

FUNDACION UNIVERSITARIA AGRARIA DE COLOMBIA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA



**EFICACIA DEL ÁCIDO HIPOCLOROSO EN EL TRATAMIENTO DE ENDOMETRITIS EN
UN GRUPO DE YEGUAS DE LA SABANA DE BOGOTÁ, COLOMBIA**

Presentado por

BREINNER EFREN GARAVITO PARDO (3586)

JORGE ANDRES OLARTE RODRIGUEZ (3927)

Bogotá, enero

2020

FUNDACION UNIVERSITARIA AGRARIA DE COLOMBIA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA



EFICACIA DEL ÁCIDO HIPOCLOROSO EN EL TRATAMIENTO DE ENDOMETRITIS EN
UN GRUPO DE YEGUAS DE LA SABANA DE BOGOTÁ, COLOMBIA

Preparado por

BREINNER EFREN GARAVITO PARDO (3586)

JORGE ANDRES OLARTE RODRIGUEZ (3927)

Director

Germán Ramírez M.V. Esp. M. Sc.

Bogotá, Enero

2020

PÁGINA DE ACEPTACIÓN

NOTA DE ACEPTACIÓN

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Bogotá 2020

DEDICATORIA

Quiero agradecer de primera mano a Dios, porque él siempre ha estado en mi vida y gracias a él este logro ha sido posible, y es quien me seguirá guiando toda mi vida por el buen camino.

De igual manera agradezco infinitamente a mis padres que siempre me apoyaron, guiaron y confiaron en todo momento.

También quiero agradecer a mis docentes, quienes me apoyaron, aportaron conocimiento y compartieron sus experiencias para lograr de mí un futuro profesional con grandes aptitudes, facultades y capacidades.

Así mismo se le agradece al Doctor Jerisson Ávila por su valiosa contribución en la parte de Histopatología con las biopsias endometriales y al laboratorio "Histolab", donde se realizó la Histotecnica.

TABLA DE CONTENIDO

Resumen	9
Abstract	10
Introducción	11
Objetivos	12
Marco Teórico	13-20
Materiales y Métodos	21-31
Resultados	32-40
Discusión de Resultados	41-42
Conclusiones	43
Recomendaciones	44
Lista de Referencias	45-47

LISTA DE TABLAS

<u>Tabla 1</u> Clasificación histopatológica de Kenney _ _ _ _ _	17
<u>Tabla 2</u> Grados de edema _ _ _ _ _	36
<u>Tabla 3</u> Resultados pre y post - tratamiento en estudio de muestra de Citología _ _ _	36
<u>Tabla 4</u> Porcentaje de agentes aislados _ _ _ _ _	38
<u>Tabla 5</u> Porcentaje de sensibilidad de antibióticos _ _ _ _ _	39
<u>Tabla 6</u> Grupos de yeguas con Biopsia _ _ _ _ _	41
<u>Tabla 7</u> Grados de endometritis pretratamiento _ _ _ _ _	43
<u>Tabla 8</u> Grados de endometritis post tratamiento _ _ _ _ _	43
<u>Tabla 9</u> Grupo tratado con antibiótico _ _ _ _ _	43

LISTA DE IMAGENES

<u>Imagen 1</u>	Toma de muestra para cultivo bacteriológico	30
<u>Imagen 2</u>	Agares cultivados y etiquetados	31
<u>Imagen 3</u>	Agares distribuidos en Incubadora	31
<u>Imagen 4</u>	Uso de sensidiscos	31
<u>Imagen 5</u>	Incubadora	31
<u>Imagen 6</u>	Uso de especulo vaginal en yegua	32
<u>Imagen 7</u>	Palpación rectal en yegua	32
<u>Imagen 8</u>	Tinción de Wright	33
<u>Imagen 9</u>	Almacenamiento de láminas	33
<u>Imagen 10</u>	Lectura de láminas	33
<u>Imagen 11</u>	Ecografía de Útero con edema grado 4	35
<u>Imagen 12</u>	Agar sangre positivo a <i>E. Coli</i>	38
<u>Imagen 13</u>	Agar MacConkey positivo a <i>E. Coli</i>	38
<u>Imagen 14</u>	Resultado de sensibilidad	39
<u>Imagen 15</u>	Resistencia al antibiótico	39
<u>Imagen 16</u>	Crecimiento de colonias bacterianas	40
<u>Imagen 17</u>	Crecimiento negativo post tratamiento	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Esquema de porcentaje de microorganismos aislados _ _ _ _ _ 37

