



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA



“EFECTO DEL ÁCIDO HIPOCLOROSO COMO ALTERNATIVA
TERAPÉUTICA SOBRE LA ENDOMETRITIS BOVINA POSPARTO.”

DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE MÉDICO
VETERINARIO ZOOTECNISTA

AUTOR:

ANA FABIOLA FUENTES LAGLA

TUTOR:

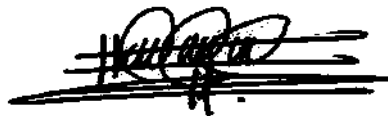
EFRAÍN LOZADA

Ambato – Ecuador

2018

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

El suscrito ANA FABIOLA FUENTES LAGLA, portadora de la cédula de identidad número: 050356294-4, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de Investigación titulado: **“EFECTO DEL ÁCIDO HIPOCLOROSO COMO ALTERNATIVA TERAPÉUTICA SOBRE LA ENDOMETRITIS BOVINA POSPARTO.”** es original, auténtico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas”.



Ana Fabiola Fuentes Lagla

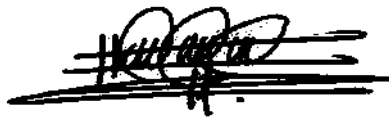
C.I.: 050356294-4

DERECHOS DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado: **“EFECTO DEL ÁCIDO HIPOCLOROSO COMO ALTERNATIVA TERAPÉUTICA SOBRE LA ENDOMETRITIS BOVINA POSPARTO”** como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Médico Veterinario y Zootecnista, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él”.

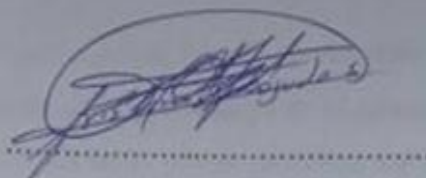


Ana Fabiola Fuentes Lagla

C.I.: 050356294-4

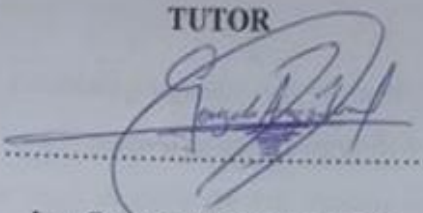
**"EFECTO DEL ÁCIDO HIPOCLOROSO COMO ALTERNATIVA
TERAPÉUTICA SOBRE LA ENDOMETRITIS BOVINA POSPARTO"**

REVISADO POR:



Dr. Mg. Efraín Lozada

TUTOR



Ing. Gonzalo Aragadvay, M Sc.

ASESOR DE BIOMETRIA

APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN:

FECHA



Ing. Mg. Hernán Zurita Vásquez

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

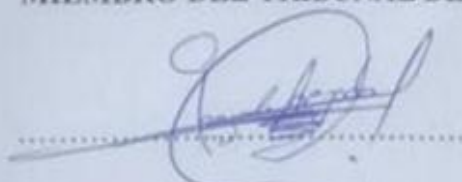
24/07/2018



Ing. Mg. Ricardo Guerrero

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

24/07/2018



Ing. Gonzalo Aragadvay, M Sc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

24/07/2018

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por el don de la vida, por haberme guiado y acompañado en los triunfos y momentos difíciles a lo largo de mi formación profesional, aspirando cumplir todas las metas que me proponga por medio de su bendición.

A mis padres Luis y Fabiola porque en todo momento me ha dado su apoyo y cariño incondicional, y no hay manera de agradecer toda una vida de lucha, sacrificio y esfuerzo constante, de modo que este objetivo logrado también es suyo.

A Hernán Jácome, mi novio, quien con su amor, paciencia y entrega ha sido una persona incondicional en mi vida, ha sido mi soporte, mi mejor amigo, mi apoyo, para seguir adelante y no bajar los brazos en los momentos difíciles

A mis docentes Dr. Marco Rosero, Dr. Efraín Lozada, Ing. Gonzalo Aragdvay, Ing. Ricardo Guerrero, gracias por la orientación y ayuda que me han brindado para la realización de esta tesis.

Los amig@s son como una inversión a largo plazo. Cada día que pasa van ganando más valor. Dios les pague por esa amistad tan sincera y ajena de interés.

CONTENIDO

CAPITULO I.....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO II.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	3
2.1.1. Uso del ácido hipocloroso.....	3
2.2. CATEGORIAS FUNDAMENTALES.....	9
2.2.1. Ácido hipocloroso.....	9
➤ Ácido hipocloroso en el organismo.....	11
➤ Obtención.....	12
➤ Efecto Antimicrobiano del HClO.....	13
2.2.2. Oxitetraciclina.....	15
2.2.3. Endometritis y puerperio del bovino.....	16
➤ El puerperio.....	16
➤ Involución uterina.....	17
➤ Fases del puerperio.....	17
➤ Restablecimiento de la forma del cérvix.....	18
➤ Involución caruncular y reparación endometrial.....	19
➤ Flora bacteriana, infección uterina y mecanismos de defensa.....	21
➤ Endometritis.....	22
➤ Etiología.....	22

➤ Clasificación de las endometritis puerperales.	23
➤ Endometritis subclínica.	24
➤ Endometritis catarral. (Endometritis de I grado).....	24
➤ Endometritis mucopurulenta. (Endometritis de II grado).....	24
➤ Endometritis purulenta. (Endometritis purulenta de III grado).....	25
➤ Piometra. (Endometritis purulenta de IV grado).....	25
CAPÍTULO III.....	26
3.1. HIPÓTESIS	26
3.2. OBJETIVOS.....	26
3.2.1. Objetivo General.....	26
3.2.2. Objetivos Específicos	26
CAPÍTULO IV.....	27
4. MATERIALES Y MÉTODOS	27
4.1. UBICACIÓN DEL ENSAYO	27
4.2. CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR	27
4.3. EQUIPOS Y MATERIALES	28
4.3.1. Materiales.....	28
4.3.2. Materiales de campo	28
4.4. FACTORES DE ESTUDIO.....	29
4.4.1. Ácido Hipocloroso (HOCL) al 0.5%	29
➤ Dosis.....	29
➤ Tiempo de permanencia en el útero	29
4.4.2. Exámenes complementarios.....	30
➤ Hemograma serie roja	30
➤ Leucograma.....	30
➤ Examen endometrial.....	30

Citología.....	30
Cultivo	31
4.5. TRATAMIENTOS	31
4.5.5. Diseño de campo	32
4.6. DISEÑO EXPERIMENTAL	32
4.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO	33
Reseña y anamnesis del paciente	33
Plan de exploración clínica	33
Limpieza de la región perianal	34
Diagnóstico de vacas con endometritis	34
Inserción del espéculo vaginal	34
Toma de muestras	35
➤ Para el cultivo y citología.....	35
➤ Sangre.....	35
Aplicación de los tratamientos	35
4.8. VARIABLES RESPUESTA.....	36
4.7.1. Hemograma	36
➤ Serie roja	36
Determinación del Hematocrito, %	36
Determinación de Hemoglobina, (10^6 /UI).....	37
Recuento de Eritrocitos, (g/dL)	37
Determinación de Índices Eritrocitarios	37
➤ Leucograma.....	38
Recuento Diferencial de Leucocitos, (10^3 / μ l)	39
Neutrófilos segmentados, (10^3 / μ l).....	40
Eosinófilos, (10^3 / μ l).....	40

Basófilos, (103/ μ l).....	40
Linfocitos, (103/ μ l)	41
Monocitos, (103/ μ l).....	41
4.7.2. Examen endometrial.....	41
➤ Cultivo.....	41
Agentes Patógenos de las endometritis.....	42
➤ Cepillado endometrial (Cytobrush).....	42
4.9. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN	43
CAPÍTULO IV.....	44
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	44
5.1. Serie roja.....	44
5.3.4. Volumen corpuscular medio (VCM)	44
5.3.6. Plaquetas	45
5.2. Serie blanca.....	47
5.2.1. Leucocitos	47
5.2.2. Neutrófilos segmentados.....	48
5.2.3. Neutrófilos en banda, Linfocitos, Eosinófilos, Basófilos y Monocitos	49
5.3. Citología.....	51
5.4. Cultivo	52
5.4.1. Eschericha coli	52
5.4.2. Actinomyces pyogenes	53
CAPITULO VI.....	54
CONCLUSIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS	54
6.1. Conclusiones.....	54
6.2. Bibliografía	55
6.3. Anexos	59

CAPITULO VII.....	64
PROPUESTA	64
7.1. Datos informativos.....	64
7.2. Antecedentes de la propuesta.....	64
7.3 Justificación	65
7.4. Objetivo	65
7.5. Análisis de factibilidad	66
7.5.1 Aspecto técnico	66
7.5.2 Aspecto financiero	66
7.5.3 Aspecto social y ambiental.....	66
7.6. Fundamentación.....	66
7.7. Metodología, modelo operativo.....	67
7.8. Administración.....	67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Concentracion y tiempo de acción del HCLO con y sin albumina.....	15
Tabla 2. Características meteorológicas.....	28
Tabla 3. Descripción de tratamientos.....	31
Tabla 4. Esquema del análisis de varianza del diseño completamente al azar.....	33
Tabla 5. Resultados del hemograma serie roja pre y pos tratamiento.....	46
Tabla 6. Resultados del hemograma pre y pos tratamiento en promedio con rangos	46
Tabla 7. Resultados del hemograma serie blanca pre y pos tratamiento.....	50
Tabla 8. Resultados del hemograma pre y pos tratamiento en promedio con rangos	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 .Generación de forma natural del HCIO (Lab ECA, 2013).....	10
Figura 2 . Representación esquemática de la producción de HOCl a nivel intracelular durante el estallido respiratorio Lafaurie et al. (2015).....	11
Figura 3 . Efecto cloro-aurina	14
Figura 4 . Involución uterina en la vaca durante el puerperio Hafez, (2007).	17
Figura 5 . Evolución de las endometritis por citología	51
Figura 6 . Resultados del cultivo para Escherichia coli	52
Figura 7 . Resultados del cultivo para Actinomyces pyogenes	53
Figura 8 . Animales del sector de Guanguibana	59
Figura 9 . Animales del sector de San Carlos	59
Figura 10 . Animales del sector de El Rosal	59
Figura 11 . Sujeción del animal en manga	59
Figura 12 . Sujeción manual del animal.....	59
Figura 13 . Agua con Yodo para embrocado	59
Figura 14 . Lavado de la zona vulvar.....	60
Figura 15 . Secado de la zona vulvar	60
Figura 16 . Introducción del espéculo.....	60
Figura 17 . Uso de la lámpara para el chequeo	60
Figura 18 . Toma de muestra intrauterina	60
Figura 19 . Muestra para cultivo	60
Figura 20 . Toma de muestra sanguínea	61
Figura 21 . . Introducción del catéter para la infusión	61
Figura 22 . Extracción del producto.....	61
Figura 23 . Chequeo postratamiento	61
Figura 24 . Oxitetraciclina para infusión	61
Figura 25 . Infusión de oxitetraciclina al 5 %	61
Figura 26 . Infusión de HOCL al 0.5 %	62
Figura 27 . Infusión de HOCL al 0.5 %	62
Figura 28 . Tinción de las placas citológicas	62
Figura 29 . Placas teñidas.....	62
Figura 30 . Ejemplo de la reseña del animal	63

RESUMEN EJECUTIVO

El objetivo de la presente investigación fue Evaluar el efecto del ácido hipocloroso como alternativa terapéutica sobre la endometritis bovina posparto, se evaluó a 32 vacas productoras de leche diagnosticadas con endometritis posparto, mediante el análisis de sangre, examen endometrial y cultivo de secreción uterina pre y post tratamiento, estos fueron distribuidos en cuatro tratamientos: T1= oxitetraciclina (OTC) al 5% por vía intrauterina durante 10 minutos, T2 = OTC al 5% por vía intrauterina durante 15 minutos, T3= ácido hipocloroso (HClO) al 0.5% por vía intrauterina durante 10 minutos, y T4= HClO al 0.5% por vía intrauterina durante 15 minutos, distribuidos en ocho repeticiones en cada tratamiento. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con análisis de varianza y prueba de Tukey al 5%. El leucograma reveló que los valores leucocitarios de T4 ($9.76 \times 10^3/\mu\text{L}$) evidencian una mejor respuesta involutiva del proceso inflamatorio ($P < 0,0001$) en comparación con el resto de tratamientos (T3= $10.42 \times 10^3/\mu\text{L}$, T2= $16.06 \times 10^3/\mu\text{L}$, y T1= $16.45 \times 10^3/\mu\text{L}$); los neutrófilos segmentados en T4 ($8.23 \times 10^3/\mu\text{L}$) también mostraron al final del experimento una mejor respuesta ($P < 0,0001$), frente a los demás tratamientos (T3= $7.27 \times 10^3/\mu\text{L}$, T2= $14.31 \times 10^3/\mu\text{L}$, y T1= $15 \times 10^3/\mu\text{L}$), en cuanto a los neutrófilos en banda, linfocitos, eosinófilos y monocitos no se observó diferencias ($P=0,0519$, $P=$ respectivamente). Con respecto al análisis citológico, se observó que en todos los tratamientos catalogados como procesos severos se erradican completamente, pero el tratamiento 4 se destaca por su mayor % de citologías catalogadas como un proceso leve. En cuanto a los resultados del cultivo para *E. coli*, T3 y T4 presentaron mejor respuesta antimicrobiana ante el proceso infeccioso, y con respecto al *A. pyogenes* en todos los tratamientos se observa una disminución notable de colonias bacterianas. Dados estos resultados, se infiere que la infusión intra uterina de ácido hipocloroso al 0.5% durante 15 minutos, mejora la respuesta paliativa del curso de la enfermedad, lo que repercutirá en una involución uterina más corta con mejores resultados reproductivos y productivos.

Palabras clave: Endometritis, ácido hipocloroso, alternativa terapéutica, exámenes complementarios.

SUMMARY

The objective of the present investigation was to Evaluate the effect of hypochlorous acid as a therapeutic alternative on postpartum bovine endometritis, 32 milk producing cows diagnosed with postpartum endometritis were evaluated, through blood analysis, endometrial examination and culture of uterine secretion before and after treatment, these were distributed in four treatments: T1 = 5% oxytetracycline (OTC) intrauterine for 10 minutes, T2 = 5% OTC intrauterine for 15 minutes, T3 = 0.5% hypochlorous acid (HClO) intrauterine for 10 minutes, and T4 = 0.5% HClO intrauterine for 15 minutes, distributed in eight repetitions in each treatment. A completely randomized block design (DBCA) with analysis of variance and Tukey test at 5% was used. The leukogram revealed that the leukocyte values of T4 (9.76 $10^3 / \mu\text{L}$) show a better involucional response of inflammation ($P < 0.0001$) in comparison with the rest of treatments (T3 = 10.42 $10^3 / \mu\text{L}$, T2 = 16.06 $10^3 / \mu\text{L}$, and T1 = 16.45 $10^3 / \mu\text{L}$); the neutrophils segmented in T4 (8.23 $10^3 / \mu\text{L}$) also showed a better response at the end of the experiment ($P < 0.0001$), compared to the other treatments (T3 = 7.27 $10^3 / \mu\text{L}$, T2 = 14.31 $10^3 / \mu\text{L}$, and T1 = 15 $10^3 / \mu\text{L}$), as regards the neutrophils in band, lymphocytes, eosinophils and monocytes no differences were observed ($P = 0,0519$, $P =$ respectively). Regarding the cytological analysis, it was observed that in all the treatments cataloged as severe processes they are completely eradicated, but treatment 4 stands out for its higher % of cytologist cataloged as a mild process. Regarding the results of the culture for *E. coli*, T3 and T4 presented better antimicrobial response to the infectious process and with respect to *A. pyogenes* in all the treatments, a remarkable decrease of bacterial colonies is observed. Given these results, it is inferred that the intra-uterine infusion of hypochlorous acid at 0.5% for 15 minutes, improves the palliative response of the course of the disease, which will result in a shorter uterine involution with better reproductive and productive results.

Key words: Endometritis, hypochlorous acid, therapeutic alternative, complementary exams.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

La ganadería, es una actividad generalizada y desarrollada prácticamente en todo el país, es considerada como un renglón socioeconómico para el desarrollo del campo; ha sido y es cuestionada fuertemente por su desempeño productivo e impacto ambiental. Por lo tanto, debe equilibrarse en un nivel tecnológico aceptable y sostenible. En el ámbito reproductivo de la ganadería, la meta principal del productor es conseguir un parto por año, para que el negocio sea rentable, a su vez, para alcanzar dicho objetivo se debe recurrir a una serie de manejos y consideraciones, pero existen factores que disminuyen el incremento sostenible de la eficiencia productiva entre los que se destacan altos índices de mortalidad y bajos índices de natalidad. La mortalidad del ganado tiene la base fundamental en la desnutrición o subnutrición seguida por las enfermedades parasitarias o infecciosas; la baja natalidad por su lado resultado de la temible infertilidad del ganado que de forma temporal o definitiva impide el crecimiento y prolificidad de los rebaños. (Dubuc et al, 2010) mencionan que la infertilidad del ganado vacuno en Latinoamérica alcanza una incidencia entre 30 y 40 %, sigue siendo un fenómeno de preocupación para el ganadero por ocasionar grandes pérdidas económicas.

