veces respectivamente. En el caso de los resultados del grupo de un solo parto, el recuento total de veces que se realizó antibiograma es de 188, con un porcentaje de resistencia de 20,2%, correspondiente a 38 casos.

Considerando estos resultados se puede decir que los animales de primer parto presentan más bacterias resistentes que los animales con mayor número de partos. Esto podría explicarse bajo el fundamento teórico de que el intercambio de información genética puede transmitir genes de resistencia viejos en hospedadores nuevos.

V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- Mediante los distintos estudios serológicos realizados se determinó que el Virus de Diarrea Viral Bovina obtuvo el porcentaje más alto de animales seropositivos a los días 30 y 60 posparto con una frecuencia de 46,2% y 50,0%, respectivamente. Neosporosis ocupó el segundo porcentaje de prevalencia en los días 30 y 60 posparto, y leptospirosis ocupó el tercer lugar de prevalencia en ambas fechas de muestreo. Adicionalmente, se confirmó que la ganadería estudiada es un predio libre de Brucelosis ya que no se diagnosticó ningún caso positivo a dicha enfermedad en ninguna de las fechas de muestreo.
- En base a los cultivos realizados de los lavados uterinos se determinó que E. coli fue la bacteria aislada con mayor frecuencia en los días 30 y 60 posparto con una frecuencia 34,04% en el día 30 posparto y 32,0% en el día 60 posparto. Enterobacter agglomerans fue la segunda bacteria aislada con mayor frecuencia en ambas fechas de muestreo presentando prevalencias del 19,1% en el día 30 posparto y de 16,0% en el día 60 posparto. El tercer porcentaje de prevalencia más alto en el día 30 posparto fue para Enterococcus faecalis con un 10,6%, mientras que en el día 60 posparto las bacterias Staphylococcus aureus y Enterobacter aerogenes tuvieron una prevalencia del 8% por lo que ocuparon el tercer lugar. Se identificó que en menores frecuencias, bacterias gram positivas como Streptococcus sp, Enterococcus sp, bacterias gram negativas como Klebsiella sp, otras enterobacterias como Acinetobacter sp y hongos como Candida sp y Aspergillus sp colonizan el útero a los días 30 y 60 posparto. La técnica de tinción GIEMSA aplicada a los lavados uterinos determinó que no existen animales portadores de Tritrichoma foetus en el predio estudiado.

- Se determinó que la edad productiva de los animales no guarda relación con la presencia o actividad de la flora bacteriana ya que todos los animales, independientemente de la edad o número de partos presentaron contaminación del útero y el P valor de la asociación entre el número de partos y los casos de metritis en el día 30 posparto es de 0,51 lo que no les otorga correlación alguna. Sin embargo, se encontraron correlaciones entre los casos identificados de metritis y la presencia de *Leptospira* sp y *Acinetobacter* sp, patógenos a los que se les puede atribuir la presentación de esta alteración reproductiva. Mediante el análisis de variable de respuesta múltiple se determinó que las bacterias identificadas en los animales de primer parto presentan más resistencia a los antibióticos que las de los animales con mayor número de partos.
- Se determinó que el estado reproductivo de los animales presenta cierto grado de correlación con los casos de metritis del día 30 posparto y con la presencia de *Leptospira* sp y *Enterobacter* sp. en el día 60 posparto, ya que algunos de los animales que presentaron esta condición o patógenos no lograron concebir nuevamente en las fechas esperadas.
- En base a un análisis macro de los resultados del análisis UNIVARIADO individual de los antibióticos, se puede decir que la familia antibiótica que más resistencia presentó fue la de las cefalosporinas, seguida por los betalactámicos. La tetraciclina, el cloranfenicol y las sulfonamidas demuestran un bajo nivel de resistencia por parte de las bacterias aisladas. Se identificó al cefuroxime como el antibiótico que más casos de resistencia presentó.

5.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con esta investigación utilizando muestras de mayor tamaño y en diferentes ubicaciones geográficas, que corroboren con los resultados descritos en el presente trabajo y permitan obtener datos sobre la realidad de una o varias regiones del Ecuador respecto a los temas investigados.
- Se recomienda al predio estudiado enfatizar en el control de los patógenos identificados como factores predisponentes para la presentación de alteraciones reproductivas en los animales estudiados.
- Se recomienda que los tratamientos antimicrobianos aplicados en el predio estudiado no sean en base a los antibióticos para los cuales las bacterias demostraron resistencia.