Figura 2 Esquema representativo de grados de endometritis en yeguas _ _ _ _ _ 42

RESUMEN

La endometritis en yeguas es una alteración generada en el endometrio por diferentes causas como lo son la edad avanzada, la mala conformación interna y externa de órganos reproductivos, la cual esta correlacionada con la susceptibilidad en la endometritis, las endometritis bacterianas no específicas y endometritis bacterianas venéreas. El objetivo general de este trabajo fue comparar la eficacia del tratamiento de endometritis en yeguas usando ácido hipocloroso en infusión uterina, versus el tratamiento convencional, que son los antisépticos y antibióticos de uso local. El estudio se desarrolló en la Sabana de Bogotá (subregión ubicada en el centro geográfico de Colombia, sobre la Cordillera Oriental, con una altura promedio de 2.600 msnm). Se utilizaron 14 yeguas diagnosticadas con endometritis, para lo cual se realizó un examen reproductivo (BSE) de la yegua antes y después del tratamiento (Palpación, Ultrasonografía, Cultivo Bacteriológico, Citología e Histopatología de Biopsia Endometrial usando tinción hematoxilina-eosina). Del total de animales se dividieron en dos grupos; 7 yeguas se trataron con ácido hipocloroso (grupo tratamiento) y en las otras 7 yeguas se instauró el tratamiento convencional (grupo control) a base de un producto comercial, ambos productos fueron administrados mediante infusión intrauterina. De los 14 animales, 13 presentaron endometritis clínica y solo 1 endometritis subclínica, en todos los casos fueron aisladas bacterias, donde el 21, 4% presento un crecimiento de colonias mixta (*E. coli*, *streptococcus Alfa haemolitico*) y el 78,5 % crecimiento bacteriano de un solo agente (*E. coli*). Después de los tratamientos instaurados se comprobó que tanto el uso de acido hipocloroso como el de antibiótico presentaron una reducción en el crecimiento microbiológico demostrando así la eficacia de ambos protocolos. El examen citológico fue clave en el proceso de diagnóstico de endometritis y tuvo un valor altamente significativo al comparar la reducción tan marcada de células polimorfonucleares (PMN) del pretratamiento a comparación del postratamiento en el cual los porcentajes de PMN disminuyo satisfactoriamente y en algunos casos los resultados de las biopsias endometriales fueron directamente proporcionales a la citología. La biopsia endometrial fue el método diagnóstico definitivo en el cual comprobamos si el tejido uterino se reestructuro normalmente o por el contrario su estado patológico persistió.

ABSTRACT

Endometritis in mares is an alteration generated in the endometrium by different causes such as advanced age, poor internal and external conformation of reproductive organs, which is correlated with susceptibility in endometritis, non-specific bacterial endometritis and venereal bacterial endometritis. The general objective of this work was to compare the efficacy of endometritis treatment in mares using hypochlorous acid in uterine infusion, versus the conventional treatment, which is usually chlorhexidine or iodopovidone, which are the most commonly used antiseptics in the Savannah of Bogota (a subregion located in the geographical centre of Colombia, on the Eastern Cordillera, with an average height of 2,600 masl), or antibiotic if the owner so requested. 14 mares diagnosed with endometritis from the Savannah de Bogotá were used for which a reproductive examination of the mare was performed before and after treatment (Palpation, Ultrasonography, Bacteriological Culture, Cytology and Histopathology of Endometrial Biopsy using hematoxylin-eosin staining), 7 mares with hypochlorous acid (treatment group) and the other 7 mares in which conventional treatment (control group) was instituted based on a commercial product, both products were administered by intrauterine infusion. Of the 14 animals, 13 presented clinical endometritis and only 1 subclinical endometritis, in all cases they were isolated bacteria, where 21, 4% presented a mixed colony growth (*E. coli*, *streptococcus Alfa haemolitico*) and 78,5% bacterial growth of a single agent (*E. coli*). After the treatments instituted it was found that both the use of Hypochlorous Acid and the antibiotic showed a reduction in microbiological growth thus demonstrating the efficacy of both protocols. The cytological examination was key in the endometritis diagnostic process and had a highly significant value when comparing the very marked reduction of polymorphonuclear cells (PMN) from pre-treatment to post-treatment comparison in which the percentages of PMNs were satisfactorily reduced and in some cases the results of endometrial biopsies were directly proportional to the cytology. Endometrial biopsy was the definitive diagnostic method in which we checked whether the uterine tissue was restructured normally or on the contrary its pathological state persisted.