Las principales causas de infecciones del tracto reproductor de la hembra en especial, la contaminación del útero con microorganismos que se favorecen cuando concurren diferentes factores predisponentes relacionados con la higiene, el tipo de parto, la atención al puerperio, entre otros. Entre los problemas reproductivos más comunes de las vacas se encuentran las infecciones uterinas en tres diferentes síndromes clínicos: endometritis, metritis y piometra. Hablando de la endometritis se trata de la inflamación de la capa glandular del útero o endometrio, producto de la acción de un

microorganismo o sus toxinas u otros factores de tipo mecánico. El término inflamación del endometrio o endometritis se puede aceptar literalmente en los casos de infecciones muy leves, en que solo se afecta el endometrio (Martínez, Prado & López, 2006).

El ácido hipocloroso (HClO), un compuesto inorgánico bactericida de inmunidad innata que hace parte de un nuevo grupo de sustancia microbicidas conocidas como “moléculas antimicrobianas no antibióticas” que por su amplio espectro, rápida acción, amplio margen de seguridad, concentración y forma de estabilización, puede ser utilizado en procesos de desinfección y/o para controlar y prevenir un amplio número de infecciones en piel y mucosas. El HClO ha demostrado tener un efecto antimicrobiano de amplio espectro abarcando microorganismos clínicamente relevantes como lo son bacterias Gram negativas, Gram positivas, parásitos y hongos. En bacterias Gram positivas, el HClO actúa sobre los grupos aminos de la glicina presente en el peptidoglucano, por lo que la cloración en este grupo de microorganismos difiere en cuanto al blanco de acción. Sin embargo, la acción antimicrobiana del HClO es mayor para microorganismos Gram negativos (por la estructura de su pared) que para la flora Gram positiva (Lafaurie, Calderón, Zaror, Millán & Castillo, 2015). Por lo tanto, en dicho estudio de investigación se evaluó el efecto del ácido hipocloroso como alternativa terapéutica sobre endometritis bovina posparto.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

2.1.1. Uso del ácido hipocloroso

Lafaurie et al. (2009) evaluaron la eficacia antimicrobiana del ácido hipocloroso sobre microorganismos con potencial patogénico en cavidad oral; evaluando la efectividad antimicrobiana y anti fúngica del ácido hipocloroso en concentraciones de 125, 250, 500, 1000 y 1500 ppm a diferentes tiempos de acción: 1, 5, 10 y 15 minutos, sobre diferentes cepas bacterianas ATCC y sobre *Cándida albicans* ATCC 90028. Se empleó la técnica de Kelsey Maurer, verificando la presencia o ausencia de unidades formadoras de colonias (UFC). Cada ensayo se realizó por triplicado con sus respectivos controles de viabilidad. Obteniendo como resultados la inhibición bacteriana a una concentración de 500 ppm durante 1 minuto para *S. sanguis*, *S. mutans*, *E. faecalis*, *E. corrodens*, *C. rectus*, *F. nucleatum*, *E. cloacae*, *K. oxytoca* y *K. pneumoniae*. Indican que el ácido hipocloroso se constituye como una alternativa antimicrobiana para bacterias con capacidad patogénica en la cavidad oral. En cuanto a *C. albicans* se inhibió a una concentración de 500 ppm por 10 minutos, lo que indica bajo poder anti fúngico. Concluyendo que concentraciones más bajas se requieren tiempos más prolongados de acción ya que el HClO tuvo una efectividad del 100% a concentraciones iguales o superiores de 500 ppm a los 10 minutos de acción, 1000 y 1500 ppm a los 5 minutos sobre *Cándida albicans*. Se requieren estudios clínicos para evaluar la efectividad del ácido hipocloroso in vivo.

El ácido hipocloroso (HClO) es un potente antimicrobiano no antibiótico utilizado en medicina clínica para el control de infecciones y reparación de heridas. In vivo el HClO es sintetizado por células del sistema inmune para el control del agente patógeno durante la fagocitosis y ha sido sintetizado y estabilizado en el laboratorio

con potenciales aplicaciones profilácticas y terapéuticas en medicina humana. El efecto antimicrobiano, antiinflamatorio y en la proliferación celular lo hacen una sustancia que debe ser más evaluada para uso clínico en otras áreas de salud. Existe un interés en el desarrollo de nuevas sustancias antimicrobianas de uso tópico en odontología para el control del biofilm dental, la inflamación gingival y para la cicatrización de heridas de la mucosa oral. Concluyendo en este estudio que el HClO actúa como agente antiplaca y en la reducción de la inflamación gingival especialmente en pacientes con periodontitis, en endodoncia regenerativa y en la reparación de heridas (Lafaurie, et al., 2015).

Moreno (2010) analizó un grupo de 32 perros ubicados en la Universidad de la Salle; el cual se dividió en dos: Al grupo 1, grupo experimental (n=16) y al grupo 2 (n=16) grupo control, se inoculó vía oral *Helicobacter spp* a una concentración de 9×10^8 UFC, 3 ml vía oral para cada animal. Posteriormente realizaron un diagnóstico confirmativo con endoscopia a los 15 días siguientes a la inoculación con *Helicobacter pylori* más prueba de ureasa, para los dos grupos. En cada endoscopia realizada mostró cambios de coloración en mucosas observando petequias, congestión y moco en la mucosa gástrica. Mientras tanto al grupo experimental le administraron de Ácido Hipocloroso 500 ppm a una dosis de 1ml /Kg. / día en tres tomas diarias durante 15 días. Y a los 20 días se realizó endoscopia y la prueba de ureasa para el grupo experimental y grupo control. El grupo experimental mostró como resultado efectividad el ácido hipocloroso del 100% en la eliminación del *H. pylori*, con cicatrización del 93%, cambio de coloración de mucosa 81%, reflujo del 12%. Mientras a los del grupo control sin tratamiento; con endoscopia al final del tratamiento del grupo experimental dando como resultado disminución del *Helicobacter pylori* en un 43%, con cicatrización del 13% y cambio de coloración de tejido gástrico del 25%. Con respecto al tratamiento del ácido hipocloroso frente al *Helicobacter pylori* muestra una efectividad del 95% ya que solo uno de los perros tratados no tuvo respuesta en la cicatrización pero tiene respuesta en la disminución de bacterias y con respecto al aspecto gástrico de los perros tratados (la gastritis) nos indica recuperación macroscópica de la mucosa gástrica.

Riveros (2003) en su investigación sobre actividad bactericida del ácido hipocloroso evaluó la efectividad bactericida del HClO sobre cinco cepas bacterianas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis*, *Pseudomona aeruginosa* causantes de infección intrahospitalaria, utilizando la técnica de Kelsey Maurer en condiciones controladas de temperatura, concentración del HClO y tiempo de acción; realizaron una modificación con adición de albúmina al 5%. Se determinó que el HClO es efectivo a concentraciones iguales o mayores a 900 ppm en todas las cepas, luego de 10 minutos de acción para todas las cepas estudiadas con o sin adición de proteínas. Por otra parte encontraron que las diferentes temperaturas de almacenamiento no interfieren con su acción bactericida, lo que permite a este desinfectante poder ser utilizado en cualquier región o zona climática; aunque existe evidencia que los desinfectantes clorados son más efectivos a temperaturas altas.

Wang et al. (2007) determinaron la producción química del HClO, la estabilización y la actividad biológica de una formulación farmacéuticamente útil. El HClO estabilizado está en forma de una solución fisiológicamente equilibrada en solución salina al 0,9% a un intervalo de pH de 3,5 a 4,0. La distribución de las especies de cloro en solución es función del pH. En solución acuosa, HClO es la especie predominante en el intervalo de pH de 3 a 6. A valores de pH inferiores a 3,5, la solución existe como una mezcla de cloro en fase acuosa, cloro gas, tricloruro (Cl_3^-) y HClO. A pH mayor que 5,5, el hipoclorito de sodio (NaOCl) comienza a formarse y se convierte en la especie predominante en el pH alcalino. Para mantener la solución de HClO en una forma estable, maximizar sus actividades antimicrobianas y minimizar los productos secundarios indeseables, el pH debe mantenerse en 3,5 a 5. Para lo cual ellos usaron esta forma estabilizada de HClO, demostrando que posee una actividad antimicrobiana de amplio espectro a concentraciones que oscilan entre 0,1 y 2,8 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ensayados a temperatura ambiente durante 60 min en *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus spp*, *Proteus mirabilis*, *Cándida albicans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*. La excepción es *Aspergillus niger*, donde se requirió una concentración mayor de HClO (86,6 $\mu\text{g} /$

ml) para la destrucción eficaz del organismo bajo las mismas condiciones de ensayo. También describieron el perfil de citotoxicidad in vitro en células L929 y el perfil de seguridad in vivo de HClO en diversos modelos animales a concentraciones de 0,01%, 0,03% y 0,10% en un estudio de sensibilización dérmica de diseño Buehler estándar en cobayas no mostró evidencia de reacción dérmica. De forma similar, los estudios de toxicidad de 28 días en ratas heridas y mini-cerdos con aplicación diaria de HClO estabilizado a 0,01%, 0,03% y 0,1% junto con un apósito ocluido de 24 horas no mostraron evidencia de toxicidad sistémica. El examen microscópico del área de la herida mostró los signos esperados de herida y posterior reparación de la herida.

Selkon, Cherry, Wilson & Hughes (2006) evaluaron clínicamente una versión de HOCl en el tratamiento de úlceras crónicas de miembros inferiores. El estudio tuvo como objetivo determinar si tiene un papel como un tratamiento adicional para las úlceras venosas crónicas que no han curado con el tratamiento convencional. En dicho estudio se admitieron 30 pacientes, 10 lograron una reducción del 44% de la úlcera después de tres semanas de tratamiento estándar. Además del tratamiento de compresión estándar, los 20 pacientes restantes recibieron lavados de HClO durante 12 semanas. De las 20 úlceras, nueve (45%) curadas y cinco (25%) reducidas en tamaño en más del 60%. Estos hallazgos confirman la eficacia clínica del tratamiento de las úlceras venosas de la pierna con lavados de Ácido hipoclorosos. El uso de lavados de HOCl como terapia adyuvante para úlceras de pierna venosas recalcitrantes aumenta apreciablemente la cicatrización y alivia rápidamente el dolor.

Chen, Chen & Ding, (2016) estudiaron la eficacia del ácido hipocloroso para reducir los biofilms en superficies de aleación de titanio in vitro. El presente estudio in vitro evaluó y comparó la eficacia del ácido hipocloroso (HClO), el hipoclorito de sodio (NaOCl) y la clorhexidina (CHX) en la eliminación de Gram negativos (*E. coli* y *P. gingivalis*) y Gram positivos (*E. faecalis*) y *S. sanguinis*). Se apreció el efecto del volumen de riego y el tiempo de exposición sobre la eficacia antimicrobiana de HClO frente a las cuatro cepas. Notablemente, la proporción en volumen de 4:1 de HClO a solución bacteriana mató completamente a las bacterias. Este resultado fue

similar a la eficacia de NaOCl al 1,3% y CHX al 0,2% en una relación en volumen de 1: 1 con un tiempo de tratamiento de 30 s. En cuanto a la tinción viva / muerta, la observación de morfología, el ensayo de Alamar Blue (análisis clínico) y la detección de lipopolisacárido (LPS) se examinaron en discos de aleación de titanio contaminados con chorro de arena y biopelícula después del tratamiento con los tres agentes quimioterapéuticos. Los resultados indicaron que el HClO exhibía una mejor eficacia antibacteriana con volúmenes de irrigación crecientes. HClO logró una mayor eficacia antibacteriana a medida que aumentaba el tiempo de tratamiento. Se observó una disminución en la efectividad antimicrobiana cuando se aisló HClO y se dejó en contacto con el aire. Todos los irrigants mostraron actividad antibacteriana y mataron la mayoría de las bacterias en las superficies de aleación de titanio de implantes contaminados con biofilm. Además, HClO redujo significativamente la concentración de LPS de *P. gingivalis* en comparación con NaOCl y CHX. Por lo tanto, un antiséptico HClO puede ser eficaz para limpiar superficies de implantes contaminadas con biofilm.

Sánchez et al. (2011) realizaron una evaluación citológica y microbiológica de lavados uterinos en bovinos con problemas reproductivos en dos hatos del Altiplano Cundiboyacense. Se evaluaron 21 muestras de lavados uterinos de vacas con historia de problemas reproductivos procedentes de dos hatos lecheros, en el primer hato ubicado en Sibaté (Cundinamarca) se muestrearon 10 animales y en el segundo ubicado en Ventaquemada (Boyacá) se obtuvieron las 11 muestras restantes. Para la evaluación citológica se utilizaron las tinciones de Gram y Wright. La determinación de la flora bacteriana se realizó mediante técnicas estándar en microbiología para la identificación de bacterias no exigentes, adicionalmente se realizaron pruebas de sensibilidad por la técnica de difusión de Kirby-bauer. Encontrando en la citología bacilos y cocos Gram positivos, células epiteliales de descamación uterina (CEDU) y respuesta inflamatoria (RI) mediada por polimorfonucleares (PMN). Los aislamientos bacterianos correspondieron a *Lactobacillus spp* como flora bacteriana normal del tracto genital (16.66%) y *Klebsiella spp* como flora acompañante (16.66%); adicionalmente se aislaron bacterias patógenas causantes de problemas reproductivos como *Streptococcus spp*, β hemolítico (33.33%), *Streptococcus spp* alfa hemolítico (50%) y *Streptococcus sp.* γ hemolítico (50%) y *Arcanobacterium*

pyogenes (*Corynebacterium-Actinomyces pyogenes*) (16.66%); en un 9.52% de las muestras se observaron espiroquetas.

Le Blanc et al. (2002), en su estudio el objetivo fue validar diagnósticos para la endometritis clínica posparto y su impacto en el rendimiento reproductivo en vacas lecheras para lo cual, utilizaron 1.865 vacas procedentes de 27 establecimientos examinadas entre los 20 y 33 días postparto, mostró que la presencia de varios signos clínicos asociados con endometritis varió de acuerdo al tiempo de postparto en que fueron detectados. Estos investigadores evaluaron por palpación transrectal el diámetro del cérvix, simetría y diámetro de los cuernos y la presencia de fluido uterino; y la presencia de descargas uterinas, visibles por la vulva o mediante vaginoscopia. Utilizando un intervalo parto-preñez aumentado, sólo las descargas purulentas externamente visibles o el diámetro cervical mayor a 7,5 cm luego de 20 días postparto, o una descarga mucopurulenta visible luego de 26 días postparto usando vaginoscopia, fueron útiles para identificar vacas con endometritis. Sin vaginoscopia, el 44 % de los casos habrían sido no diagnosticados.

Kim & Cha (2014) en su investigación sobre la taurina que proporciona efectos anti-inflamatorios, ya que es uno de los aminoácidos no esenciales más abundantes en mamíferos y tiene muchas funciones fisiológicas en los sistemas nervioso, cardiovascular, renal, endocrino e inmunológico. Tras la inflamación, la taurina se somete a halogenación en fagocitos y se convierte en taurina cloramina (TauCl) y taurina bromamina. En los neutrófilos activados, TauCl se produce por reacción con hipoclorito (HOCl) generado por el sistema de mieloperoxidasa dependiente de haluro. TauCl se libera de neutrófilos activados después de su apoptosis e inhibe la producción de mediadores inflamatorios tales como, anión superóxido, óxido nítrico, factor de necrosis tumoral alfa (NFT α), interleucinas y prostaglandinas en células inflamatorias en tejidos inflamatorios. Además, TauCl aumenta las expresiones de las proteínas antioxidantes, como la hemo oxigenasa 1, la peroxirredoxina, la tiorredoxina, la glutatión peroxidasa y la catalasa en los macrófagos. Por lo tanto, un papel central de TauCl producido por los neutrófilos activados es disparar la resolución de la inflamación y proteger a los macrófagos y tejidos circundantes de ser dañado por los metabolitos de oxígeno reactivo citotóxicos sobreproducidos

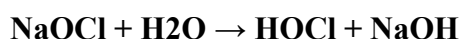
durante la inflamación. Esto se logra atenuando la producción adicional de citoquinas proinflamatorias y metabolitos reactivos del oxígeno y también aumentando los niveles de proteínas antioxidantes que son capaces de eliminar y disminuir la producción de metabolitos citotóxicos de oxígeno. Estos hallazgos sugieren que el TauCl liberado de neutrófilos activados puede estar implicado en los procesos de recuperación de células afectadas por tensiones oxidativas inflamatorias y por lo tanto TauCl podría ser utilizado como un agente fisiológico potencial para controlar los síntomas patogénicos de enfermedades inflamatorias crónicas.