REFERENCIAS

- Alvear Uvidia, E. (2010). Caracterización productiva y reproductiva de la "Hacienda San Jorge" para recomendar un programa de inseminación artificial. (Tesis de pregrado). Recuperado el 28/12/13 de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/>
- Azawi, O.I. (2008). Postpartum uterine infection in cattle. *Animal Reproduction Science*. 105, 187–208. Doi:10.1016/j.anireprosci.2008.01.010
- Baez Sandoval, G.M. (2010). Relaciones hormonales y dinámica folicular durante el periodo posparto en vacas Sanmartinero. Tesis de maestría no publicada, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Bartels, C. J. M., van Maanen, C., van der Meulen, AM., Dijkstra, T., Wouda, W. (2005). Evaluation of three enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to *Neospora caninum* in bulk milk. *Vet. Parasitol*, 131, 235–246.
- Bassett, J., McCurnin, D. (2010). *McCurnin's Clinical Textbook for Veterinary Technicians*. Elsevier Saunders: China.
- Bermúdez, V. (s.f). Capítulo XI. Patología de la reproducción en la vaca. Manejo de la crisis abortiva. Recuperado de http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/libro_reproduccionbovina/cap11.PDF
- Bryant, S. (2010). *Anesthesia for veterinary technicians*. Wiley-Blackwell: Singapur.
- Bowman, D. (2009). *Georgis's Parasitology for Veterinarians*. Elsevier Saunders: China.
- Butler WR. (2000). Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci*, 60-61:449-457.

- Cantero, J.G., Mon, L., Cravero, S., Samartino, L., Conde, S., Gutierrez, G., Rovira, T., Gil, A., Piaggio J., Núñez, A., Romano, M.I.(2011). Desarrollo de un nuevo diagnóstico serológico para brucelosis bovina utilizando LPS y cadena O del LPS de *Brucella abortus*. *Revista Veterinaria Argentina*. 31:316.
- Catena, M. (s.f). Fallas reproductivas durante la gestación temprana Principales patógenos de la reproducción.Facultad de Ciencias Veterinarias Programa de Educación Continua Universidad Nacional del Centro. Recuperado de <http://www.vet.unicen.edu.ar/>.
- Cengic, B., Varatonovic, N., Mutevelic, T., Katica, A., Mlaco, A., Cutuk. (2012). Normal and abnormal uterine involution in cows monitored by ultrasound.*Biotechnology in Animal Husbandry*, 28, 2, 205-217.
- Cho, D., Nam, H., Kim, J., Heo, E., Cho, Y., Hwang, I., Kim, J., Kim, J., Jung, S., More, S. (2010). Quantitative rose bengal test for diagnosis of bovine brucellosis. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*, 31, 2, 120-130, DOI: 10.1080/15321811003617420
- Córdova Izquierdo, A., Xolalpa Campos, VM., Córdova Jiménez, MS., Córdova Jiménez, CA., Guerra Liera, JE. Factores que predisponen a enfermedades causantes de abortos en vacas lecheras. Una revisión. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 2, 7-20.
- Cruz Montenegro, MX. (2011). Identificación del parásito "*Neospora Caninum*" en bovinos por medio del método ELISA, en las haciendas ganaderas del cantón Tulcán en la provincia del Carchi. (Tesis de pregrado, Universidad de la Américas). Recuperado de: <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/402/1/TMVZ-2011-11.pdf>