INTRODUCCIÓN

La endometritis es una de las principales causas de infertilidad en yeguas, razón por la cual ha aumentado el uso indiscriminado de antibióticos locales o sistémicos, así como la aplicación de antisépticos en busca de tratar esta patología, y esto hace necesario buscar nuevas alternativas terapéuticas, para así mejorar los índices de concepción en las yeguas. En el trabajo se propuso el Ácido Hipocloroso (HOCL) como una alternativa para tratar la endometritis en yeguas, dado que en ensayos *in vitro* se ha observado que tiene muy buenos resultados de neutralización de patógenos, los cuales son resistentes a algunos antibióticos, además esta molécula tiene actividad bactericida y se ha comprobado su actividad en campo, empleándola en procesos de cicatrización y desinfección de heridas en perros (Tovar y Mendoza, 2017).

La implementación de técnicas diagnósticas tales como ecografía, citología, cultivo bacteriológico más antibiograma y biopsia endometrial, nos ayuda a obtener un mínimo margen de error y lograr un diagnóstico exacto, Para diagnosticar la endometritis en yeguas es importante hacer un examen minucioso del aparato reproductor externo como del interno y para esto es aconsejable usar ayudas diagnosticas como ultrasonografía para determinar la presencia de líquido en el útero, por otra parte la biopsia endometrial ayuda a determinar el grado histopatológico en el que encuentra la endometritis según la clasificación histopatológica de Kenney y la citología endometrial la cual es una herramienta diagnóstica que permite el estudio morfológico de células individuales obtenidas de tejidos corporales, con el propósito de clasificar determinado tipo de lesión.

El propósito de este trabajo fue comparar la eficacia del Acido Hipocloroso respecto a los tratamientos convencionales que se usan en las diferentes producciones equinas como los antisépticos y antibióticos. Para esto se seleccionó un grupo de yeguas de la Sabana de Bogotá, las cuales estaban dentro de los criterios establecidos en el presente estudio, y contaron con un examen reproductivo completo en el cual se tomaron muestras antes y después del tratamiento con lo cual se logro determinar el comportamiento de esta molécula frente a esta patología.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la eficacia del ácido hipocloroso para el tratamiento de endometritis en un grupo de yeguas de la Sabana de Bogotá, Colombia

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Identificar el efecto del Acido Hipocloroso en el endometrio en un grupo de yeguas de la Sabana de Bogotá mediante el uso de Ecografía, Citología y Antibiograma
- Observar la respuesta a los tratamientos instaurados mediante el uso de Ultrasonografía y Biopsia endometrial con Histopatología usando tinción hematoxilina-eosina.
- Establecer cuáles son las bacterias más habituales en endometritis en yeguas mediante el uso de Cultivo bacteriológico para su posterior tratamiento con Acido Hipocloroso

MARCO TEORICO

Hughs y Loi reportaron en 1969 los primeros informes sobre yeguas infértiles, las cuales presentaban endometritis inducida por el continuo apareamiento, y yeguas pluriparas desarrollaban una endometritis más avanzada, un tiempo después a finales de los años 80 se comprueba que la evacuación física del contenido uterino en el estro era diferente entre yeguas fértiles e infértiles, lo que genero un estudio más profundo a esta patología.

Según Acosta y Álvarez en el 2010, la endometritis la definen como la inflamación del endometrio, la cual es causada por la contaminación que se genera en el útero al existir presencia de diferentes microorganismos que se presentaron en otros procesos reproductivos en la yegua, así mismo, se debe destacar que, al realizar diferentes exámenes reproductivos, también se puede generar endometritis e igualmente se considerara la deficiente conformación perineal como otro factor causal de la misma. LeBlanc en 2004 afirma que al existir presencia de microorganismos habrá una disminución en la fertilidad de la yegua, esta es una causa bastante común al mencionar problemas reproductivos en estos animales. Los principales mecanismos para la introducción de agentes patógenos en el animal inician en el servicio de la yegua, ya sea por monta natural, inseminación artificial o por un examen post parto, esto se da debido a que los mecanismos de defensa uterinos no están funcionando correctamente, ya sea por la parte humoral o celular y este fallo en la respuesta de defensa desencadena la endometritis y se generara un entorno inapropiado para el embrión.