2.2. CATEGORIAS FUNDAMENTALES

2.2.1. Ácido hipocloroso

Cusimano, Cusimano & Cusimano (1984) mencionan que los usos terapéuticos del HOCl inician en la Primera Guerra Mundial con los estudios de Alexis Carrel y Henry Dakin quienes obtuvieron una solución de hipoclorito de sodio acidificado y tamponado (solución de Dakin), el cual generaba concentraciones ideales de HOCl, la cual fue utilizada exitosamente para desinfección de heridas. La solución de Dakin modificada a una concentración del 0,025% mostro ser terapéuticamente efectiva como apósito en el manejo de heridas ya que preserva las propiedades terapéuticas con la eliminación del efecto tóxico potencial en la cicatrización de heridas. Este procedimiento fue conocido como la técnica de Carrel-Dakin y se convirtió en el método para tratar las heridas infectadas durante la guerra.

El hipoclorito de sodio (NaOCl), mejor conocido como lejía, al hidrolizarse genera dos sustancias; el ácido hipocloroso (HClO) y el hidróxido de sodio NaOH-. El ácido hipocloroso es la sustancia acida responsable del papel desinfectante y oxidante de la lejía, mientras que el efecto blanqueador se atribuye a la sal alcalina del hidróxido de sodio.



El ácido hipocloroso vendría a ser entonces la sustancia responsable de ser el potente biocida y poder eliminar los microorganismos en el hipoclorito de sodio o en la lejía. El hipoclorito de sodio tiene un pH alcalino o básico (9- 14) y su acción aumenta conforme aumenta el pH, siendo una sustancia altamente irritante y corrosiva. Por su parte el ácido hipocloroso como su nombre lo dice presenta un pH de ácido a neutro (5.5 – 7) acidificando así el tejido epitelial e inhibiendo la proliferación bacteriana, lo que permite pueda trabajar directamente en la piel sin causar ningún daño. La piel está especialmente adaptada para protegernos de las bacterias nocivas e irritantes. Uno de los factores más importantes para la salud es mantener intacta esta capa protectora. La piel humana está cubierta por una capa delgada de sebo, urea y otros aminoácidos que tienen un pH ligeramente ácido de 4.5 a 6.0. La piel canina y felina presenta el mismo mecanismo pero con un pH de 5.5 a 6.5. El pH de la piel de la mayoría de especies como bovinos, equinos, porcinos, aves etc. está dentro de este rango de ligeramente ácido a neutro (5 – 7). Este "manto ácido" actúa inhibiendo el crecimiento de bacterias y mantiene intactas las proteínas de queratina. Sobre la piel, las sustancias alcalinas destruyen el manto ácido y la hacen vulnerable a las bacterias, hongos y demás irritantes (Lab ECA, 2013).

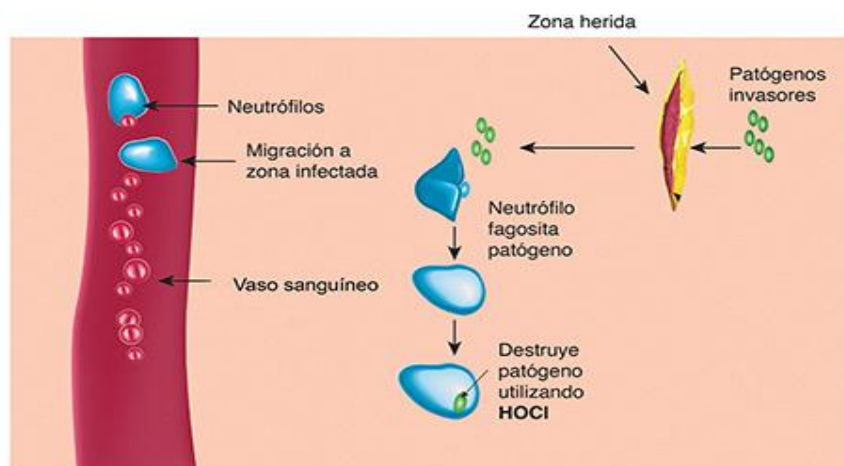


Figura 1. Generación de forma natural del HClO en el fagosoma de los neutrófilos en el proceso de fagocitosis (Lab ECA, 2013).

➤ Ácido hipocloroso en el organismo

El HClO, hace parte de un grupo de moléculas conocidas como Aganócido, es decir, sustancias antimicrobianas no antibióticas, generado de forma natural en el fagosoma de los neutrófilos, los macrófagos y la células de Von Kuppfer durante un proceso inmunológico conocido como estallido respiratorio, que ocurre como resultado del proceso de fagocitosis; posee un mecanismo oxidante para destruir una diversa gama de microorganismos que afectan los tejidos vivos. La producción en el organismo humano incluye peróxido de hidrogeno y mieloperoxidasa, como pasos previos, en donde la célula utiliza el oxígeno molecular (O_2) para producir peróxido de hidrógeno (H_2O_2) utilizando la enzima NADPH oxidasa. La enzima mieloperoxidasa (MPO) depositada en los gránulos azurófilos cataliza la reacción H_2O_2 y cloro (Cl) para formar ácido hipocloroso (HClO). La reacción toma lugar en el lumen del fago lisosoma el cual se va acidificando a medida que el proceso avanza, estabilizando y optimizando la actividad antimicrobiana molécula de HClO (Aya *et al.*, 2009).

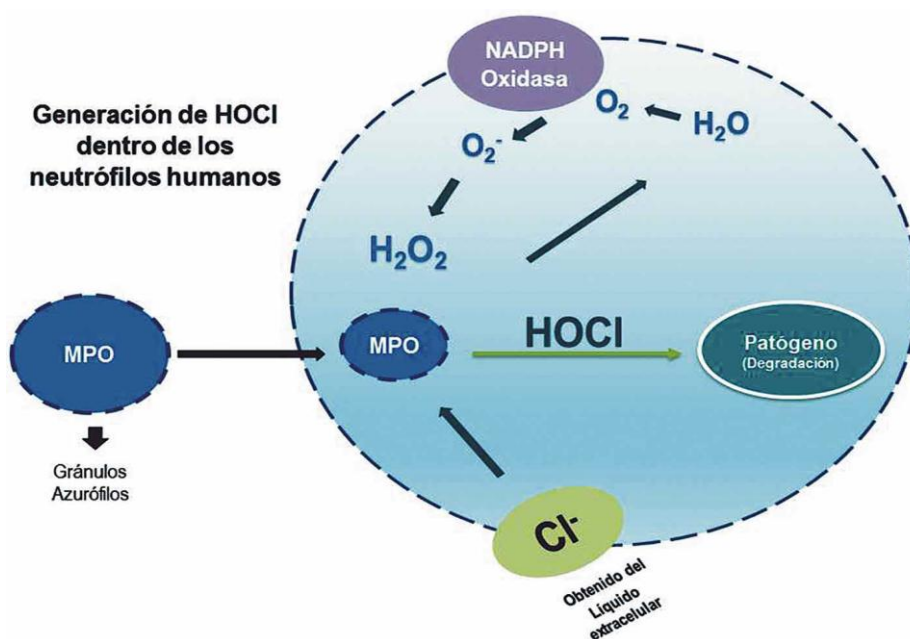


Figura 2. Representación esquemática de la producción de HOCl a nivel intracelular durante el estallido respiratorio Lafaurie et al. (2015)

Se calcula que 2ml de ácido hipocloroso producido por la tecnología de electrolisis química (ECA) aporta la cantidad de ácido hipocloroso producida por 10 millones de

neutrófilos después de 20 horas bajo máxima estimulación. Como microbicida el efecto es casi inmediato; en las bacterias como la *E. Coli*, por ejemplo, causa una disminución rápida en la síntesis de ADN, luego origina disrupción de las membranas, degradación e inhibición de su síntesis (Lab ECA, 2013).

➤ **Obtención**

Químicamente el HOCl puede ser obtenido por diferentes métodos, infortunadamente la mayoría de los procedimientos obtienen soluciones de baja estabilidad, moderada actividad microbicida, con bajo porcentaje de ácido hipocloroso libre.

In vitro el HOCl se puede obtener a través de tres diferentes métodos:

1. Hidrolisis de gas de cloro ($Cl_2 + H_2O \rightarrow HOCl + H^+ + Cl^-$)

Consiste en la aplicación de gas cloro directamente en el agua. Este método es muy utilizado en procesos de desinfección de aguas para piscinas, acueductos e industria. Sin embargo, los usos clínicos son limitados, tanto por las altas concentraciones de especies cloradas en solución, como también por la inestabilidad del producto final.

2. Electrolisis de solución de sal ($2Cl^- + 2e^- \rightarrow Cl_2$) y ($Cl_2 + H_2O \rightarrow HClO + H^+ + Cl^-$)

Electrolisis de sales: comercialmente el método de electrolisis de sales y agua es muy utilizado. Permite la formación de especies cloradas y HClO in situ para su uso en un tiempo no mayor a 6 horas, generando formulaciones con HClO ideales para procesos de desinfección de superficies, dispositivos médicos tales como endoscopios, equipos quirúrgicos, entre otros.

3. Acidificación de hipoclorito ($\text{OCl}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{HClO}$)

Debido a que el hipoclorito está disponible comercialmente, este método es el más utilizado, conveniente y controlable. Permite la mayor generación de HClO en solución, con un potencial redox (medida de electrones: mV) entre 1000 mV y 1200 mV. Infortunadamente en múltiples casos las soluciones obtenidas carecen de la estabilidad necesaria para su uso prolongado.

En Colombia en 1993, a través de la implementación de un protocolo modificado de acidificación más procesos secundarios de súper oxidación del agua, se desarrolla una técnica para la estabilización de HClO para su uso en medicina (HOCl en buffer salino, con un ORP de 1200 mV y 1320 mV, y a un pH ajustado de 5,2, sin sólidos en solución y con una densidad de 1,0 (0,1) g/ml a concentraciones que van desde 0,1 ppm hasta 7000 ppm). Este desarrollo dio inicio a procesos investigativos dirigidos a la optimización y refinamiento de los métodos de obtención de la molécula hasta desarrollar una solución antimicrobiana a base de HOCl con potenciales aplicaciones profilácticas y terapéuticas en medicina humana, aprobada por el instituto de vigilancia en alimentos y medicamentos de Colombia certificada con el registro INVIMA número 2004M-0003037 (Lafaurie *et al.*, 2015).

➤ Efecto Antimicrobiano del HClO

El interés por el HClO hizo que se desarrollaran técnicas *in vitro* para generar HClO. Análisis cuantitativos demostraron que al activar 1×10^6 neutrófilos se producen aproximadamente 2×10^{-7} mol de HClO durante una incubación de dos horas, esta cantidad es capaz de destruir 150 millones de *Escherichia coli* (Weiss, 1989).

El HOCl ha demostrado tener un efecto antimicrobiano de amplio espectro en concentraciones que van desde 0,1 a 2,8 mg/ml en un periodo de exposición de 2 min. Esta actividad microbicida, a pesar de ser más efectiva para formas bacterianas que para esporas y hongos, y abarca microorganismos clínicamente relevantes como lo son bacterias Gram negativas, Gram positivas, parásitos y hongos. En bacterias Gram positivas, el HOCl actúa sobre los grupos aminos de la glicina presente en el

Tabla 1.*CONCENTRACION Y TIEMPO DE ACCIÓN DEL HCLO CON Y SIN ALBUMINA.*

CEPA ATCC	SIN ALBUMINA 5%		CON ALBUMINA 5%	
	HCIO ppm	Tiempo (min)	HCIO ppm	Tiempo (min)
<i>Staphylococcus aureus</i>	225	1	900	10
<i>Escherichia coli</i>	225	2	900	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	225	2	900	2
<i>Salmonella enteritis</i>	225	10	900	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	900	1	900	10

Fuente: Riveros, (2003)

En este estudio encontraron que el HCIO es capaz de eliminar a una concentración y tiempo determinados, cepas bacterianas como el *Staphylococcus aureus*, pero en presencia de material orgánico, para lograr el mismo efecto se aumentó la concentración de HCIO y hubo la necesidad de aumentar el tiempo de acción (Riveros, 2003).

2.2.2. Oxitetraciclina

Alvarado, Ascanio & Méndez, (2008) mencionan que la oxitetraciclina (OTC), antibiótico de amplio uso en medicina veterinaria, pertenece al grupo de las tetraciclinas. Inhiben la síntesis de proteínas en la bacteria a nivel ribosomal, pero para que las mismas tengan acceso a éste es necesario su difusión pasiva por la membrana celular exterior a través de los poros hidrófilos. Una vez en el interior de la célula bacteriana impiden la síntesis de proteínas y se ligan a la subunidad 30S de los ribosomas, impidiendo el acceso del aminoacil RNAt al sitio aceptor del complejo RNAm-ribosoma, y esto tiene como consecuencia la no adición de aminoácidos a la cadena peptídica en crecimiento. La oxitetraciclina presenta principalmente una acción bacteriostática frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, así como también frente a otros microorganismos tales como

micoplasmas, espiroquetas, clamidias y rickettsia. Las oxitetraciclinas (OTC) son antimicrobianos de amplio espectro que se han utilizado de manera indiscriminada en Medicina Veterinaria. Estos fármacos pueden permanecer como residuos químicos en alimentos, lo que pudiera provocar graves problemas de Salud Pública.

Paisley, Mickelsen & Anderson (1986); Cohen, Bernstein & Ziv (1995) mencionan que debido a su amplio espectro de acción y a su bajo costo, el tratamiento de elección para vacas con endometritis de la mayoría de las explotaciones bovinas del país, consiste en la administración de oxitetraciclinas por vía intrauterina, debido que mantiene su actividad aún en presencia de exudado purulento y en condiciones de baja tensión de oxígeno. Sin embargo, la efectividad de esta terapia se ha cuestionado, ya que se ha observado que deprime los mecanismos de defensa uterinos retrasando más el proceso de recuperación.

Las tetraciclinas son muy irritantes para el útero bovino y la mayoría de las formulaciones no debe utilizarse para la terapia intrauterina. Se ha comprobado que todos los antibacterianos intrauterinos tienen un efecto negativo sobre la función leucocitaria y la colocación corre el riesgo de contaminación iatrogénica o lesión adicional al útero (Paisley *et al.*, 1986).

Las tetraciclinas poseen desventajas como son los períodos de retiro antes de la faena y de la utilización de la leche; lo cual puede generar pérdidas económicas para los productores lecheros. Por lo tanto el uso de otros fármacos (cefapirina benzatínica) que no tengan requerimientos de un período de retiro para la leche, ha reemplazado en gran medida a la oxitetraciclina como droga de elección para la infusión uterina (Black, Mackay, Doig & Claxton, 1979).

2.2.3. Endometritis y puerperio del bovino

➤ El puerperio

El término puerperio designa el espacio de tiempo entre la expulsión de la placenta y la involución del tracto genital femenino a su estado anatómico y funcional previo a la gestación. Este periodo se caracteriza por modificaciones anatómicas, histológicas,

citológicas, bacteriológicas y metabólicas del útero y su contenido. En el puerperio se produce la involución del útero, la regeneración del endometrio y la expulsión de los denominados loquios (Rutter, 2002).

➤ **Involución uterina**

Se caracteriza por la reducción del tamaño del útero después del parto debido a las sucesivas contracciones cuyo propósito es el de facilitar la evacuación de su contenido denominado loquios; las contracciones son proporcionalmente más intensas que las del parto pero no se dilata el cérvix uterino ni se estira el suelo de la pelvis, durante los primeros 10 días es relativamente lenta comparado con lo que ocurre entre los días 10-14 postparto (Hafez, 2007). Esta reducción inicial es debida en gran parte a las contracciones uterinas generadas por la oxitocina, que ocurren cada 3-4 minutos durante el primer día y posiblemente persisten hasta el tercer día postparto, el amamantamiento también está asociado con una liberación mucho más frecuente de oxitocina desde la hipófisis (Palmer, 2007).

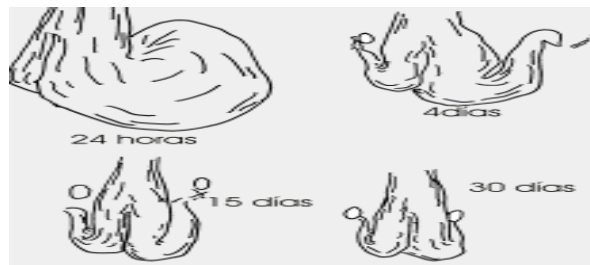


Figura 4. Involución uterina en la vaca durante el puerperio Hafez, (2007).