- Darwash AO, Lamming GE, Woolliams JA. (1997). Estimation of genetic variation in the interval from calving to postpartum ovulation of dairy cows. *J Dairy Sci*, 80, 1227-1234.
- De Verdier Klingenberg, K. (2000). Enhancement of clinical signs in experimentally rotavirus infected calves by combined viral infections. *Vet. Rec.* 147: 717–719.
- Dubovi, E. (2013). Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus. *Biologicals*. 41: 8-13.
- Dubey, J.P., Buxton, D., Wouda, W. (2006). Pathogenesis of bovine neosporosis. *J.Comp.Path*, 134, 267-289.
- Dubey, JP., Schares, G., Ortega-Mora, LM. (2007). Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*. 20, 2, 323–367. Doi: 10.1128/CMR.00031-06
- Elsheikha, H., Ahmed Khan, N. (2011). *Essentials of veterinary parasitology*. Caister Academic Press: Reino Unido.
- European Food Safety Authority.(s.f). Antimicrobial Resistance. Recuperado de <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/amr.htm>
- FAO. (s.f). Training manual for embryo transfer in cattle. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/004/T0117E/T0117E05.htm>
- Federation of veterinarians of Europe.(s.f). Antibiotic Resistance & prudent use of antibiotics in Veterinary Medicine. Recuperado de <http://www.fve.org/news/publications/pdf/antibioen.pdf>
- Fernández, F., Costantini, V., Barrandeguy, M., Parreño, V., Schiappacassi, G., Maliandi, F., Leunda, M., Odeón. (2009). Evaluation of experimental vaccines for bovine viral diarrhoea in bovines, ovines and guinea pigs. *Revista Argentina de Microbiología*, 41, 86-91

- Fernández, A., Silveira, E., López, O. (2006). Las infecciones uterinas en la hembra bovina. REDVET, 7,10, 1-38
- Frazer, G. (2007). Clínicas Veterinarias de Norteamérica. Práctica clínica en animales de producción. Teriogenología bovina. Intermédica: Argentina.
- García, F., Lista, D. (2005). Manual de Ganadería de Doble propósito. Capítulo 8: Neosporosis y Tricomoniasis. Recuperado de http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion5/articulo8-s5.pdf
- Givens, D., Marley, S. (2013). Immunology of chronic BVDV infections. *Biologicals*, 41, 26-30.
- Haddad, J.P., Dohoo, IR., VanLeewen J.A. (2005). A review of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle — a Canadian perspective. *Can Vet J*, 46, 230-243.
- Hafez ESE., Hafez B. (2005). Reproducción e inseminación artificial en animales. McGraw Hill Interamericana: México.
- Hecker, Y., Venturini, MC., Campero, C., Odeón, A., Moore, D. (2012). Avances en el desarrollo de vacunas contra la neosporosis bovina. *Revista Argentina de Microbiología*, 44, 216-230.
- Hernández Cerón, J. (s.f). Causas y Tratamientos de la infertilidad en la vaca lechera. Recuperado de <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/departamentos/rumiantes/bovinotecnia/BtRgZooG010.pdf>

- Hernández Sampieri, (2010). Metodología de la investigación. Recuperado el 24 de Enero de 2014 de <http://ebookbrowse.net/hernandez-sampieri-r-metodologia-de-la-investigacion-pdf-d55292993>
- Jones, HE., White, IMS., Brothstone, S. (1999). Genetic evaluation of Holstein Friesian sires for daughter condition score changes using a random regression model. *Anim Sci*, 68, 467-475.
- Kasimanickam, R., Duffield, T.E., Foster, R.A., Gartley, C.J., Leslie, K.E., Walton, J.S., Johnson, W.H. (2005). The effect of a single administration of cephalosporin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with sub clinical endometritis. *Theriogenology*, 63, 818–830.
- Kelling, CL. (1996). The effects of BVDV infection on cattle. *Vet. Med.* 91: 862–863.
- Lértora, WJ. (2003). Diarrea viral bovina: actualización. *Rev. Vet.* 14: 1, 197-222.
- LeBlanc, SJ. (2008). Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *The Veterinary Journal*.176, 102-114.[doi:10.1016/j.tvjl.2007.12.019](https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.019).
- Lozada Rivadeneira, EF. (2004). Determinación de la presencia de anticuerpos a *Neospora caninum* en bovinos en hatos lecheros de la sierra centro-norte del Ecuador, por prueba inmuno enzimática. (Tesis de Doctor en Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Central del Ecuador). No publicada, Quito, Ecuador.
- MacLachlan, NJ., Dubovi, E. (2011). *Fenner's veterinary virology*. China: Elsevier.