Acero en 2014 describe que la endometritis puede ser un proceso patológico o fisiológico y se presenta en condiciones normales, ya que sirve como respuesta por parte del organismo de la yegua para eliminar microorganismos patógenos que se puedan encontrar en el útero y para contrarrestar el exceso de espermatozoides que no son necesarios.

Por otra parte, LeBlanc en 2004 afirma que la endometritis es el resultado de cambios degenerativos en el útero que son ocasionados por la edad y el elevado número de partos, aunque no hay una base genética comprobada, se ha demostrado que el apareamiento continuo junto a factores genéticos predispone a que se genere una endometritis en las yeguas. De la misma manera Annandale et al en el 2008 menciona que la endometritis puede inducirse por apareamiento continuo, infección crónica o simplemente una endometritis de transmisión sexual (Annandale et al., 2008).

La endometritis es considerada como una de las patologías más importantes e influyentes en la muerte embrionaria (>35 días), siendo multifactorial y dando inicio en cualquier momento a partir del inicio de la viabilidad reproductiva de la hembra (Schnobrichet *al.*, 2015).

En casos clínicos graves, la endometritis evoluciona a grado 3, donde la consideramos una infección crónica con útero lleno de contenido purulento denominado piómetra (Gonzales,2009).

Causas de endometritis en yeguas

Acero en el 2014, explica que existen diferentes causas o factores para que se genere la endometritis, pero hay unas que se presentan con mayor frecuencia, como la edad avanzada, la conformación interna y externa de los órganos reproductivos, inadecuada posición del útero y presencia de bacterias. El mismo autor explica que al tener una yegua con edad avanzada, ésta va a tener un sistema inmune que ya no trabaja con la misma eficacia, dejando al animal susceptible a una posible endometritis, dado que al entrar en contacto con una sustancia extraña o un agente patógeno, el animal no responderá de la misma manera que un animal joven, igualmente es importante la conformación perineal, ya que se ha demostrado que yeguas con mala conformación tienen mayor susceptibilidad a padecer endometritis antes del parto, por otro lado, cuando se tiene una mayor conformación, se disminuye el riesgo de generar inflamación.

Acero en 2014 afirma que se debe tener en cuenta la posición del útero en la cavidad abdominal, ya que animales que muestren una caída pendular del útero por debajo del borde de la pelvis, van a tener una menor eficiencia en el momento de realizar un lavado uterino, lo que dejará a la yegua susceptible a endometritis. Animales que posean algún tipo de bacteria patógena dentro del útero, estarán en riesgo, ya que éste podrá ser el causante directo de generar la endometritis para lo cual es importante realizar aislamientos y saber cuáles son las bacterias más comunes a encontrar; De igual manera, en el mismo estudio se describieron algunas de las bacterias comúnmente encontradas en el útero de yeguas, entre las cuales están: “*Escherichia coli* (54,54%), *Proteus spp.* (10,22%), *Staphylococcus aureus*(9,09 %),*Streptococcus beta – hemolítico*(5,68 %). *Pseudomona aeruginosa* (2,27 %) y *Klebsiella pneumoniae* (1,14%)”.

Smith en 2010, describió al *Streptococcus equi zooepidemicus*, como el agente causal más frecuente de endometritis, y explicó que para iniciar contaminación por esta bacteria o algún

otro microorganismo deben existir tres factores a tener en cuenta, como son: 1-higiene al momento de hacer los exámenes reproductivos en la yegua o el mismo servicio ya sea por monta natural o inseminación artificial, 2- el sistema inmune del animal, ya que debe estar en estado óptimo para que responda bien ante cualquier estímulo externo, 3- virulencia del microorganismo patógeno, ya que como bien se sabe hay unos que causan mayor daño que otros. Existe un factor indispensable a tener en cuenta, es la conformación anatómica de la zona perineal, ya que esto predispone a la entrada de aire a la vagina y/o útero conocido normalmente como neumovagina y en ese caso habría una mayor susceptibilidad en la yegua a una contaminación bacteriana.