➤ **Fases del puerperio**

Puerperio temprano: Desde la expulsión del feto hasta el día 14, la regresión uterina está concluida, las barreras defensivas se han completado.

Puerperio intermedio: Es el que se prolonga entre los días 15 hasta la primera ovulación, que suele ser en el ganado de leche *Bos taurus*, alrededor del día 21-25 post parto.

Puerperio final, o fase post ovulatoria : El cual se extiende desde la primera ovulación hasta los 45 días post parto, aunque en la realidad la duración de este periodo llega a los 52 o 56 días (involucrando a los dos cuernos uterinos, puesto que el cuerno que estaba grávido demora en promedio de 5 a 10 días para involucionar frente al cuerno que no soporto la gestación, cuya involución es más rápida); donde las modificaciones del endometrio causadas por la gestación ya no existen, se ha concluido la regeneración histológica completa (Luca, 2012 & Schroeder, 1999).

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

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

➤ **Restablecimiento de la forma del cérvix.**

La cervix es una barrera importante contra la invasión de bacterias desde el exterior hacia la cavidad uterina; por lo tanto el cierre del canal cervical es necesario y la recuperación de su estructura después del parto debe ser rápida para que en breve tiempo se instaure una nueva gestación. Cuando este proceso es incompleto o se demora, como en el caso de retención de membranas fetales, se predispone el desarrollo de endometritis. Por lo tanto podemos asegurar que el cierre insuficiente de la cervix, lleva a infertilidad o a esterilidad en la hembra bovina. Poco tiempo antes del parto y durante el mismo, el tejido conectivo del cervix se acopla y pierde y pierde su fuerza presentando un cervix blando con capacidad de dilatarse y acomodarse al feto cuando el útero se contrae. A partir de la expulsión del feto y las membranas fetales comienza a cerrarse el cuello uterino que sufrió durante el preparto y parto un proceso de relajación (acción hormonal) y dilatación (acción de las membranas su cuña hídrica y el feto) durante los periodos de dilatación y expulsión. Este cierre en principio se produce por falta de un elemento que lo

mantenga abierto; solo las membranas fetales mantendrán una cierta abertura hasta ser eliminadas.

➤ **Involución caruncular y reparación endometrial**

En los últimos meses de gestación se producen cambios preparatorios para la eliminación placentaria. El estroma conjuntival de sostén de las carúnculas se colageiniza y el epitelio de las criptas uterinas en proximidad del pedúnculo de las carúnculas primero se aplanan y luego desaparecen. Durante el parto las continuas variaciones de la presión intrauterina causadas por las contracciones actúan sobre los placentomas, ejerciendo fuerzas de presión y descompresión, despegando el epitelio de las vellosidades de las criptas maternas ramificadas. Durante la fase expulsiva en proximal de los pedúnculos de las carúnculas se producen los primeros fenómenos de desprendimiento. Estos son debidos a la presión ejercida por los placentomas contra el feto y las variadas formas que sufren debido a las contracciones (Rutter, 2002).

Después de la expulsión de la placenta las carúnculas tienen menos irrigación sanguínea y se achican lentamente. En cercanía al pedúnculo se establece una marcación con infiltración leucocitaria. Los estratos superficiales se destruyen por degeneración grasa, al mismo tiempo se produce una salida de líquido seroso a la cavidad uterina. El resto del tejido de las carúnculas sufre un proceso de necrosis dentro de los 5 días y forma parte de los loquios. Desfacelamiento, lisis, reabsorción y expulsión del tejido necrótico junto con el flujo de los loquios se mantiene hasta el día 12 pos parto.

Los principales elementos que participan en la eliminación de los tejidos y los líquidos durante la involución uterina son:

- La infiltración leucocitaria responsable de la reacción inflamatoria.
- La vasoconstricción.
- Las contracciones uterinas.

La reacción inflamatoria junto a la vasoconstricción produce necrosis tisular que acarrea la eliminación de las carúnculas. Las contracciones uterinas favorecen la eliminación de los loquios y la limpieza del útero.

➤ **Infiltración leucocitaria y eliminación de las carúnculas uterinas**

Al final de la gestación se producen cambios celulares graduales a nivel del placentoma, se observa una sobre producción de colágeno, particularmente en las vellosidades carunculares, una separación parcial de las vellosidades cotiledonarias y una pérdida importante de células epiteliales en las criptas maternas; además de una gran infiltración leucocitaria y la formación de células gigantes que indican un aumento de la actividad fagocítica intra caruncular antes del parto.

A partir del primer día pos parto hay cambios degenerativos a nivel del epitelio caruncular, lo que facilita la separación entre el cotiledón y la carúncula. En condiciones normales, la placenta se elimina dentro de las 6 horas después del parto. Después de la separación del alantocorion por el proceso de separación placentario, las carúnculas quedan desnudas. Al mismo tiempo, la degeneración caruncular se localiza en el primer día después del parto, y se manifiesta únicamente por una picnosis y vacuolización del citoplasma de las células epiteliales.

Dos o tres días después del parto la masa caruncular es sometida a una necrosis considerable, y la luz de la mayoría de los vasos sanguíneos ubicados en el pedúnculo caruncular desaparece completamente debido a la vasoconstricción. Solo las criptas maternas son diferentes, pero parcialmente delimitadas por células epiteliales donde la erosión comenzó antes del parto. La luz de la mayoría de las criptas maternas, son invadidas por muchos leucocitos, que además de la vasoconstricción, participan en la necrosis de la masa caruncular. Los vestigios cotiledonarios son sometidos rápidamente a una necrosis y mineralización antes de ser fagocitados o eliminados a través de los loquios. Después del día 11 pos parto no se observa ninguna célula del alantocorion (Rutter, 2002).

➤ **Reparación endometrial**

La regeneración del epitelio uterino comienza inmediatamente después del parto en áreas que no fueron seriamente dañadas durante el mismo y la superficie ínter

caruncular se recubre alrededor del día octavo después del parto; en caso que se produzca una infección bacteriana durante este período de pérdida de tejido, el epitelio nuevamente es parcial o completamente destruido. En la superficie caruncular, que en este período continúa con el proceso necrótico, aparecen nuevas células epiteliales pero son eliminadas rápidamente con los loquios. En los días 1, 19 y 39 posparto la longitud promedio de las carúnculas es respectivamente 60 a 80, 15 a 20 y 10 a 15 mm. Entre el día 14 y 21 posparto, los leucocitos que continúan migrando dentro de la luz uterina participan de la reabsorción de la superficie endometrial, esencialmente por fagocitosis de los restos carunculares todavía presentes en el útero (Rutter, 2002).

➤ **Flora bacteriana, infección uterina y mecanismos de defensa.**

El tracto genital de las hembras posee flora bacteriana en casi toda su extensión, a excepción del útero, ya que allí por lo general no habitan microorganismos, aunque esto puede variar de acuerdo con el estatus inmunológico del animal. La vagina por ser la parte del tracto reproductivo más expuesta, posee mayor número de bacterias, entre las cuales se pueden encontrar Gram negativas y Gram positivas ; sin embargo, durante la gestación y el parto, el cuello uterino y el útero no se encuentran totalmente estériles, por lo que se pueden aislar microorganismos oportunistas, que producen inflamación e infección caracterizada por un crecimiento bacteriano masivo que se ve favorecido por la presencia de los loquios (Sánchez *et al.*, 2011).

En cuanto a las bacterias aislada en la flora bacteriana intra uterina se compone de gérmenes saprófitos y patógenos, éstas se clasifican principalmente en cuatro grupos:

- Bacterias Gram positivas
- Gram negativas
- Ácido-alcohol resistentes
- Bacilos esporo formadores

En las primeras se agrupan los géneros *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp*, *Lactobacillus spp*, y *Enterococcus spp*; el grupo de las Gram negativas está conformado por *Pseudomonas spp*, *E coli*, *Klebsiella spp*, *Proteus spp* y *Prevotella*

spp; *Arcanobacterium pyogenes* (*Corynebacterium-Actinomyces pyogenes*) como ácido-alcohol resistente y entre los bacilos esporoformadores asociados a problemas reproductivos está el género *Clostridium spp* ; otro microorganismo reportado en menor proporción es *Mycoplasma spp* que se caracteriza por la ausencia de pared (Sánchez *et al.*, 2011).

La enfermedad uterina dependerá de los mecanismos de defensa, como la respuesta inmune, las especies de bacterias y el número de las mismas que llevan a una infección, del ambiente hormonal, en particular de la progesterona; normalmente el útero posee mecanismos de defensa eficaces para controlar y eliminar flora bacteriana patógena, las contracciones uterinas y las secreciones endometriales que contienen factores antibacterianos como neutrófilos, linfocitos y macrófagos. Luego de una distocia o de una retención placentaria la proliferación bacteriana se incrementa, con la proliferación de bacterias patógenas (De Luca, 2012).

➤ **Endometritis**

La endometritis es la inflamación del endometrio usualmente debido a la persistencia de una infección moderada o al retraso en la involución uterina. Las vacas con endometritis tienen disminuida notablemente su eficiencia reproductiva en la siguiente gestación, aumentando los días abiertos esto conlleva al aumento de los costos que impactan en la economía (Gilbert, 2005). Sheldon *et al.*, (2009), sostiene que el 40% de los animales desarrollan endometritis en los primeros 20 días, y que luego de este periodo la sostiene un 20% de las vacas, pero el 40% desarrolla endometritis subclínicas aún en los 60 días posteriores al periodo partal.

➤ **Etiología**

La mayor parte de las infecciones uterinas conocidas afectan a las vacas lecheras y de las diversas bacterias que interfieren en esta enfermedad está el *Actinomyces pyogenes* que es la más frecuente en este animal. En el periodo posparto de las vacas

se libera PgF α ya sea en el puerperio normal o en presencia de infecciones uterinas, pero este caso persisten concentraciones más elevadas por más tiempo. Al parecer estas infecciones bacterianas y sus toxinas hacen que se secreten concentraciones anormalmente más elevadas de prostaglandina, lo que demora el inicio del ciclo hasta que la infección cede y aquellas infecciones son bajas. Existen varios géneros de bacterias causantes de esta infección y pueden estar solas o en combinación, entre algunas están la *Archaeobacterium pyogenes* y *Escherichia coli* que usualmente actúan ambas. En otras ocasiones el *A. pyogenes* también se encuentra asociado a gérmenes anaerobios como *Fusobacterium necrophorum* y *Bacteroides spp.* Cuando se aísla del útero al *A. pyogenes* el día 21 postparto es sinónimo de endometritis grave y generalmente es la principal causa de infertilidad en vacas (Hafez, 2007).

➤ **Clasificación de las endometritis puerperales.**

a) **Clínica.-** Se caracteriza por presentar descarga mucopurulenta desde el útero hacia la vagina e incluso al exterior después de los 21 a 26 días postparto.

b) **Subclínica.-** Se caracteriza por la presencia de células polimorfonucleares en más de un 18% en pruebas citológicas realizadas después de los 28 a 33 días postparto, o mayor al 10% después de los 34 a 47 días postparto. Las vacas con endometritis subclínica no tienen descarga uterina, sin embargo la enfermedad provoca daños severos para el rendimiento reproductivo de la vaca (Sheldon, Lewis, LeBlanc & Gilbert, 2004). Otros autores clasifican a las endometritis de acuerdo al tipo de secreción uterina y gravedad de la enfermedad en:

- a) Endometritis subclínica.
- b) Endometritis catarral. (Endometritis de I grado).
- c) Endometritis mucopurulenta. (Endometritis de II grado).
- d) Endometritis purulenta. (Endometritis purulenta de III grado).
- e) Piometra. (Endometritis purulenta de IV grado).

➤ **Endometritis subclínica.**

Es usualmente diagnosticado por citología debido a la ausencia de material purulento en la vagina; por lo tanto mediante el tacto rectal y la vaginoscopía no podemos determinarla. No hay anillo de burdi positivo ni secreción vaginal alguna. Las secreciones que se producen son reabsorbidas. Histológicamente se observan focos inflamatorios aislados en el endometrio. (Schroeder, 1999). También Rutter (2015), argumenta que la endometritis subclínica, ocurre en cualquier momento posterior a la culminación histológica de la involución uterina (p.ej. en y luego de la semana 8), y se caracteriza por un endometrio infiltrado extensivamente con granulocitos neutrófilos, que pueden ser reconocidos sólo mediante un examen citológico del endometrio; en cuanto a la patología, diagnóstico y relevancia clínica de la endometritis sub clínica. La endometritis sub clínica es un proceso inflamatorio, con una proporción relativamente alta de leucocitos PMN en el útero, la cual altera la fertilidad de las vacas afectadas. La proporción de células PMN considerada como “relativamente alta” depende de la técnica de muestreo así como del tiempo desde el parto.

➤ **Endometritis catarral. (Endometritis de I grado)**

Por la intensidad en los procesos exudativos y por el aumento de las secreciones de las glándulas uterinas, se observa a través del cérvix una secreción mucosa, algo turbia que en ocasiones muestra pequeñísimos puntos de pus. Esta secreción turbia y floculada se observa por vaginoscopía especialmente en el inter estro (diestro) más que en las fases foliculares. A la vaginoscopía se revela anillo de burdi. Esta endometritis crónica no altera el ciclo estral, es bastante frecuente siendo causa frecuente de repetición de servicios.

➤ **Endometritis mucopurulenta. (Endometritis de II grado).**

Hay secreción viscosa con pus y estrías de sangre, existe secreción vulvar.

➤ **Endometritis purulenta. (Endometritis purulenta de III grado).**

Presenta anillo de Burdi (+++), es decir hay eversión manifiesta de los pliegues cervicouterinos y gran contenido de pus en el lumen uterino.

➤ **Piometra. (Endometritis purulenta de IV grado).**

Hay secreción de moco y estrías de pus por la vulva, que persiste a los tratamientos. (Schroeder, 1999).

CAPÍTULO III

3.1. HIPÓTESIS

Ha: El ácido hipocloroso actúa como alternativa terapéutica para tratar la endometritis bovina posparto.

3.2. OBJETIVOS

3.2.1. Objetivo General

Evaluar el efecto del ácido hipocloroso como alternativa terapéutica sobre endometritis bovina posparto.

3.2.2. Objetivos Específicos

- Determinar el protocolo con mayor eficiencia para el tratamiento de la endometritis posparto.
- Valorar el grado de infección de la endometritis en el pre y pos tratamiento de los animales.
- Establecer la relación tiempo respuesta en los tratamientos mediante citología.

CAPÍTULO IV

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. UBICACIÓN DEL ENSAYO

Provincia: Tungurahua

Cantón: Píllaro

Parroquia: Marcos Espinel

Lugar: San Carlos, Guanguibana y El Rosal

Latitud: 1°16'66.7" Sur

Longitud: 78°53'33.3" Oeste

Altitud: 2 800 msnm (Sistema de posicionamiento global) GPS.

4.2. CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR

La presente investigación se realizó en el cantón Píllaro el cual es uno de los cantones con mayor producción de leche del país, posee un enorme potencial agropecuario debido a que cuenta con suelos fértiles, fuentes de agua puras, variados climas por efecto de los pisos altitudinales y nichos ecológicos teniendo así lugares con un microclima del semi trópico hasta los fríos que se encuentran en los páramos de la serranía.

Tabla 2.

CARACTERÍSTICAS METEOROLÓGICAS

Características	Rangos
Temperatura media anual:	6 – 11 °C
Precipitación media anual:	649 mm
Humedad relativa	55-95 %
Clima:	Cálido-Templado

Fuente: Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI), (2016)

4.3. EQUIPOS Y MATERIALES

4.3.1. Materiales

- Vacas de 1°,2°,3° y 4° concepción clínicamente enfermas de endometritis postparto.
- 6 litros de Ácido Hipocloroso (HOCL) al 0.5%.
- Oxitetraciclina (OTC) + agua destilada al 5%.

4.3.2. Materiales de campo

- Indumentaria (Overol, botas)
- Nariguera.
- Guantes ginecológicos.
- Guantes de manejo.
- Jeringas de 50ml desechables.
- Balde.
- Catéter taladrado (lavado)
- Espéculo
- Hisopos de mango largo estéril

- Papel limpión
- Material de escritorio (esferos, hojas, calculadora, computadora, etc.).
- Alcohol.
- Gel lubricante
- Portaobjetos
- Cepillo endometrial
- Pistola de inseminación
- Yodopovidona
- Kit de tinción Diff Quick
- Transporte Stuart

4.3.3. Equipos

- Microscopio 40X
- Ecógrafo (Mindray dp 3300 – portable con sonda lineal multifrecuencia de 5 - 7.5 MHz).