- Manual de la OIE sobre animales terrestres. (2008). Diarrea Viral Bovina. Recuperado de http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.04.08_Diarrea_viral_bovina.pdf
- Manual de la OIE sobre animales terrestres. (2008). Tricomonosis. Recuperado de http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es_2008/2.04.17.%20Tricomonosis.pdf
- Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A., Maguire, D. (2013). *Clinical Veterinary Microbiology*. Elsevier: China.
- Matope, G., Muma, J.B., Toft, N., Gori, E., Lund, A., Nielsen, K., Skjerve, E. (2011). Evaluation of sensitivity and specificity of RBT, c-ELISA, and fluorescence polarization assay for diagnosis of brucellosis in cattle using latent class analysis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 141:005, 1-2. Doi: 10.1016/j.vetimm.2011.02.005
- McAllister, MM., Dubey, JP., Lindsay, DS., Jolley, WR., Wills, RA., McGuire, AM. (1998). Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 28: 1473-1478.
- Melendez, P., McHale, J., Bartolome, J., Archbald, L.F., Donovan, G.A. (2004). Uterine involution and fertility of Holstein cows subsequent to early postpartum PGF2 treatment for acute puerperal metritis. *J. Dairy Sci.* 87, 3238– 3246.
- Motta, M., Waltero, I., Abeledo, M.A., Fernández, O. (2012). Estudio retrospectivo de agentes infecciosos que afectan la reproducción bovina en el departamento del Caquetá, Colombia. *Rev Salud Anim*, 34, 3, 159-164.

- OIE. (s.f). Ecuador. Actividades de los nuevos servicios veterinarios. Recuperado el 10/08/2014 de ftp://ftp.oie.int/SAM/2004/ECU_E.pdf
- Ortega-Mora, L.M., Fernández-García, A., Gómez-Bautista, M. (2006). Diagnosis o bovine neosporosis. Recent advances and perspectives. *Acta Parasitológica*, 51,1, 1–14.
- Palmer, C. (2008). Endometritis en vacas lecheras. *Taurus*. 10, 37, 25-32.
- Peter, AT., Vos, PL., Ambrose, DJ. (2009). Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology*, 71, 1333–1342
- Radostits, O., Gay, C., Hinchcliff, K., Constable, P. (2007). *Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats*. Elsevier Saunders: Spain.
- Rekwot, P.I., D. Ogwu, E. Oyedipe. (2002). Influence of bull biostimulation, season and parity on resumption on ovarian activity of zebu (*Bos indicus*) cattle following parturition. *Anim. Reproduc. Sci*, 63, 1-11.
- Saa, LR., Guzmán, L., García-Bocanegra, I., Arenas, AJ., Carbonero, A. (2013). Diarrea vírica: una enfermedad expandida en granjas ecuatorianas. *Revista Elagro*, 205, 33-34.
- Ridpath, J. (2010). Bovine viral diarrhoea virus: Global status. *Vet Clin Food Anim*, 26, 105–121. Doi: 10.1016/j.cvfa.2009.10.007
- Rivers, R., Andrews, E., González-Smith, A., Donoso, G., Oñate, A. (2006). *Brucella abortus*: inmunidad, vacunas y estrategias de prevención basadas en ácidos nucleicos. *Arch. Med. Vet.*, 38, 1, 7-18.
- Roca, B. (2006). Leptospirosis. *REV MED UNIV NAVARRA*, 50 (2), 3-6.