De acuerdo a la revisión realizada por Nielsen en 2005 la causa más importante de esta patología son las bacterias oportunistas, dado que en el 77% de los casos en las yeguas se ha encontrado *Streptococcus equi zooepidemicus*, siendo la más frecuente, seguida de *Escherichia coli*, como la segunda causa más común, ya que hace parte de la flora bacteriana normal en la yegua y una disminución en el funcionamiento del sistema inmune será suficiente para que genere daño en el sistema reproductor, teoría la cual confirma Nocera en el 2017.

Signos clínicos de endometritis en yeguas

En la endometritis aguda las diferentes bacterias entran en el animal durante el servicio o el examen reproductivo que realiza el Médico Veterinario y es normal que en el coito siempre haya endometritis hasta cierto punto (Acosta y Álvarez, 2010). Las yeguas con piómetra, aunque parezcan sanas, no mostrarán ciclos estrales ya que no generan PGF2 α ; in embargo, en algunas yeguas se podrá observar anorexia, depresión y descarga purulenta ya sea por la vagina o cérvix como signos de la presencia de piómetra. En la endometritis se tendrán signos como acortamiento del ciclo estral, secreciones purulentas vía cervical y vaginal, repetición de montas e inseminaciones y muerte embrionaria y en el caso de yeguas con endometritis inducida por apareamiento continuo, se observa que entran en gestación de 3 a 4 veces normalmente y luego comienzan a acumular fluidos en su útero y a medida que va aumentando la edad y el número de partos, será más difícil evacuar estos fluidos (LeBlanc, 2004).

Diagnóstico de endometritis en yeguas

Se debe hacer un examen cuidadoso del aparato reproductor externo e interno, usando diferentes técnicas como espéculo vaginal estéril y de ser necesario usar ultrasonografía (Acosta y Álvarez, 2010).

Anteriormente el diagnóstico de la endometritis era complicado, pero gracias a la llegada de la ultrasonografía se puede determinar la presencia de líquido en el útero, o conformación de este, pudiendo determinar cantidad, viscosidad, y tonalidad uterina (Liu y Troedsson, 2008).

Cuando se evidencian los cambios histológicos en la muestra endometrial, se debe clasificar la categoría o el grado en el que se encuentra la endometritis, siendo el “grado I” un endometrio normal, “grado II A” y “grado II B” endometrio alterado y el “grado III” ya es un endometrio gravemente afectado (Smith, 2010).

Biopsia endometrial

La biopsia endometrial se considera la prueba diagnóstica más importante en el diagnóstico de patologías uterinas ya que constituye una efectiva técnica para la evaluación del estado o condición del útero en función de las expectativas de fertilidad en la yegua, pudiendo realizarse en el contexto de un completo y detallado análisis del estado del útero, complementando la información de la anamnesis, palpación rectal, examen vaginoscópico, cultivo bacteriológico y examen citológico. (Kenney, 1986)

La biopsia constituye el medio más eficiente de identificar inflamación uterina y sus consecuencias principales, fibrosis y degeneración glandular, superando en el diagnóstico a las otras técnicas y permitiendo de este modo evaluar los efectos de la terapia intrauterina y estimar por otra parte las expectativas de fertilidad. (Kenney, 1986)

A continuación, se presenta el sistema de Kenney y Doig en 1986 en la cual clasifican la biopsia endometrial y las expectativas de fertilidad respectivas:

Tabla 1 : Clasificación de endometritis de Kenney

Categoría	Fibrosis periglandular	Degeneración glandular (%)	Expectativas de fertilidad (%)
I	ausente	< 10	80- 90
II alta	ligera	10- 35	50- 80
II baja	moderada	35- 60	10- 50
III	severa	> 60	10

Tomado de: Kenney, (1986)

Clasificación Histopatológica de Kenney

Categoría I: El endometrio no presenta cambios patológicos (como inflamación o fibrosis) y si los tiene son muy leves y esporádicos. No se encuadra dentro de esta categoría un endometrio hipoplásico o atrófico.