4.4. FACTORES DE ESTUDIO

4.4.1. Ácido Hipocloroso (HOCL) al 0.5%

- | | |
|--|--|
| ➤ Dosis | <ul style="list-style-type: none"> ✓ T1: oxitetraciclina al 5%. ✓ T2: oxitetraciclina al 5%. ✓ T3: HOCL al 0.5%. ✓ T4: HOCL al 0.5%. |
| ➤ Tiempo de permanencia en el útero | <ul style="list-style-type: none"> ✓ 10 minutos ✓ 15 minutos |

4.4.2. Exámenes complementarios

➤ Hemograma serie roja

En todos los tratamientos se interpretó el N° absoluto de cada analito:

- Recuento Eritrocitario, 10⁶/uL
- Hemoglobina, g/dL
- Hematocrito, %
- VCM, fL
- HCM, pg
- MHCM, g/dL
- Plaquetas, 10³/uL

➤ Leucograma

En todos los tratamientos se interpretó el N° absoluto de cada tipo leucocitario:

- Leucocitos, 10³/uL
- Neutrófilos segmentados, 10³/uL
- Neutrófilos en banda, 10³/uL
- Linfocitos, 10³/uL
- Eosinófilos, 10³/uL
- Basófilos, 10³/uL
- Monocitos, 10³/uL

➤ Examen endometrial

Citología

Se determinó la presencia de células polimorfonucleares (PMN).

Cultivo

Ausencia o disminución de cualquiera de estos agentes patógenos causantes de las endometritis bovinas:

- *Arcanobacterium pyogenes*
- *Streptococcus spp*
- *Bacteroides spp*
- *Coliformes (E. coli)*
- *Prevotella*
- *Proteus spp* y
- *Clostridium spp.*

4.5. TRATAMIENTOS

Tabla 3.

DESCRIPCIÓN DE TRATAMIENTOS

Tratamientos	Simbología	DESCRIPCIÓN			
		Infusión a las 24 Horas	Infusión a las 48 Horas	Infusión a las 72 Horas	Tiempo de permanencia en el útero
T1	P1T1	OTC al 5%	OTC 5%	OTC 5%	10 minutos
T2	P1T2	OTC 5%	OTC 5%	OTC 5%	15 minutos
T3	P2T1	HOCL 0.5%	HOCL 0.5%	HOCL 0.5%	10 minutos
T4	P2T2	HOCL 0.5%	HOCL 0.5%	HOCL 0.5%	15 minutos

Oxitetraciclina (OTC), Ácido hipocloroso (HOCL)

4.5.5. Diseño de campo

BLOQUE I	BLOQUE II	BLOQUE III	BLOQUE IV
P1T1	P2T1	P1T2	P1T2
P2T1	P1T1	P2T2	P2T1
P1T2	P2T2	P1T1	P2T2
P2T2	P1T2	P2T1	P1T1
N° Parto 1	N° Parto 2	N° Parto 3	N° Parto 4

BLOQUE V	BLOQUE VI	BLOQUE VII	BLOQUE VIII
P1T1	P2T1	P1T2	P1T2
P2T1	P1T1	P2T2	P2T1
P1T2	P2T2	P1T1	P2T2
P2T2	P1T2	P2T1	P1T1
N° Parto 1	N° Parto 2	N° Parto 3	N° Parto 4

4.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para este ensayo se utilizó un Diseño de bloques completamente al azar (DBCA) de 4 tratamientos con 8 repeticiones dándonos un total de 32 unidades experimentales.

Los tratamientos 1 y 2 fueron el testigo aplicando oxitetraciclina al 5% con un tiempo de permanencia de 10 y 15 minutos en el útero respectivamente, se aplicó ácido hipocloroso al 0.5% en los tratamientos 3 y 4 con un tiempo de permanencia de 10 y 15 minutos en el útero respectivamente.

Se realizó el cálculo de la varianza con las medias obtenidas de los tratamientos aplicados, y para determinar el grado de significancia entre los resultados de los tratamientos se empleó la prueba estadística de Tukey al 5%.

Tabla 4.

ESQUEMA DEL ANÁLISIS DE VARIANZA DEL DISEÑO DE BLOQUES COMPLETAMENTE AL AZAR

Fuente de variación	Grados de libertad
Repeticiones	8-1= 7
Tratamientos	4-1= 3
Error experimental	RxT = 21
Total	31

4.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO

Reseña y anamnesis del paciente

Se seleccionó las unidades experimentales donde se realizó una reseña que consta de los siguientes datos: especie, raza, sexo, edad, número de partos, capa, edad, propósito, desparasitación y tipo de alimentación. El número de parto se tomó muy en cuenta ya que se seleccionó vacas de primero, segundo, tercer, y cuarto parto con el fin de tener unidades experimentales más homogéneas.

Se procedió a la anamnesis realizando un interrogatorio al propietario o encargados con el fin de averiguar información sobre la conducta del enfermo, origen y curso de la enfermedad.

Plan de exploración clínica

Realizamos un examen clínico de los diversos órganos, aparatos y sistemas del animal iniciando con la observación del paciente mediante la inspección y valoración de la condición corporal, pelaje, actitud y posición; en cuanto a la inspección mediata valoramos color de la mucosa vaginal, secreción, temperatura, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, etc.

Limpieza de la región perianal

Se procedió al lavado de ano, vulva y la región perianal con agua limpia usando un cepillo de cerdas suaves, luego se aplicó una solución desinfectante usando un antiséptico de uso tópico en este caso yodopovidona, y completando la limpieza con papel limpión de tal manera que dejamos lista dicha región para los procedimientos a seguir.

Diagnóstico de vacas con endometritis

Se procedió a realizar una palpación rectal ya que es la técnica más utilizada por los médicos veterinarios para el diagnóstico de esta enfermedad, se basa en la consistencia y/o la presencia de fluidos dentro del lumen uterino, diámetro del cérvix y de los cuernos; pero por sí sola no es una buena técnica diagnóstica por lo tanto se complementó con el uso de un equipo de ultrasonido: el ecógrafo (mindray DP 3300 – portable con sonda lineal multifrecuencia de 5 - 7.5 MHz). , donde se apreciara la presencia de fluidos en el lumen uterino (franja de plata).

Inserción del espéculo vaginal

Con los dedos pulgar e índice, separamos los labios vulvares abriendo el orificio vaginal y con la otra mano se empuña el espéculo previamente lubricado el cual se introduce disponiendo el ancho de la punta de las valvas en sentido anteroposterior y dirigimos las valvas del espéculo cerrado dentro de la vagina, a un ángulo de 45° siguiendo el contorno natural de la pared vaginal, cuando el espéculo esté colocado lo giramos de manera que las valvas queden orientadas horizontalmente, finalmente presionamos para abrir. Con la ayuda de una lámpara observamos las alteraciones fisio- patológicas existentes.

Toma de muestras

➤ Para el cultivo y citología

Se recolecto la muestra de secreción intrauterina mediante hisopado realizando movimientos rotatorios para su colecta. Esta fue colocada en un tubo de colecta Stuart para su debido transporte hacia el laboratorio.

En cuanto a la muestra para realizar la citología endometrial se obtuvo utilizando un cepillo (cytobrush) el cual se introdujo en el lumen uterino, luego realizamos un frotis sobre un portaobjeto limpio. Se procedió inmediatamente a realizar la tinción de la placa utilizando la solución tintorial Diff quick siguiendo la técnica de Witlin ya mencionada anteriormente; la placa se identificó y se colocó en un medio de transporte adecuado para llevar al laboratorio para ser categorizadas según el grado de inflamación.

➤ Sangre

Se tomó una muestra de sangre de cada individuo (5mL con EDTA), el sitio de punción para la recolección de sangre se realizó en la vena yugular, usando una aguja y tubo vacutainer (sistema al vacío). La toma de las muestras se realizó antes de iniciar con el tratamiento y después (7 días después de la última infusión).

Aplicación de los tratamientos

En vacas diagnosticadas con endometritis posparto se les infundirá en el útero 120 ml de ácido hipocloroso a 0.5% y 60ml de oxitetraciclina a 5% respectivamente en cada protocolo se realizó una infusión cada 24, 48 y 72 horas, con un catéter taladrado y jeringa descartable de 50 cc, la terapia será aplicada en la porción craneal del cuerpo uterino mediante fijación manual recto-cervical.

El tiempo de la permanencia del tratamiento en cavidad uterina será de 10 y 15 minutos luego pasado este tiempo se realizó evacuación del producto a través de masajes retrocervical. Se realizó una citología antes y después del tratamiento

terapéutico con el objetivo de observar el comportamiento de las células inflamatoria presentes. Luego se procedió a un chequeo y toma de muestra final a los 7 días de haber realizado el último tratamiento.

4.8. VARIABLES RESPUESTA

En la presente investigación se midió las siguientes variables:

4.7.1. Hemograma

➤ Serie roja

Se tomó una muestra de sangre de cada individuo (5mL con EDTA), el sitio de punción, para la recolección de sangre se realizó en la vena yugular, usando una aguja y tubo vacutainer (sistema al vacío); antes y después del tratamiento en cada animal para obtener la información cuantitativa de los principales parámetros en la Serie Roja que son:

Determinación del Hematocrito, %

Indica la relación entre el volumen de sangre y número de eritrocitos expresado en porcentaje. Es la prueba orientativa más valiosa en situaciones de anemia causada por infecciones o enfermedades sistémicas. El método a desarrollar según Messeguer, et al., (1992) es el Micrométodo (Microhematocrito) el cual requiere de capilares lisos de 75 mm de longitud por 1.0 mm de luz, y una centrifuga para microhematocrito. El proceso de centrifugado es entre 11,000-13,000 r.p.m. durante 4-5 minutos con el objetivo de separar los elementos sanguíneos en tres sustratos: capa de leucocitos y plaquetas, columna de eritrocitos, y columna de plasma.

Valor normal en bovinos: 24-46 % (Plumb, 2010)

Determinación de Hemoglobina, (10⁶/uL)

Messeguer et al., (1992) mencionan que la hemoglobina es el componente principal de los eritrocitos, es una proteína conjugada que sirve de vehículo para el transporte de O₂ y CO₂. Está estrechamente relacionada con la determinación de hematocrito y conteo de glóbulos rojos. Jardon (2003) menciona que la hemoglobina puede ser cuantificada por diversos métodos, como son: Métodos Indirectos, de la Hematina Acida, de la Oxihemoglobina también a través del Método de la Cianometahemoglobina y actualmente por métodos automatizados.

Valor normal en bovinos: 10⁶/uL 5-10 (Plumb, 2010)

Recuento de Eritrocitos, (g/dL)

El recuento de glóbulos rojos nos informa del número de eritrocitos por mm³ de sangre, su función principal es la de transportar oxígeno y dióxido de carbono, esta función está relacionada con la hemoglobina.

Valor normal en bovinos: 8-15 g/dL (Plumb, 2010).

Determinación de Índices Eritrocitarios

Con los valores de Hematocrito, Hemoglobina y Recuento de Eritrocitos, calculamos los Índices Eritrocitarios mediante el uso de fórmulas matemáticas; los cuales permiten deducir las características de los eritrocitos y clasificar la anemia. Los diferentes Índices Eritrocitarios proporcionan información sobre el Tamaño (V.C.M.), Concentración de Hemoglobina (C.M.H.C.) y (H.C.M.) Cantidad de Hemoglobina (Messeguer et al. 1992).

$$\text{VCM} = \frac{\text{Hto}\%}{\# \text{ Ert T}} \times 10 =$$

Valor normal en bovinos: 40-60 fl (Plumb, 2010).

$$\text{HCM} = \frac{\text{Hb}}{\# \text{ Ert T}} \times 10 =$$

Valor normal en bovinos: 11-17 pg (Plumb, 2010).

$$\text{CHCM} = \frac{\text{Hbn}}{\text{Hto}\%} \times 100 =$$

Valor normal en bovinos: 30-36 g/dl (Plumb, 2010).

➤ **Leucograma**

Se tomó una muestra de sangre de cada individuo (5mL con EDTA), el sitio de punción para la recolección de sangre se realizó en la vena yugular, usando una aguja y tubo vacutainer (sistema al vacío); antes y después de finalizar el tratamiento en cada animal, para obtener la información leucocitaria cuantitativa - cualitativa que incluye los recuentos leucocitarios totales y diferenciales (por linaje leucocitario).

López (2008) menciona que la mayor parte de las alteraciones leucocitarias del hemograma comprometen a los polimorfonucleares neutrófilos; como ejemplo, se puede considerar que leucocitosis y neutrofilia van ligadas ya que ocurre en más del 95% de los hemogramas. Los cambios del leucograma en respuesta a la enfermedad inflamatoria inicialmente se producen con la liberación de neutrófilos segmentados desde el pool de almacenamiento de la médula ósea, originando una neutrofilia madura. La neutrofilia se acompaña de desviación a la izquierda cuando el pool de almacenamiento medular se agota y se liberan neutrófilos en una tasa superior a la capacidad de la médula ósea para producir PMN's segmentados. Se liberan por tanto, neutrófilos del pool de maduración (principalmente bandas o cayados y metamielocitos) e incluso del pool mitótico (mielocitos y promielocitos) en función de la intensidad de la inflamación.

La técnica a desarrollarse según Messeguer et al., (1992) con el uso de Pipetas de Thomas las cuales llenan de sangre hasta la marca de 0.5 y el resto, con la solución de Turk (a base de ácido acético glacial y violeta de genciana), hasta la marca de 11 para lograr una dilución de 1:20; se mezcla perfectamente evitando que se salga líquido. Después de unos minutos, se eliminan tres gotas, y las siguientes son empleadas para llenar el hemocitómetro. Éste debe tener un cubreobjetos especial y limpio que se coloca sobre las barras humedecidas con agua. Dejar de 2 a 3 minutos en reposo para que sedimenten las células y llevar a cabo el conteo. Se finaliza con la lectura a objetivo 10x en los 4 cuadrantes, que se hayan ubicados 1 en cada esquina del Retículo (A, B, C, D), y estos a su vez están divididos en 16 cuadrículas; estos son en los que se realizara el recuento de leucocitos siguiendo una trayectoria en zig/zag hasta haber contado todas las células contenidas en las 16 cuadrículas.

Recuento Diferencial de Leucocitos, ($10^3/\mu\text{l}$)

Según Messeguer et al, (1992) es imprescindible realizar una extensión y tinción de la sangre problema, con objeto de estudiar e identificar las características particulares de cada una de las células sanguíneas. Este recuento diferencial, nos permite conocer los valores relativos de los distintos tipos leucocitarios que existen en la sangre a examinar. El procedimiento se lleva a cabo contando un cierto número de leucocitos (200 o más) sobre un frotis de sangre teñida para observación microscópica con el objetivo de inmersión 100x, habiendo colocado una gota de Aceite de Inmersión. Los leucocitos tienden a acumularse principalmente en los bordes de la extensión y es en estas zonas en las que se realiza el contaje; siguiendo una trayectoria en vaivén, zig/zag o grecas. Finalmente se anota el número de cada tipo de leucocitos encontrados, y una vez contadas e identificadas todas las células (200 o más) se calcula el porcentaje de cada uno de los tipos de células leucocitarias:

Valor normal en bovinos: $4-17.6 \times 10^3/\mu\text{l}$ (Plumb, 2010).

Neutrófilos segmentados, ($10^3/\mu\text{l}$)

La elevación de números de neutrófilos se denomina neutrofilia. Una neutrofilia madura se presenta cuando hay un proceso infeccioso lo que significa una alteración con desviación a la izquierda. Constituyen la principal defensa contra la invasión de los tejidos por microorganismos, se congregan en los puntos donde se produce inflamación o infección bacteriana por un proceso de migración direccional o quimiotaxis

Valor normal en bovinos: $0.6-4 \times 10^3/\mu\text{l}$ (Plumb, 2010).

Eosinófilos, ($10^3/\mu\text{l}$)

La elevación del número de eosinófilos se denomina eusinofilia. Los eosinófilos constituyen el principal componente de las reacciones de hipersensibilidad sistémica, cuando los antígenos de parásitos o alérgenos se unen a las IgE específicas de los mastocitos, estimulan la degranulación de éstos y se libera así histamina que atrae a los eosinófilos.

Valor normal en bovinos: $0-2.4 \times 10^3/\mu\text{l}$ (Plumb, 2010).

Basófilos, ($10^3/\mu\text{l}$)

La elevación del número de basófilos se denomina basofilia. La histamina liberada por los basófilos y los mastocitos juegan un papel primordial en la reacción de hipersensibilidad inmediata como la que ocurre en la urticaria, anafilaxia y la alergia aguda. Los basófilos activados sintetizan diversas citoquinas que inician o modulan la respuesta inflamatoria.

Valor normal en bovinos: $0-0.2 \times 10^3/\mu\text{l}$ (Plumb, 2010).