- Roche, JF., Boland, MP. (1991). Turnover of dominant follicles in cattle of different reproductive states. *Theriogenology*, 35, 81-90.
- Rondón, I. (2006). Diarrea viral bovina: patogénesis e inmunopatología. *Rev. MVZ Córdoba*, 11,1, 694-704.
- Sánchez, M., González, C., Castañeda, R., Pulido, A., Guáqueta, H., Aranda, M., Rueda, M. (2011). Evaluación citológica y microbiológica de lavados uterinos en bovinos con problemas reproductivos (estudio preliminar). *Rev. MVZ Córdoba*, 16, 3, 2711-2720.
- San José de Minas. (s.f). Recuperado el 04 de Enero de 2014 de <http://sanjosedeminas.com/>
- Sheldon, I.M., Dobson, H. (2004). Postpartum uterine health in cattle. *Anim. Reprod. Sci*, 82, 295–306.
- Short, Re., Bellows, R.A., Staigmiller, R.B., Berardinelli, J.G., Custer, E.E. (1990). Mecanismos fisiológicos que controlan el anestro y la infertilidad posparto en bovinos de cría. *J. Animal Sci*, 68, 799-816.
- Smith, B. (2010). *Medicina Interna de Grandes Animales*. Elsevier: España.
- Songer, G., Post, K. (2005). *Veterinary Microbiology. Bacterial and fungal agents of animal disease*. Elsevier Saunders: USA.
- Tenover, F. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *American Journal of Infection Control*. 34, 5, S3-S10. Doi: 10.1016/j.ajic.2006.05.219
- The Merck Veterinary Manual. (2010). Overview of Trichomoniasis in Cattle. Recuperado de

http://www.merckmanuals.com/vet/reproductive_system/trichomoniasis/overview_of_trichomoniasis_in_cattle.html

Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Chapin LT, Fogwell RL. (1988). Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 71, 1063-1072.

YOO, SH. (2010). Infectious Causes of Reproductive Disorders in Cattle. *J. Reprod. Dev.* 56, S53–S60.

ANEXOS

ANEXO 1. Tabla de asociaciones mediante el Test exacto de Fisher entre patógenos y condiciones reproductivas

ANEXO 2. Tabla 27. Frecuencia de animales para los distintos valores de títulos identificados de *Leptospira* spp.

ANEXO 3. Fotografías

ANEXO 1

Tabla 26. Asociaciones mediante el Test exacto de Fisher entre patógenos y condiciones reproductivas

ASOCIACIÓN	PRUE- BA ESTA- DÍSTI- CA	P VALOR	Odds ratio	Nivel de confian- za	Intervalo de confianza
Número de partos vs. Metritis 1	Test exacto de Fisher	0.5119	ND	ND	ND
Edad vs. Metritis	Test exacto de Fisher	0.5095	ND	ND	ND
Metritis total vs. Fecha de muestreo	Test exacto de Fisher	0.4672	0.4441665	0.95	0.06387367-2.39461635
DVB 1 vs. Metritis 1	Test exacto de Fisher	0.6618	0.562	0.95	0.04207635-4.97035790
Leptospirosis 1 vs. Metritis 1	Test exacto de Fisher	2.365e-05	7.866	0.95	7.866739-Inf
Neosporosis 1 vs. metritis 1	Test exacto de Fisher	1	0.6498887	0.95	0.01130732-8.30071467
Stai1 vs. Metritis 1	Test exacto de fisher	1	0	0.95	0.00-136.2116
SDGC1 vs. Metritis1	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.00000-19.54535
ENTFAE1 vs. Metritis 1	Test exacto de Fisher	0.3031	2.85	0.95	0.1824-35.5588
Acinesp 1 vs. Metritis 1	Test exacto	2.365e-05	7.86	0.95	7.866739-Inf

	de Fisher				
Strevirmi 1 vs. Metritis 1	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.00-19.545
STAUMRSA1 VS. METRITIS1	Test exacto de Fisher	0.222	0.089	0.95	0.0897435- Inf
Acineiwo 1 vs. Metritis 1	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.00- 136.211
Ecoli 1 vs. Metritis 1	Test exacto de Fisher	1	0.7581181	0.95	0.08095577- 7.06515814
Leptospirosis 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.00000- 49.09382
Neosporosis 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	0.4735	2.397	0.95	0.03396- 57.7846
Entfae2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.0000- 24.6172
Strevibo 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.0000- 310.4912
Citsp 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.0000- 310.4912
Entsp 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.00000- 49.09382
Stau 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.00000- 16.13966
Entaer 2 vs. Metritis 2	Test exacto	0.3945299	3.28349	0.95	0.04460013- 84.43448084