Categoría II: Presencia de infiltrado inflamatorio difuso, de leve a moderado en el estrato compacto; o focos inflamatorios dispersos pero frecuentes del estrato compacto y el esponjoso. Cambios fibróticos aislados, con grado variable de severidad (de 2 a 3 capas alrededor de nidos glandulares). Lagunas linfáticas palpables y atrofia endometrial parcial, tardía en la estación reproductiva fisiológica.

Categoría IIA: En esta clasificación se encuentra una ligera fibrosis periglandular, tendremos un porcentaje de degeneración glandular que puede ir hasta el 35% y los animales tendrán una expectativa de fertilidad que podrá bajar hasta el 50%

Categoría IIB: En ella se incluyen las muestras con más de uno de estos cambios. Aquí los cambios inflamatorios son focos diseminados, difusos o moderadamente severos ubicados en el epitelio luminal, el estrato compacto y esponjoso.

Categoría III: Inflamación severa difusa, generalizada; fibrosis periglandular generalizada; lagunas linfáticas palpables e hipoplasia endometrial (Kenney,1986)

Un punto importante es el momento para la realización de estas pruebas diagnósticas, ya que debe hacerse durante el estro, puesto que en este punto el cérvix se encuentra dilatado y no genera traumatismo (Acosta y Álvarez, 2010).

Ecografía

Mediante el uso de esta ayuda diagnóstica se puede observar la integridad de la pared uterina, cuernos, ovarios, cérvix, y la presencia de contenido anecóico especialmente durante el diestro, (en el estro puede ser fisiológico normal), seguido de una inflamación de las paredes del útero o la flacidez de estas en procesos muy crónicos, los cuales podrán ser medidos gracias al ecógrafo. También se pueden observar áreas ecoicas en el endometrio compatibles con la afección.

Citología endometrial

La citología es una herramienta diagnóstica que permite el estudio morfológico de células individuales obtenidas de tejidos corporales, con el propósito de clasificar determinado tipo de lesión, con la cual se obtienen resultados cualitativos y cuantitativos observando el estado fisiológico o patológico del endometrio, así mismo es una técnica rápida, simple, económica y no invasiva en comparación con la histopatología. La coloración de Wrigth es la tinción más utilizada para el procedimiento, por su facilidad de uso en campo como en laboratorio, la interpretación de los resultados varía dependiendo el estado del ciclo estral en el que se encuentre el animal, observando células cornificadas (escamosas, sin núcleo), células epiteliales columnares en menor cantidad en estado de estro. Al tomar una muestra citológica en procesos inflamatorias las células que se observan en mayor cantidad son los neutrófilos como primera barrera de defensa y dependiendo su morfología puede deducirse la cronicidad de la inflamación, en casos de endometritis se observan neutrófilos con procesos degenerativos o muertos lo que indica una alta severidad del agente que está causando la patología. El conteo de neutrófilos por campo es lo que indica si existe o no la presencia de un proceso inflamatorio patológico o no, dando como referencia 3% de neutrófilos por campo. (Ortiz et al.,2011).

Cultivo bacteriológico y Antibiograma

Es una técnica diagnóstica cuantitativa, la cual busca mediante el uso de diferentes medios de crecimiento el aislamiento de uno o varios agentes microbiológicos. El éxito de esta técnica varía dependiendo el agente a aislar, dado que algunos microorganismos necesitan medios y tiempos específicos de crecimiento, así como de temperatura. Esta técnica se complementa con el uso de sensidiscos, los cuales tienen forma circular y están impregnados de antibióticos específicos y su única finalidad es demostrar si el agente presente en el cultivo es sensible o no, al antibiótico presente y de esta manera los resultados son obtenidos por el número de colonias aisladas versus el grado de sensibilidad presentada. Las bacterias encontradas en los cultivos bacteriológicos: *E.coli*, *Streptococcus Beta haemolítico*, *Streptococcus equi subs zooepidemicus* y *Staphylococcus Aureus*.