Linfocitos, ($10^3/\mu\text{l}$)

La elevación del número de linfocitos se denomina linfocitosis. Los linfocitos T son responsables de la inmunidad celular mediante la formación y liberación de moléculas conocidas colectivamente como citoquinas (IL5). Los linfocitos B de la sangre periférica constituyen las células memoria del sistema inmunitario.

Valor normal en bovinos: $2.5-7.5 \times 10^3/\mu\text{l}$ (Plumb, 2010).

Monocitos, ($10^3/\mu\text{l}$)

La elevación del número de monocitos se denomina monocitosis. Indica existencia de inflamación, demanda para fagocitosis, necrosis tisular. La monocitosis se produce también como respuesta al estrés inducida por corticoides, en la hiperfunción adrenal en la administración de corticoides exógenos. Algunos animales con enfermedad crónica presentan monocitosis persistente.

Valor normal en bovinos: $0 \times 10^3/\mu\text{l}$ (Plumb, 2010).

4.7.2. Examen endometrial

➤ Cultivo

Para realizar la toma de muestra , primero debe efectuarse la limpieza de los genitales externos y de la región perineal, con la ayuda de un espejo, previamente desinfectado, se lubrica y es introducido en dirección dorsal y luego craneal efectuando suaves movimientos giratorios, se toma la muestra mediante hisopados de la secreción intrauterina, la cual fue colocada en un medio de transporte de Stuart manteniendo la viabilidad de los microorganismos presentes en la muestra sin que exista un crecimiento significativo hasta ser llevado a un laboratorio para ser examinado.

Moffett, Young & Stuart, (1948) describieron un medio para el transporte STUART el cual permite la conservación y el transporte de un gran número de microorganismos patógenos, gracias a su medio de cloruro de calcio que proporciona iones esenciales para mantener el balance osmótico, tioglicolato de sodio que evita los cambios oxidativos y provee una atmósfera reducida, glicerofosfato de sodio actúa como buffer.

Agentes Patógenos de las endometritis.

Sánchez et al. (2011) clasifican a las bacterias aisladas del tracto reproductivo, en cuatro grupos: bacterias Gram positivas (*Arcanobacterium pyogenes*, *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp*, *Lactobacillus spp*, y *Enterococcus spp*), Gram negativas (*Pseudomonas spp*, *E coli*, *Klebsiella spp*, *Proteus spp* y *Prevotella spp*), y bacilos espora formadores (*Clostridium spp*). Por otro lado, Borle, et al., (2004) en su investigación aislaron bacterias patógenas que predominan en la endometritis del bovina en el cual las bacterias Gram positivas más frecuentes fue el *Actynomices pyogenes* seguida por el género de *Corynebacterium* y *Staphylococcus spp*; entre las bacterias Gram negativas destacó el predominio de *E. coli* seguido lejanamente por *Proteus mirabilis*.

Borle et al. (2004) realizaron el aislamiento y reconocimiento de bacteria patógenas en donde cada una de las muestra fueron sembradas simultáneamente en agar sangre y en agar MacConkey, se incubaron por 24 h a 37°C. Posteriormente se determinó el tipo de crecimiento bacteriano evaluando sus características macroscópicas y microscópicas por coloración de Gram y Ziehl-neelsen.

➤ Cepillado endometrial (Cytobrush)

Se procede a realizarla limpieza de los genitales externos y de la región perineal y con la ayuda de un espejulo, previamente desinfectado, se lubrica y es introducido en dirección dorsal y luego craneal, se toma la muestra por cepillado endometrial, Kasimanickam et al., (2004), en su investigación utilizan Cytobrush para lo cual se

corta su mango de 3 a 4 cm de la parte del cepillo se ensarta en un vástago de acero de 4 mm de diámetro y 65 cm de longitud, cubierto por un tubo protector 5mm y de 50 cm de longitud. Con este método se determina la cantidad de células de defensa como polimorfonucleares (PMN) que están presentes en todo proceso inflamatorio.

Se realizó la introducción del cytobrush hasta el lumen uterino cubierto por el tubo protector y cuando está dentro se lo libera y se realiza un cepillado del endometrio, se obtuvo el cepillo con las partículas adheridas y realizamos un frotis sobre un portaobjetos limpio y desengrasado para luego ser examinadas en el laboratorio realizando la tinción Diff quick, la placa se identificó y se colocó en un medio de transporte adecuado.

Coll, (1978) da a conocer una técnica que fue ideada por Witlin en 1970 quien diseña una técnica con la que consigue dos grandes ventajas en el proceso de fijación y tinción, una de ellas es el tiempo que en tan solo 3 minutos esta lista y de que sin tomar precauciones especiales no quedan precipitados, cosa que suele ocurrir tras la aplicación de otros métodos. La tinción Diff- Quick, comprende tres soluciones: la solución fijadora, la solución I (colorante acidófilo) y la solución II (colorante basófilo). La metodología a seguir es: se debe sumergir tres veces consecutivas el portaobjetos en un recipiente cilíndrico (tipo borrel) que contenga la solución fijadora. Cada inmersión debe ser de 1 minuto, luego escurrir verticalmente el portaobjetos sobre un papel de filtro; de igual manera lo hacemos con la solución I y solución II, se procede a lavar la preparación durante 10 segundos en agua corriente, dejar secar al aire y finalmente a la observación en el microscopio.

4.9. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

La información fue recolectada y procesada en el Infostat versión 2015.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Serie roja

En la tabla 5 el análisis de varianza para el recuento eritrocitario, hemoglobina y hematocrito muestra que no hay significancia estadística ($P=0,6944$; $0,4137$; y $0,4095$ respectivamente) entre los tratamientos: Oxitetraciclina al 5% y Ácido Hipocloroso al 0.5% por vía intrauterina, en los tiempos detallados en la metodología. Estos resultados indican que los valores se encuentran dentro del rango normal establecido, los valores están: recuento eritrocitario $5-10 \times 10^6/\mu\text{L}$; hemoglobina 8-15 g/dL; hematocrito 24 – 46%.

Se determina mediante los valores obtenidos del hematocrito, hemoglobina y recuento eritrocitario que, no hay una alteración significativa en los valores hemáticos de los animales analizados; este comportamiento se debe a que, como menciona Palacios, (2009) los procesos inflamatorios agudos en los animales no desencadenan una anemia pues no hay pérdida de sangre por hemorragia o hemolisis durante el tiempo que dura el proceso infeccioso, y además la médula ósea responde de manera primaria a la demanda leucocitaria mas no eritrocitaria pues no hay hipoxia.

5.3.4. Determinación de Índices Eritrocitarios

En la tabla 5, el análisis de varianza para el volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) indican que no hay significancia estadística ($P=0,4086$; $0,6644$; $0,9159$ respectivamente) entre los tratamientos a los que se les administró Oxitetraciclina al 5% y Ácido Hipocloroso al 0.5% por vía intrauterina, en los tiempos detallados en la metodología. Estos resultados indican que los valores de cada analito se encuentran dentro del rango normal establecido, los valores están entre: VCM 40-60 fl; HCM 11-17 pg; CHCM 30-36 g/dL.

El análisis del VCM, HCM y CHCM muestran que el tamaño de los eritrocitos y la concentración de hemoglobina se mantienen normales en las unidades experimentales, concordando con lo observado en el análisis de del hematocrito, hemoglobina y recuento eritrocitario que no evidencia la presencia de anemia. Estos resultados pueden deberse a que no existe una demanda fisiológica de oxígeno por encima de lo normal por parte de los tejidos y por ende no se observa macrositosis ni micrositosis eritrocitaria resultado de una demanda tisular, concordando con lo mencionado por Palacios (2009), quien menciona que solo en anemias se observa un aumento de los analitos en cuestión.

5.3.6. Plaquetas

En la tabla 5, el análisis de varianza para la hemoglobina, indica que no hay significancia estadística ($P=0,1973$) entre los tratamientos a los que se les administró Oxitetraciclina al 5% y Ácido Hipocloroso al 0.5% por vía intrauterina, en los tiempos detallados en la metodología. Estos resultados indican que los valores plaquetarios se encuentran dentro del rango normal establecido, los valores están entre: $110-460 \text{ } 10^3/\mu\text{L}$.

Mediante los resultados plaquetarios en los tratamientos evidencian que no hay una demanda fisiológica tisular de plaquetas, pues no hay hemorragia en el proceso inflamatorio que atraviesan los animales; y por ende como menciona Palacios (2009) no se requiere del proceso de agregación plaquetaria para resolver el proceso infeccioso no hemorrágico.

Tabla 5.

RESULTADOS DEL HEMOGRAMA SERIE ROJA PRE Y POS TRATAMIENTO

Analitos	Tratamientos				EEM	P	CV (%)
	T1	T2	T3	T4			
Recuento Eritrocitario, 10 ⁶ /μL	8,39	8,93	8,67	8,34	0,39	0,6944	12.87
Hemoglobina, g/dL	12,24	13,16	11,76	11,01	0,9	0,4137	9.77
Hematocrito, %	36,04	40,43	35,16	33,51	2,91	0,4095	11.3
VCM, fL	42,84	45,03	39,84	40,46	2,34	0,4086	15.42
HCM, pg	14,05	14,69	13,3	13,77	0,81	0,6644	16.18
CHCM, g/dL	33,45	33,38	33,74	32,82	0,935	0,9159	7.76
Plaquetas, 10 ³ /μL	412,19	404,28	316,47	361,87	32,57	0,1973	12.99

Nota: EEM: error estándar de la media. P: significancia. CV: coeficiente de variación. T1: Oxitetraciclina al 5% por vía intrauterina durante 10 minutos T2: Oxitetraciclina al 5% por vía intrauterina durante 15 minutos. T3: Ácido Hipocloroso al 0.5% por vía intrauterina durante 10 minutos. T4: Ácido Hipocloroso al 0.5% por vía intrauterina durante 15 minutos.

Tabla 6.

RESULTADOS DEL HEMOGRAMA SERIE ROJA PRE Y POS TRATAMIENTO EN PROMEDIO CON RANGOS

Analito	Valores de referencia	Pre-Hemograma				Post-Hemograma			
		T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Recuento Eritrocitario, 10 ⁶ /uL	5-10	8,71	9,04	9,02	8,89	8,49	8,53	8,69	8,62
Hemoglobina, g/dL	8-15	12,79	12,39	12,57	11,61	12,67	11,88	12,31	11,29
Hematocrito, %	24-46	36,71	36,94	36,65	32,99	37,13	37,37	36,55	34,08
VCM, fL	40-60	41,89	40,94	40	37,36	43,42	43,56	41,69	39,49
HCM, pg	11-17	14,67	13,79	13,94	13,19	14,85	13,79	14,06	13,11
CHCM, g/dL	30-36	35,61	34,13	35,49	36,69	34,41	31,63	33,92	33,43
Plaquetas, 10 ³ /UI	110-460	412,8	418,73	365,31	381,21	383	393	358,24	360,57

5.2. Serie blanca

5.2.1. Leucocitos

En la tabla 7, mediante el análisis de varianza, para el recuento leucocitario, se obtuvo una alta significancia ($P < 0,0001$) entre tratamientos: Oxitetraciclina al 5% y Ácido Hipocloroso al 0.5% por vía intrauterina, en los tiempos detallados en la metodología. El coeficiente de variación es de 16.36%, lo que denota una dispersión de datos aceptable. Aplicando la prueba de Tukey (5%) para esta variable, se registran dos rangos de significancia; considerándose de forma ascendente a T4 y T3 como los mejores resultados, con un valor de $9.76 \cdot 10^3/\text{uL}$; $10.42 \cdot 10^3/\text{uL}$ respectivamente y por otro lado T2 y T1 con $16.06 \cdot 10^3/\text{uL}$; $16.45 \cdot 10^3/\text{uL}$ respectivamente.

Estos resultados en T4 y T3 sugieren que, la utilización Ácido Hipocloroso al 0.5% por vía intrauterina, durante 15 y 10 minutos respectivamente, disminuyen la respuesta leucocitaria en comparación a T2 y T1 en los que se utilizó Oxitetraciclina al 5%; este efecto se debe a que el HOCL es un compuesto que actúa con mayor eficiencia como agente bactericida, en comparación a la utilización de la oxitetraciclina por vía local frente a la endometritis posparto; pues el HOCL al actuar como un agente antiséptico intrauterino, promueve una menor demanda de leucocitos en el sitio de inflamación en contraste con el uso de la oxitetraciclina. Estos resultados concuerda con el estudio realizado por Calderón, (2010) quien menciona que el ácido hipocloroso está clasificado biológicamente como moléculas conocidas como especies reactivas del oxígeno (ROS) sintetizadas por células del sistema inmune (leucocitos) durante un proceso inmunológico conocido como “estallido respiratorio”, durante la fagocitosis de antígenos en reacción con la enzima mieloperoxidasa, peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y un ión de cloro, funcionando como una sustancia quimiotáctica que permite un excelente control microbiano y activación del sistema de defensa que facilita la rápida e inocua reparación de tejidos. Por otro lado Ekramil et al (2008), quienes mencionan en su investigación que el uso de la oxitetracillina por vía intrauterina para el tratamiento de la endometritis posparto, tiene menor efecto paliativo de las infecciones moderadas y severas de esta patología, en comparación con el uso de cefalosporinas, debido al bajo potencial

bactericida de la oxitetraciclina frente a los microorganismos patógenos presentes en la endometritis.

5.2.2. Neutrófilos segmentados

En la tabla 7, mediante el análisis de varianza, para el recuento de neutrófilos segmentados, se obtuvo una alta significancia ($P < 0,0001$) entre tratamientos: Oxitetraciclina al 5% y Ácido Hipocloroso al 0.5% por vía intrauterina, en los tiempos detallados en la metodología, demostrando diferencias estadísticas entre los protocolos aplicados a las unidades experimentales. El coeficiente de variación es de 16.36%, lo que denota una dispersión de datos aceptable. Aplicando la prueba de Tukey (5%) para esta variable, se registran dos rangos de significancia; considerándose de forma ascendente a T4 y T3 como los mejores resultados, con un valor de $8.23 \cdot 10^3/\text{uL}$; $7.27 \cdot 10^3/\text{uL}$ respectivamente, y T2 y T1 con $14.31 \cdot 10^3/\text{uL}$; $15 \cdot 10^3/\text{uL}$ respectivamente.

Estos resultados sugieren que la utilización del Ácido Hipocloroso al 0.5% por vía intrauterina durante 15 y 10 minutos respectivamente, contribuye con la disminución de la demanda de la primera línea de defensa inmunitaria, debido a que la acción bactericida de este, favorece a que el requerimiento medular de leucocitos polimorfonucleares hacia el sitio de infección sea menor desde el punto de vista analítico, pues el pool marginal de PLMN es suficiente para suplir la necesidad a la respuesta inmunitaria requerida por parte del pool circulante frente al proceso infeccioso. Estos resultados coinciden con lo expuesto por López (2008), quien enuncia que en procesos infecciosos controlados, con la utilización de un agente antimicrobiano, el requerimiento de neutrófilos segmentados desde el pool de almacenamiento hacia el sitio de la infección es suficiente para mitigar la exacerbación de los microorganismos responsables del proceso inflamatorio, obteniéndose una leucocitosis neutrofilica madura.

5.2.3. Neutrófilos en banda, Linfocitos, Eosinófilos, Basófilos y Monocitos

En cuanto al resto del linaje leucocitario, el análisis de varianza de la tabla 7 no muestra significancia estadística entre tratamientos (Oxitetraciclina al 5% y Ácido Hipocloroso al 0.5% por vía intrauterina, en los tiempos detallados en la metodología), obteniendo los siguientes valores de P: neutrófilos en banda (0,0519), linfocitos (0,0834), eosinófilos (0,095), basófilos (0,7283) y monocitos (0,6914). Datos que se encuentran dentro del rango normal establecido, cuyo valor está entre $4-17 \cdot 10^3/\text{UI}$, $2.5-14.3 \cdot 10^3/\text{uL}$; $0-1.3 \cdot 10^3/\text{UI}$; $0-0.1 \cdot 10^3/\text{UI}$ y $0-0.8 \cdot 10^3/\text{UI}$ respectivamente.

Estos análisis indican que el proceso de infección es controlado, puesto que al ser una infección localizada no se evidenciarse una respuesta linfocítica, eosifílica, basofílica y monocítica, como se observaría en ciertas sepsis, desde el punto de vista fisiológico en el foco infeccioso no se producen en mayores cantidades las sustancias quimiotáctica necesarias para producir un incremento en el recuento celular.

Estos resultados concuerda Rutter (2015), quien comenta que ante el desarrollo de la endometritis subclínica se evidencia específicamente una respuesta leucocitaria neutrofilica madura por tratarse de una patología focalizada, en la que no interactúan los leucocitos de segundo orden de defensa como: Linfocitos, Eosinófilos, Basófilos y Monocitos.