	de Fisher				
Acinesp 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.00000- 49.09382
Staumrsa 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	0.222	0.0897	0.95	0.0897435- Inf
Candsp 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	0.308	4.970014	0.95	0.0623- 148.8615
Ecoli2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	0.5956	0.4365352	0.95	0.006674097- 9.460394325
Strepbo 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.0000- 310.4912
Aspersp 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.0000- 310.4912
Koxy 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.0000- 310.4912
Entag 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	0.201	5.538685	0.95	0.2478774- 371.9825057
Edad vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.419	ND	ND	ND
Número de partos vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.3542	ND	ND	ND
DVB 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.6957	1.48	0.95	0.2114589- 12.3500241
Leptospirosis 1 vs. Estado	Test exacto	0.2963	0	0.95	0.000- 16.4211

reproductivo	de Fisher				
Neosporosis 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.8068355	0.95	0.08513-11.1698
Stai 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.296	0	0.95	0.00000-16.42109
SDGC 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.07977	0	0.95	0.000- 2.121
Entfae 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	1.827	0.95	0.1418-104.8086
Acinesp 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de fisher	1	0.0108	0.95	0.01081168-Inf
Stevirmi 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.077	0.95	0.0771-Inf
Staumrsa 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.077	0.95	0.0772-Inf
Acineiwo 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.077	0.95	0.0772-Inf
Ecoli 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	1.358704	0.95	0.1892-9.8686
Aspersp 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.077	0.95	0.0772-Inf
Koxy 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.077	0.95	0.07717642-Inf
Entag 1 vs. Estado	Test exacto	0.6758	1.715419	0.95	0.2176-21.9494

reproductivo	de Fisher				
Metritis 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.135786	inf	0.95	0.5391982- Inf
DVB 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.6776	1.81	0.95	0.26029- 15.15185
Leptospirosis 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.07977208	0	0.95	0.000- 2.1214
Neosporosis 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.6159	0.5755102	0.95	0.0510- 8.4968
Entfae 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.8296783	0.95	0.0372- 55.4260
Strevibo 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.077	0.95	0.0772- Inf
Citsp 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.2963	0	0.95	0.00000- 16.42109
Entsp2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.07977	0	0.95	0.00- 2.1214
STAU2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	1.299	0.95	0.0852- 78.5783
Entaer 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.2855	0.2779	0.95	0.2779 - Inf
Acinesp 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.5128	0.4046	0.95	0.0047- 34.8500
Staumrsa 2	Test	1	1	0.95	0.0108-

vs. Estado reproductivo	exacto de Fisher				Inf
Candsp 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.5323	0.1701266	0.95	0.1701266-Inf
Ecoli 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.2087	0.2557	0.95	0.02016929-1.93341672
Strepto 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.01081168	0.95	0.01081168-inf
Aspersp 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.01081168	0.95	0.01081168-inf
Koxy 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.01081168	0.95	0.01081168-inf
Entag 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	1.368479	0.95	0.1675-17.7852
Klebsp 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.5128	0.4046498	0.95	0.004707443-34.850051900
Metritis 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.5323	0.1701266	0.95	0.1701- Inf

ANEXO 2

Tabla 27. Frecuencia de animales para los distintos valores de títulos identificados de *Leptospira* spp.

SEROVAR	VALORES DE TÍTULOS IDENTIFICADOS PARA LEPTOSPIRA						TOTAL
	100 M1	200 M1	400 M1	100 M2	200 M2	400 M2	
Ictero	5	3	1	0	1	1	11
Pomona	1	2	0	2	1	1	7
Canicola	0	0	0	1	0	0	1
Harjo	0	2	0	1	0	0	3
Gryppo	1	0	0	1	1	0	3
Wolffi	1	0	0	0	1	0	2
Total	8	7	1	5	4	2	27

Nota: M1 representa resultados de las muestras del día 30 y M2 representa resultados del día 60 posparto.

ANEXO 3

Fotografías



Foto N.-1 Preparación de materiales

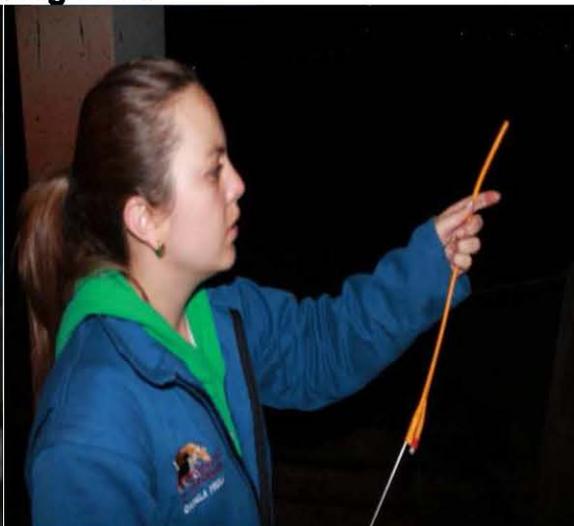


Foto N.-2 Colocación de la sonda Foley en el mandril



Foto N.-3 Amañado de animales



Foto N.-4 Toma de muestras de sangre para pruebas serológicas



Foto N.-5 Inserción de la sonda Foley a través de la vagina



Foto N.-6 Llenado del balón de aire de la sonda Foley



Foto N.-7 Inserción del cloruro de sodio al útero a través de la sonda Foley



Foto N.-8 Rotulación y envoltura con cinta negra de los lavados uterinos



Foto N.-9 Medio de transporte para muestras de sangre

ANEXO 1. Tabla de asociaciones mediante el Test exacto de Fisher entre patógenos y condiciones reproductivas

ANEXO 2. Tabla 27. Frecuencia de animales para los distintos valores de títulos identificados de *Leptospira* spp.

ANEXO 3. Fotografías

ANEXO 1

Tabla 26. Asociaciones mediante el Test exacto de Fisher entre patógenos y condiciones reproductivas

ASOCIACIÓN	PRUE- BA ESTA- DÍSTI- CA	P VALOR	Odds ratio	Nivel de confian- za	Intervalo de confianza
Número de partos vs. Metritis 1	Test exacto de Fisher	0.5119	ND	ND	ND
Edad vs. Metritis	Test exacto de Fisher	0.5095	ND	ND	ND
Metritis total vs. Fecha de muestreo	Test exacto de Fisher	0.4672	0.4441665	0.95	0.06387367- 2.39461635
DVB 1 vs. Metritis 1	Test exacto de Fisher	0.6618	0.562	0.95	0.04207635- 4.97035790
Leptospirosis 1 vs. Metritis 1	Test exacto de Fisher	2.365e-05	7.866	0.95	7.866739- Inf
Neosporosis 1 vs. metritis 1	Test exacto de Fisher	1	0.6498887	0.95	0.01130732- 8.30071467
Stai1 vs. Metritis 1	Test exacto de fisher	1	0	0.95	0.00- 136.2116
SDGC1 vs. Metritis1	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.00000- 19.54535
ENTFAE1 vs. Metritis 1	Test exacto de Fisher	0.3031	2.85	0.95	0.1824- 35.5588
Acinesp 1 vs. Metritis 1	Test exacto	2.365e-05	7.86	0.95	7.866739- Inf

	de Fisher				
Strevirmi 1 vs. Metritis 1	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.00-19.545
STAUMRSA1 VS. METRITIS1	Test exacto de Fisher	0.222	0.089	0.95	0.0897435- Inf
Acineiwo 1 vs. Metritis 1	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.00- 136.211
Ecoli 1 vs. Metritis 1	Test exacto de Fisher	1	0.7581181	0.95	0.08095577- 7.06515814
Leptospirosis 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.00000- 49.09382
Neosporosis 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	0.4735	2.397	0.95	0.03396- 57.7846
Entfae2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.0000- 24.6172
Strevibo 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.0000- 310.4912
Citsp 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.0000- 310.4912
Entsp 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.00000- 49.09382
Stau 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.00000- 16.13966
Entaer 2 vs. Metritis 2	Test exacto	0.3945299	3.28349	0.95	0.04460013- 84.43448084

	de Fisher				
Acinesp 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.00000- 49.09382
Staumrsa 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	0.222	0.0897	0.95	0.0897435- Inf
Candsp 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	0.308	4.970014	0.95	0.0623- 148.8615
Ecoli2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	0.5956	0.4365352	0.95	0.006674097- 9.460394325
Strepbo 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.0000- 310.4912
Aspersp 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.0000- 310.4912
Koxy 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	1	0	0.95	0.0000- 310.4912
Entag 2 vs. Metritis 2	Test exacto de Fisher	0.201	5.538685	0.95	0.2478774- 371.9825057
Edad vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.419	ND	ND	ND
Número de partos vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.3542	ND	ND	ND
DVB 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.6957	1.48	0.95	0.2114589- 12.3500241
Leptospirosis 1 vs. Estado	Test exacto	0.2963	0	0.95	0.000- 16.4211