Tabla 7.

RESULTADOS DEL HEMOGRAMA SERIE BLANCA PRE Y POS TRATAMIENTO

Analitos	Tratamientos				EEM	P	CV (%)
	T1	T2	T3	T4			
Leucocitos, 10 ³ /uL	16,45 b	16,06 b	10,42 a	9,76 a	0,77	<0.0001	16.36
Neutrófilos segmentados, 10 ³ /uL	15 b	14,31 b	7,27 a	8,23 a	0,99	<0.0001	14.22
Neutrófilos en banda, 10 ³ /uL	0,08	0,08	0,74	0,23	0,18	0,0519	16.6
Linfocitos, 10 ³ /uL	0,78	0,84	1,68	0,8	0,275	0,0834	17.95
Eosinófilos, 10 ³ /uL	0,23	0,51	0,48	0,33	0,085	0,0951	8.41
Basófilos, 10 ³ /uL	0,03	0,03	0,03	0,02	0,001	0,7283	1.5
Monocitos, 10 ³ /uL	0,31	0,24	0,24	0,19	0,07	0,6914	7.98

Nota: a, b Medias con letras diferentes en las filas que difieren significativamente (P<0.05). EEM: error estándar de la media. P: significancia. CV: coeficiente de variación. T1: Oxitetraciclina al 5% por vía intrauterina durante 10 minutos T2: Oxitetraciclina al 5% por vía intrauterina durante 15 minutos. T3: Ácido Hipocloroso al 0.5% por vía intrauterina durante 10 minutos. T4: Ácido Hipocloroso al 0.5% por vía intrauterina durante 15 minutos.

Tabla 8.

RESULTADOS DEL HEMOGRAMA SERIE ROJA PRE Y POS TRATAMIENTO EN PROMEDIO CON RANGOS

Analito	Valores de referencia	Pre-Leucograma				Post-Leucograma			
		T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Leucocitos, 103/uL	4-17.6	17,12	15,29	17,37	16,58	16,44	16,08	10,41	9,76
Neutrófilos segmentados, 103/uL	2.5-14.3	13,82	12,55	13,66	12,29	15,01	14,29	7,28	8,22
Neutrófilos en banda, 103/uL	0-0.2	0,32	0,34	0,23	0,52	0,07	0,08	0,74	0,23
Linfocitos, 103/uL	0.3-3.9	1,72	1,34	1,58	1,53	0,74	0,88	1,67	0,81
Eosinófilos, 103/uL	0-1.3	0,72	0,62	0,41	0,44	0,28	0,53	0,44	0,3
Basófilos, 103/uL	0-0.1	0,035	0,05	0,03	0,05	0,03	0,04	0,03	0,02
Monocitos, 103/uL	0-0.8	0,51	0,37	0,39	0,6	0,31	0,24	0,24	0,19

5.3. Citología

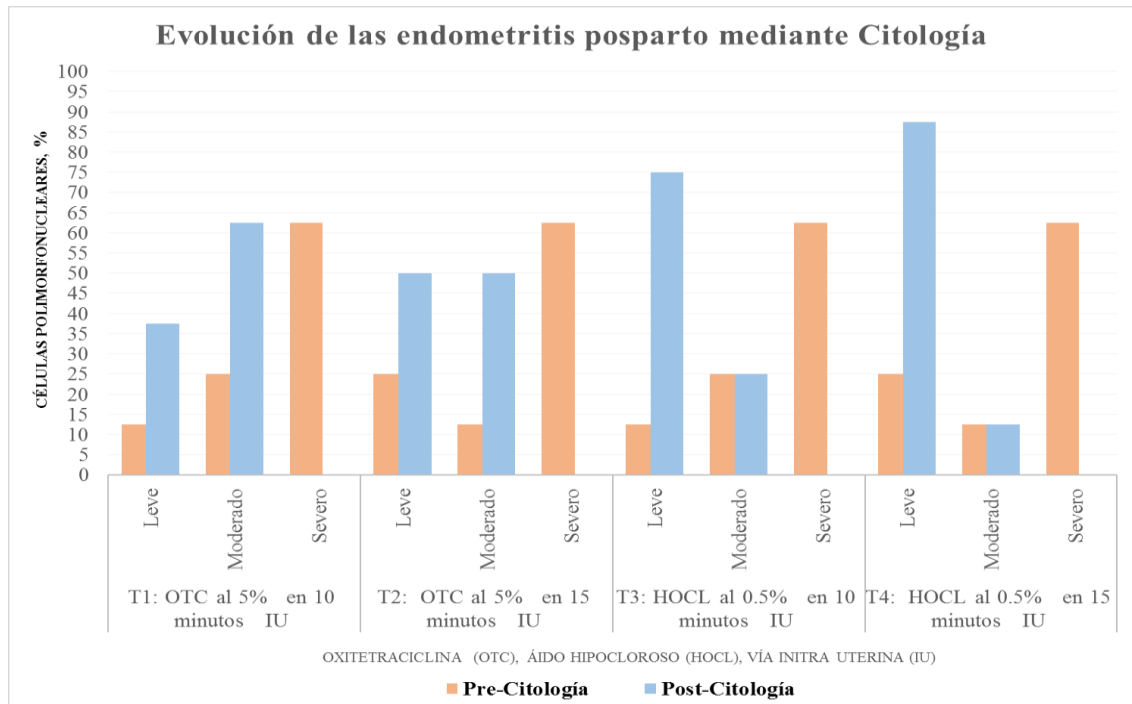


Figura 5. Evolución de las endometritis por citología

En la figura 5 se muestra la evolución de la endometritis de los tratamientos detallados en la metodología, y se observa que en el tratamiento 4 hay un mejor comportamiento involutivo del proceso inflamatorio; siendo que en todos los tratamientos los procesos severos se erradican completamente, pero el T4 se destaca por su mayor % de citologías en rango de infección leve esto concuerda con los resultados obtenidos en el leucograma, en la tabla 7 además coincide con la investigación de Kasimanickam et al., (2004) donde se argumenta que los neutrófilos constituyen la línea primera de la defensa contra la invasión de organismos patógenos posparto, lo que resulta en un aumento de la población PMN dentro del lumen uterino, por otro lado Sánchez, et al. (2011) mencionan que la respuesta inflamatoria mediada por PMN, es uno de los parámetros de mayor importancia al evaluar el estado inmunológico del animal frente a una patología uterina.

5.4. Cultivo

5.4.1. *Escherichia coli*

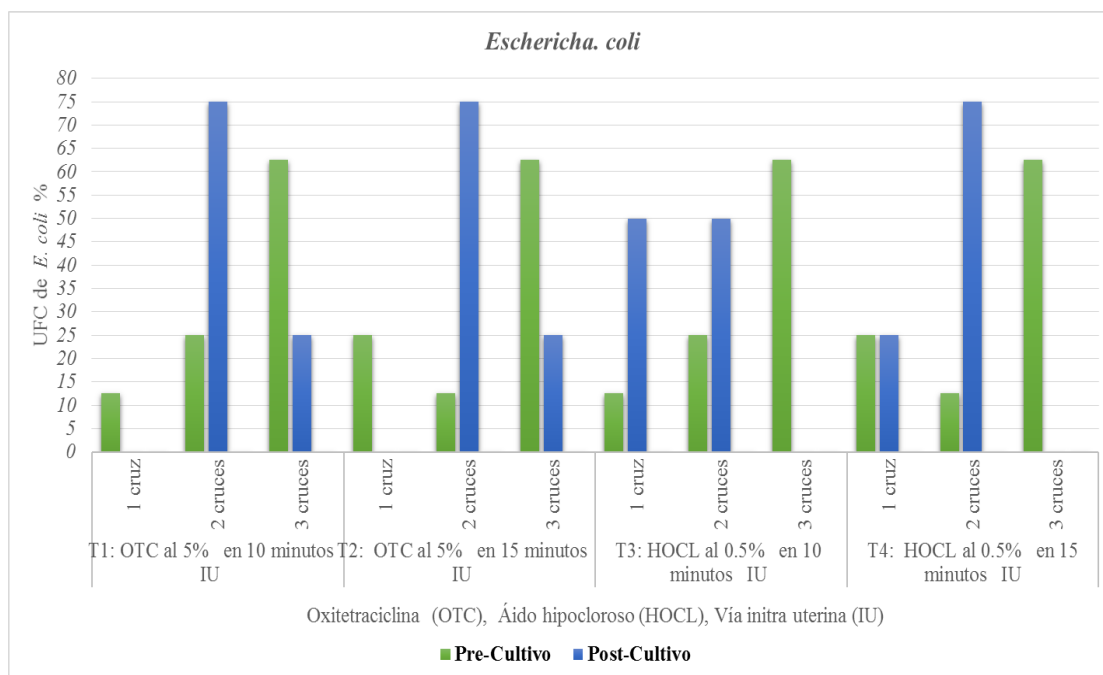


Figura 6. Resultados del cultivo para *Escherichia coli*

En la figura 6 se muestra la presencia de *E. coli* como agente coadyuvante de la endometritis postparto, y luego de aplicados los tratamientos se observa una disminución significativa de la presencia del agente patógeno en todos los tratamientos, siendo T3 y T4 los que presentan mayor respuesta antimicrobiana ante el proceso infeccioso que atraviesan los animales, estos resultados pueden deberse a que el ácido hipocloroso actúa como bactericida y por ende la presencia de este patógeno se ve disminuida cuando la aplicación es por vía local. A diferencia de los tratamientos T1 y T2 en los que se puede notar que luego de su aplicación todavía hay presencia de bacterias patogénicas, posiblemente debido a que estas poseen resistencia antibiótica al uso de oxitetraciclina.

El efecto bactericida del ácido hipocloroso según Gutiérrez et al. (2009) y Nachón et al. (2008) es atribuido a su elevado potencial de óxido reducción de los grupos

sulfhídrico y aminoácidos de la pared bacteriana, afectando el proceso de respiración y nutrición de los microorganismos, lo cual le confieren un amplio espectro de actividad, contra bacterias, hongos y esporas. A su vez Riveros (2003) corrobora en su investigación in vitro la efectividad bactericida contra *Escherichia coli* con el uso del ácido hipocloroso a 900 ppm a 10 minutos de acción.

5.4.2. *Actinomyces pyogenes*

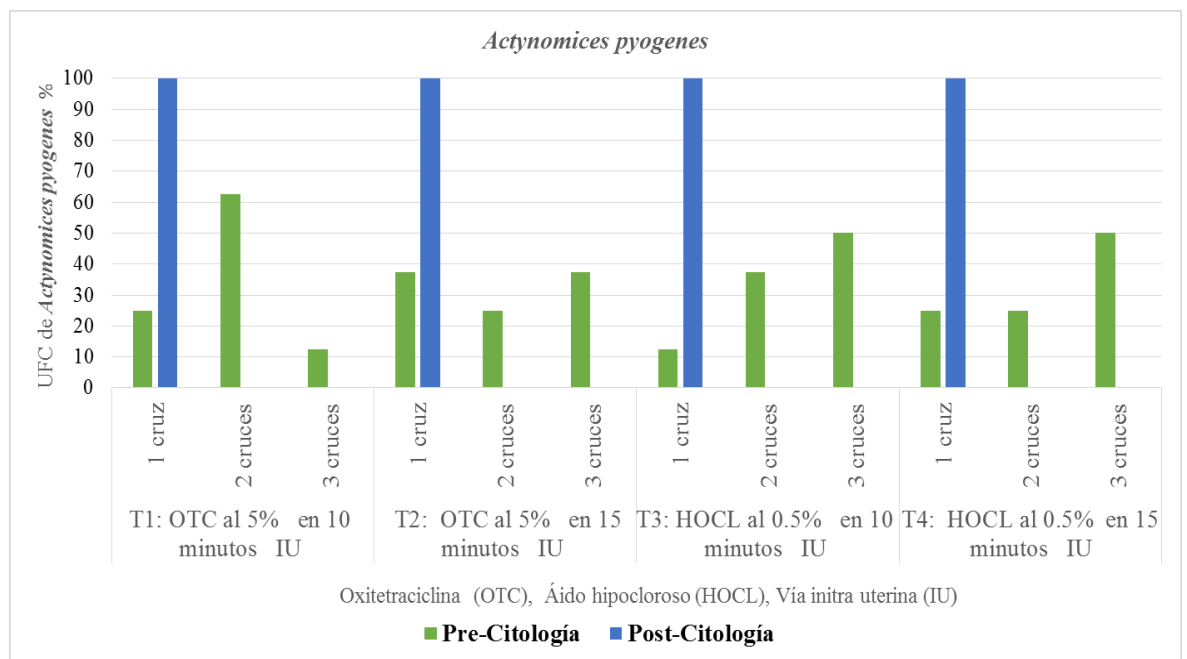


Figura 7. Resultados del cultivo para *Actinomyces pyogenes*

En el figura 7 se muestra la presencia de *Actinomyces pyogenes* como agente coadyuvante en las infecciones piógenas encontradas en los animales, y luego de aplicados los tratamientos se observa una disminución significativa de la presencia de esta bacteria; en todos los tratamientos se observa una disminución notable de colonias bacterianas, debido a que en cada infusión se extrae una gran parte de contenido purulento y la bacteria es sensible a los productos utilizados. Clerc et al., (2004) en su investigación menciona que *Arcanobacterium pyogenes* es habitante normal de las membranas mucosas de los animales domésticos, en los cuales puede constituir un patógeno oportunista, provocando infecciones purulentas en piel,

articulaciones y órganos internos. Además *A. pyogenes* es considerado como la causa principal de una gran variedad de infecciones piógenas.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS

6.1. Conclusiones

- La presente investigación muestra que, al utilizar el ácido hipocloroso como alternativa terapéutica sobre la endometritis bovina posparto, favorece a una mejor respuesta del curso de la enfermedad, lo que repercutirá en una involución uterina más corta con mejores resultados reproductivos y productivos.
- Se determinó estadísticamente que, el empleo de tres lavados intrauterinos cada 24 horas sobre vacas con endometritis posparto utilizando ácido hipocloroso al 0.5% por el lapso de 15 minutos (T4) , indujo a una disminución notable del cuadro inflamatorio e infeccioso de los animales tratados a diferencia del resto de tratamientos.
- Se valoró el grado de infección de la endometritis pre y postratamiento y se observó que, los animales en los que se utilizó el ácido hipocloroso como alternativa terapéutica mostraron un grado de infección leve al final del experimento, en comparación de aquellos tratamientos en los que se les aplicó Oxitetraciclina al 5%.
- Estadísticamente se estableció mediante citología que, la relación tiempo respuesta del T4 (Ácido hipocloroso 0.5% durante 15 minutos por vía

intrauterina) mejora la respuesta inmunológica frente al cuadro patológico observado en las endometritis posparto evaluadas.

6.2. Bibliografía

- Alvarado, S. M., Ascanio, E., & Méndez, C. (2008). Determinación de residuos de oxitetraciclina en muestras de tejido bovino destinadas al consumo humano. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, 49(2), 73-79.
- Aya, R. M., Lafaurie, G. I. I., Arboleda, S., Escalante, A., Castillo, D. M., Millán, L. V., ... & Ruiz, B. N. (2009). Eficacia desinfectante del ácido hipocloroso sobre cepas con poder patogénico de cavidad oral. *Revista Colombiana de Investigación en Odontología*, 1(1).
- Borle, C., Agüero, H., Morales, M. A., Kruze, J., León, B., & San Martín, B. (2004). Etiología de metritis bovina en rebaños lecheros de las Regiones V y Metropolitana (Chile) y resistencia bacteriana frente a diferentes antimicrobianos. *Avances en Ciencias Veterinarias*, 19(1-2).
- Calderón, J. L. Ácido hipocloroso (HOCl)“Una nueva alternativa en antisepsia y desinfección desarrollada en Colombia” .
- Clerc, K., Cordero, F., Saldivia, C. M., Vásquez, L. A., & García, M. L. (2004). Facial abscesses produced by acial abscesses produced by acial abscesses produced by *Actinomyces pyogenes* *ctinomyces pyogenes* (*Arcanobacterium pyogenes*)(*Arcanobacterium pyogenes*) in a Senepol bull in a Senepol bull. *Rev. Fac. Cs. Vets.-UCV*, 45(1), 1-8.
- Chen, C. J., Chen, C. C., & Ding, S. J. (2016). Effectiveness of Hypochlorous Acid to Reduce the Biofilms on Titanium Alloy Surfaces in Vitro. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(7), 1161.
- Cohen, R. O., Bernstein, M., & Ziv, G. (1995). Isolation and antimicrobial susceptibility of *Actinomyces pyogenes* recovered from the uterus of dairy cows with retained fetal membranes and post parturient endometritis. *Theriogenology*, 43(8), 1389-1397.
- Coll, M. D. (1978). Un método de tinción policrómico de uso rápido. *Miscel· lãnia Zoológica*, 4(2), 205-210.
- Cusimano, R., Cusimano, M., & Cusimano, S. (1984). The genius of Alexis Carrel. *Canadian Medical Association Journal*, 131(9), 1142.

- De Luca, L. (2012). Fisiopatología reproductiva en vacas de alta producción. Buenos Aires, Argentina.
- Dubuc, J., Duffield, T., Leslie, K., Walton, J., & LeBlanc, S. (2010). Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. *Journal of dairy science*, 93(12), 5764-5771.
- Ekrami, B., Ghasemzadeh, S., & Kordjazy, H. (2008). Comparison the Effect of Single Intra-uterine Administration of Three Antibiotics for the Treatment of Endometritis on the Conception Rate of a Dairy Herd. Faculty of Veterinary Medicine, Animal Clinical Sciences.
- Gilbert, R. O., Shin, S. T., Guard, C. L., Erb, H. N., & Frajblat, M. (2005). Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 64(9), 1879-1888.
- Gómez Piquer, J. (1992). Manual práctico de análisis clínicos en veterinaria. Zaragoza, Mira Editores, 315-357.
- Gutiérrez, C. C., Olvera, D. P. R., & Zavala, M. E. M. (2009). Efecto de una solución electrolizada de superoxidación con pH neutro sobre la infección del virus de influenza A en células MDCK. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, 22(4), 280-287. Calderón, J. L. ÁCIDO HIPOCLOROSO (HOCl) "Una nueva alternativa en antisepsia y desinfección desarrollada en Colombia".
- Hafez, E. (2007). Reproducción e Inseminación Artificial en Animales (Sexta ed., págs. 216,222). México: McGraw-Hill Interamericana.
- Jardon Herrera SG. 2003. Hematología en Medicina Veterinaria. 2 ed. México. UNAM; 74 p.
- Kasimanickam, R., Duffield, T. F., Foster, R. A., Gartley, C. J., Leslie, K. E., Walton, J. S., & Johnson, W. H. (2004). Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 62(1), 9-23.
- Kim, C., & Cha, Y. N. (2014). Taurine chloramine produced from taurine under inflammation provides anti-inflammatory and cytoprotective effects. *Amino Acids*, 46(1), 89-100.
- Laboratorio ECA. (2013). Ácido hipocloroso. Revisado en: http://www.laboratorioseca.com/assets/pdf/acido_hipocloroso_e_hipoclorito_de_sodio.pdf
- Lafaurie, G. I. I., Rosario Aya, M., Arboleda, S., Escalante, A., Castillo, D. M., Millán, L. V., .. & Ruiz, B. N. (2009). Eficacia desinfectante del ácido hipocloroso sobre cepas con poder patogénico de cavidad oral. *Revista Colombiana de Investigación en Odontología*, 1(1).

- Lafaurie, G. I., Calderón, J. L., Zaror, C., Millán, L. V., & Castillo, D. M. (2015). Ácido Hipocloroso: una Nueva Alternativa como Agente Antimicrobiano y para la Proliferación Celular para Uso en Odontología. *International journal of odontostomatology*, 9(3), 475-481.
- LeBlanc, S. J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Bateman, K. G., Keefe, G. P., Walton, J. S., & Johnson, W. H. (2002). Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *Journal of dairy science*, 85(9), 2223-2236.
- Lopez, D. (2008). Comportamiento del leucograma en los procesos inflamatorios y patrones leucocitarios no inflamatorios.
- Martínez, A. F., Prado, E. A. S., & López, O. F. (2006). Las infecciones uterinas en la hembra bovina-Uterine infections in bovine female. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 7(10), 1-38.
- Messeguer, JP; Gómez Piquer, J; Verde Arribas, MT; Marca Andrés, C; Gascón Pérez, FM; Garcia- Belenguer Laita, S; Aceña Fabián, MC. 1992. Manual Práctico de Análisis Clínicos en Veterinaria. Zaragoza, España. MIRA. 445p.
- Moffett, M., Young, J. L., & Stuart, R. D. (1948). Centralized gonococcus culture for dispersed clinics. *British Medical Journal*, 2(4573), 421.
- Moreno Prieto, A. C. (2010). Efectividad farmacologica del ácido hipocloroso frente al helicobacter pylori en un modelo experimental en caninos.
- Nachón, F., Díaz, J., Rivas, V., González, J., Nachón, M. García, F., y García, J. (2008). Esterilización por inmersión. Estudio comparativo entre glutaraldehído al 2 %, agua electrolizada superoxidada con pH neutro y solución electrolizada por selectividad iónica con pH neutro. *Revista Médica Universidad de Veracruz*, 8(2) 5-10.
- Paisley, L. G., Mickelsen, W., & Anderson, P. B. (1986). Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infections of cows: a review. *Theriogenology*, 25(3), 353-381.
- Palacios, J. (2009). Sistema inmune y la sangre. *Enfermera virtual*. Barcelona: Col·legi Oficial d'Infermeres i Infermers de Barcelona; Recuperado en: www.infermeravirtual.com
- Palmer, C. (2007). Enfermedades de la reproducción. Revisado en: www.produccionanimal.com.
http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/71-endometritis.pdf.
- Palomares-Naveda, R. A. (2008) Fundamentos para la terapia estratégica de las patologías posparto de la vaca .Desarrollo Sostenible de la Ganadería de Doble Propósito. El periodo postparto.

- Plumb, C. (2010). *Manual de Farmacología Veterinaria*. Buenos Aires, Argentina: Inter –Médica. .
- Riveros. S.C.H. (2003) Actividad bactericida del ácido hipocloroso. Colombia, 51(3), 136-142.
- Rutter, B. (2009). Fisiología y diagnóstico del puerperio normal y patológico en la vaca lechera. Engormix: Artículos técnicos.
- Rutter, B. (2015). Diagnóstico de endometritis subclínica en vacas lecheras.
- Sánchez, M., González, C., Castañeda, R., Pulido, A., Guáqueta, H., Aranda, M., & Rueda, M. (2011). Cytological and microbiological evaluation of uterine washing of bovine with reproductive problems (preliminary study). *Revista MVZ Córdoba*, 16(3), 2711-2720.
- Schroeder, H. (1999). Fisiología del puerperio; Alteraciones y disfunciones uterinas. En *Fisiopatología Reproductiva de la vaca*. (págs. 354-359, 491-494). Colombia: Celsu.
- Selkon, J. B., Cherry, G. W., Wilson, J. M., & Hughes, M. A. (2006). Evaluation of hypochlorous acid washes in the treatment of chronic venous leg ulcers. *Journal of wound care*, 15(1), 33.
- Sheldon, I. M., Lewis, G. S., LeBlanc, S., & Gilbert, R. O. (2004). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65(8), 1516-1530.
- Sheldon, I. M., Cronin, J., Goetze, L., Donofrio, G., & Schuberth, H. J. (2009). Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biology of reproduction*, 81(6), 1025-1032.
- Wang, L., Bassiri, M., Najafi, R., Najafi, K., Yang, J., Khosrovi, B., ... & Robson, M. C. (2007). Hypochlorous acid as a potential wound care agent: part I. Stabilized hypochlorous acid: a component of the inorganic armamentarium of innate immunity. *Journal of burns and wounds*, 6.
- Weiss, S. J. (1989). Tissue destruction by neutrophils. *New England Journal of Medicine*, 320(6), 365-376.

6.3. Anexos

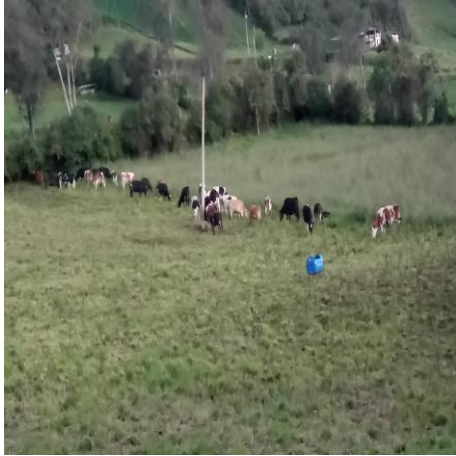


Figura 8. Animales del sector de Guanguibana



Figura 9. Animales del sector de San Carlos



Figura 10. Animales del sector de El Rosal



Figura 11. Sujeción del animal en manga



Figura 12. Sujeción manual del animal



Figura 13. Agua con Yodo para embrocado



Figura 14. Lavado de la zona vulvar



Figura 15. Secado de la zona vulvar



Figura 16. Introducción del espéculo



Figura 17. Uso de la lámpara para el chequeo



Figura 18. Toma de muestra intrauterina

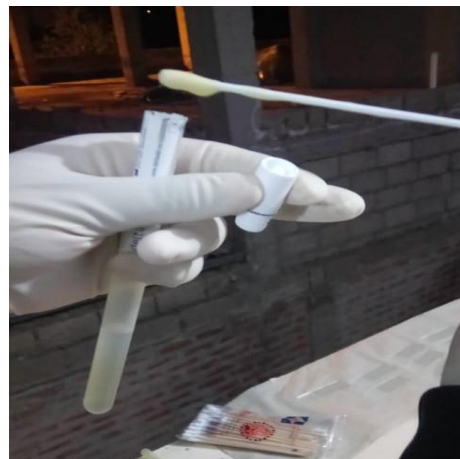


Figura 19. Muestra para cultivo



Figura 20. Toma de muestra sanguínea



Figura 21. . Introducción del catéter para la infusión



Figura 22. Extracción del producto



Figura 23. Chequeo postratamiento



Figura 24. Oxitetraciclina para infusión



Figura 25. Infusión de oxitetraciclina al 5 %



Figura 26. Infusión de HOCL al 0.5 %



Figura 27. Infusión de HOCL al 0.5 %




Figura 28. Tinción de las placas citológicas



Figura 29. Placas teñidas

Figura 30 Ejemplo de la reseña del animal **RESEÑA**

Dirección	Pillaro	
Nombre	Paty	
Especie	Bovino (Bos taurus)	
Raza	Holstein	
Sexo	Hembra	
Edad	3 años y 5 meses	
Nº de parto	Segundo	
(capa)	Blanco y negro	
Propósito	Leche	
Desparasitación	Si	
Tipo de alimentación	Raygrass + trébol + pasto azul	

ANAMNESIS

Esta decaída, no come, la producción de leche disminuyo, el día de hoy amaneció con diarrea.
Después del parto no expulsó toda la placenta y se realizó una extracción manual de la placenta.
No se realizó ningún tratamiento para la retención.
no se administra sal mineral

INSPECCIÓN

INMEDIATA

Condición corporal	2/5
Pelaje	Seco, hirsuto
Actitud	Inapetente, decaída, anorexia.
Otros	Morro: seco
	Diarrea: poco

MEDIATA

T ° rectal	40.5 °C
PPC	+ 5 seg
Mucosa vulvar	Pálida, secreción amarilla con mal olor
Otros	

AUSCULTACIÓN Y PALPACIÓN

FR	28 rpm
FC	84 lpm
Examen ginecológico	Fecha de la última inseminación o monta : 8 de enero del 2017
	Fecha del último parto: 4 de octubre del 2017
	Normal Distócico Retención placenta: SI
	Abortos/mes: No
	Fecha primer celo postparto: No
	Fase del ciclo estral: No
	Patologías en los órganos genitales: Agrandamiento de la pared del útero
Inflación del cérvix (color rojizo).	

CAPITULO VII

PROPUESTA

Utilización el ácido hipocloroso al 0.05% (T4) como alternativa terapéutica sobre la endometritis posparto.

7.1. Datos informativos

Las instituciones involucradas en la propuesta serán: la Universidad Técnica de Ambato, como responsable de propagar los resultados obtenidos en esta investigación a la Asociación de ganaderos de la Sierra y del Oriente (AGSO), para que a través de esta institución se pueda llegar a los grandes y pequeños ganaderos, con la finalidad no crear resistencia bacteria, para impulsar el desarrollo de la producción ganadera. Es así que por medio de los veterinarios y zootecnistas se asesore a los ganaderos, sobre el uso de alternativas terapéuticas como el ácido hipocloroso como preventivo para en un futuro evitar el uso inadecuando de antibióticos.

7.2. Antecedentes de la propuesta

En base a los resultados obtenidos en esta investigación, se plantea que el uso de ácido hipocloroso al .05% por vía intrauterina durante 15 minutos refleja una disminución notable del cuadro inflamatorio e infeccioso de los animales. El ácido hipocloroso, hace parte de un nuevo grupo de sustancia conocidas como “moléculas antimicrobianas no antibióticas” que por su amplio espectro, rápida acción, amplio

margen de seguridad, y concentración puede ser utilizado en procesos inflamatorios o prevenir un amplio número de infecciones.

7.3 Justificación

En la actualidad, la creciente preocupación con respecto al uso de antibióticos en animales productores de alimentos y la posible resistencia a los antibióticos estimula la búsqueda de terapias no antimicrobianas para el tratamiento de patologías que afectan a los animales y al ser humano quien consume sus derivados (leche, carne huevos, etc.); pese a este hecho, en nuestro país todavía no se concientiza sobre la inocuidad y soberanía alimentaria a la que todos tenemos derecho.

Con el uso de ácido hipocloroso al 0.5% por vía intrauterina durante 15 minutos en vacas con endometritis posparto, se determinó en este proyecto que el producto funciona como sustancia quimiotáctica permitiendo un excelente control microbiano y activación del sistema de defensa, lo que consecuentemente refleja una mejor utilidad para los ganaderos.

7.4. Objetivo

- ✓ Utilizar el ácido hipocloroso al 0.5%, en lavados intrauterinos, como alternativa terapéutica sobre la endometritis postparto, para así no depender de la utilización indiscriminada de antibióticos en la producción ganadera, y de esta manera mantener la eficiencia productiva y reproductiva de vacas tratadas.

7.5. Análisis de factibilidad

7.5.1 Aspecto técnico

De manera estricta deberá ser un profesional a fin a la reproducción animal, quien a partir de los resultados obtenidos en esta investigación, sea quien realice la infusión a del ácido hipocloroso en las pacientes a criterio profesional.

7.5.2 Aspecto financiero

Con respecto a la factibilidad económica de la propuesta, se debe considerar que con la utilización del ácido hipocloroso al 0.5% en los lavados intrauterinos, se obtiene menor pérdida económica de los productores, debido a que este producto no obliga a retirar la leche del mercado, a diferencia de lo que sucede con el uso de antibióticos.

7.5.3 Aspecto social y ambiental

La contribución social del uso del ácido hipocloroso al 0.5%, apunta al uso del mismo en procesos inflamatorios agudos y prevención de patologías, ayudando a reducir gastos económicos en la producción, en cuanto al retiro de leche ya que la presencia de residuos de antibióticos en la leche es un problema que aqueja a toda la industria lechera, debido a que cantidades mínimas de antibióticos en la leche o la carne representan un problema de salud pública que no debe ser aceptado, además de ser ilegal .Y evidentemente la producción en producto , no producirá un impacto ambiental indeseado, pues es completamente biodegradable.

7.6. Fundamentación

En nuestro país la ley Orgánica del Régimen de Soberanía Alimentaria (2010), en su Artículo 24 exhibe que “la sanidad e inocuidad alimentarias tienen por objeto

promover una adecuada nutrición y protección de la salud de las personas; y prevenir, eliminar o reducir la incidencia de enfermedades que se puedan causar o agravar por el consumo de alimentos contaminados”. El artículo 25 también menciona que “El Estado prevendrá y controlará la introducción y ocurrencia de enfermedades de animales y vegetales; asimismo promoverá prácticas y tecnologías de producción, industrialización, conservación y comercialización que permitan alcanzar y afianzar la inocuidad de los productos. Para lo cual, el Estado mantendrá campañas de erradicación de plagas y enfermedades en animales y cultivos, fomentando el uso de productos veterinarios y fitosanitarios amigables con el medio ambiente”

7.7. Metodología, modelo operativo

- ✓ La propuesta dará inicio con las siguientes actividades:
- ✓ Reunir a los integrantes de las comunidades ganaderas especializadas en la producción lechera.
- ✓ Capacitar teóricamente a las personas asistentes sobre las ventajas económicas y sanitarias del uso de ácido hipocloroso al 0.5% para lavados intrauterinos en endometritis posparto.
- ✓ Capacitar de forma práctica a las personas interesadas, para que realicen la administración del producto.
- ✓ Adquisición del producto.
- ✓ Puesta en marcha de lo aprendido, por parte de los ganaderos.

7.8. Administración

Se trabajará con pequeños, medianos y grandes ganaderos que quieran poner en práctica el uso del producto en su explotación, con el respectivo asesoramiento de un técnico a fin a la reproducción y producción ganadera.