reproductivo	de Fisher				
Neosporosis 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.8068355	0.95	0.08513-11.1698
Stai 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.296	0	0.95	0.00000-16.42109
SDGC 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.07977	0	0.95	0.000- 2.121
Entfae 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	1.827	0.95	0.1418-104.8086
Acinesp 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de fisher	1	0.0108	0.95	0.01081168-Inf
Strevirmi 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.077	0.95	0.0771-Inf
Staumrsa 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.077	0.95	0.0772-Inf
Acineiwo 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.077	0.95	0.0772-Inf
Ecoli 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	1.358704	0.95	0.1892-9.8686
Aspersp 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.077	0.95	0.0772-Inf
Koxy 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.077	0.95	0.07717642-Inf
Entag 1 vs. Estado	Test exacto	0.6758	1.715419	0.95	0.2176-21.9494

reproductivo	de Fisher				
Metritis 1 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.135786	inf	0.95	0.5391982- Inf
DVB 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.6776	1.81	0.95	0.26029- 15.15185
Leptospirosis 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.07977208	0	0.95	0.000- 2.1214
Neosporosis 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.6159	0.5755102	0.95	0.0510- 8.4968
Entfae 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.8296783	0.95	0.0372- 55.4260
Strevibo 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.077	0.95	0.0772- Inf
Citsp 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.2963	0	0.95	0.00000- 16.42109
Entsp2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.07977	0	0.95	0.00- 2.1214
STAU2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	1.299	0.95	0.0852- 78.5783
Entaer 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.2855	0.2779	0.95	0.2779 - Inf
Acinesp 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.5128	0.4046	0.95	0.0047- 34.8500
Staumrsa 2	Test	1	1	0.95	0.0108-

vs. Estado reproductivo	exacto de Fisher				Inf
Candsp 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.5323	0.1701266	0.95	0.1701266-Inf
Ecoli 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.2087	0.2557	0.95	0.02016929-1.93341672
Strepto 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.01081168	0.95	0.01081168-inf
Aspersp 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.01081168	0.95	0.01081168-inf
Koxy 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	0.01081168	0.95	0.01081168-inf
Entag 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	1	1.368479	0.95	0.1675-17.7852
Klebsp 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.5128	0.4046498	0.95	0.004707443-34.850051900
Metritis 2 vs. Estado reproductivo	Test exacto de Fisher	0.5323	0.1701266	0.95	0.1701- Inf

ANEXO 2

Tabla 27. Frecuencia de animales para los distintos valores de títulos identificados de *Leptospira* spp.

SEROVAR	VALORES DE TÍTULOS IDENTIFICADOS PARA LEPTOSPIRA						TOTAL
	100 M1	200 M1	400 M1	100 M2	200 M2	400 M2	
Ictero	5	3	1	0	1	1	11
Pomona	1	2	0	2	1	1	7
Canicola	0	0	0	1	0	0	1
Harjo	0	2	0	1	0	0	3
Gryppo	1	0	0	1	1	0	3
Wolffi	1	0	0	0	1	0	2
Total	8	7	1	5	4	2	27

Nota: M1 representa resultados de las muestras del día 30 y M2 representa resultados del día 60 posparto.

ANEXO 3

Fotografías



Foto N.-1 Preparación de materiales



Foto N.-2 Colocación de la sonda Foley en el mandril



Foto N.-3 Amañado de animales



Foto N.-4 Toma de muestras de sangre para pruebas serológicas



Foto N.-5 Inserción de la sonda Foley a través de la vagina



Foto N.-6 Llenado del balón de aire de la sonda Foley



Foto N.-7 Inserción del cloruro de sodio al útero a través de la sonda Foley



Foto N.-8 Rotulación y envoltura con cinta negra de los lavados uterinos



Foto N.-9 Medio de transporte para muestras de sangre