Tratamiento para la endometritis en yeguas

Se utilizan antibióticos (Penicilina, Gentamicina, Ceftiofur, Enrofloxacin) locales mediante infusión, usando un catéter que pasa a través del cuello uterino. Dichas infusiones dependen del grado de infección siendo así recomendable hacer 3 a 10. En ocasiones se aplica PGF₂α para que el animal entre en celo rápidamente (Samper, 2009). Cabe destacar que el exceso de moco también puede interferir la penetración del antibiótico, inactivar los aminoglucósidos, e interferir el transporte espermático hasta el oviducto. Por lo tanto, el uso de mucolíticos está justificado. Los agentes que se incluyen en este grupo son el Dimetilsulfóxido (DMSO), y la N-acetilcisteína (NAS).

Se realizan lavados uterinos usando 1 – 2 litros de solución salina por sifonaje de tal manera que lo que entra sale del endometrio y así para favorecer la eliminación de exudados. “Así mismo se puede usar oxitocina para aumentar la salida de fluidos del útero” (Acosta y Álvarez, 2010).

Para el caso de endometritis inducida por apareamiento continuo el tratamiento está dirigido a la eliminación rápida de los fluidos intrauterinos después del servicio y para ello se han descrito algunos protocolos en los cuales se emplea una combinación de lavados uterinos efectuados entre las 4 y 12 horas después del servicio en combinación con oxitocina o cloprostenol (LeBlanc, 2004).

En la endometritis aguda generalmente la infección se resuelve a las 72 horas, y el útero es capaz de recibir el ovulo fertilizado, igualmente el tratamiento para la metritis aguda consiste

en lavar con grandes cantidades de solución salina y oxitocina para estimular las contracciones uterinas, con el fin de eliminar el tóxico del útero de la yegua (Acosta y Álvarez, 2010).

Ácido hipocloroso

En la antigüedad, el ácido hipocloroso se utilizaba como terapia en la desinfección y cicatrización de las heridas de los soldados de la primera guerra mundial, en donde las bajas por infecciones eran aún casi igual que las presentadas durante el combate, en aquella época, se buscaba una molécula que tuviera propiedades desinfectantes, y a su vez, fuera de directa aplicación sin lesionar o irritar el tejido expuesto y acelerando su proceso de cicatrización, es ahí, donde en 1915 Alex Carrel y Henry Dakin, obtienen lo que se conoce como solución de Dakin, basándose en hipoclorito de sodio tamponado, la cual generaba concentraciones de HOCL adecuadas y que poseía un efecto bactericida y cicatrizante sin daños secundarios en tejidos. Con el paso del tiempo varios científicos han usado esta molécula en estudios de estabilización y potencialización de la misma, y en 1993, Justo Calderón investigador colombiano, logró estabilizar al HOCL y usarlo en el tratamiento de diferentes afecciones crónicas y agudas, procesos degenerativos a causas de quemaduras, limpieza de heridas sucias y contaminadas y la aplicación en lavados en diferentes partes del cuerpo, obteniendo resultados satisfactorios (Acero et al.,2015).

El ácido hipocloroso (HOCL) es una molécula natural presente en la inmunidad innata, producto final bactericida de los neutrófilos, secretado como respuesta primaria ante la presencia de antígenos foráneos, que ha demostrado tener gran efectividad en la respuesta contra gran diversidad de microorganismos como *E. Coli* y *Staphylococcus* (Liden,2013). La producción de gran variedad de sustancias químicas oxidantes, como respuesta primaria ante agentes infecciosos, logra una eficaz y rápida destrucción de dichos agentes. Estos productos oxidativos se han encontrado neutrófilos, eosinófilos, linfocitos B y células fagocíticas mononucleares (Wang *et al.*, 2007).

Esta molécula biológicamente se clasifica como una sustancia natural no antibiótica reactiva del oxígeno. Tovar y Mendoza en 2017, describieron este proceso como “estallido respiratorio” método por el cual las células del sistema inmune, a partir del oxígeno y su oxidación logran producir HOCL. En ensayos *in vitro* se ha observado resultados de neutralización de

patógenos, los cuales son resistentes a algunos antibióticos, y esta molécula ha demostrado su actividad bactericida, se ha comprobado su actividad en campo, empleándola en procesos de cicatrización y desinfección de heridas, patologías oculares en perros tal como la queratomalacia, infiltraciones intramamarias en procesos de mastitis, y comprobada su actividad en el proceso de regeneración de tejido en un tiempo más corto y obteniendo resultados realmente satisfactorios (Tovar y Mendoza, 2017). De igual manera Fuentes en el 2018 menciona el uso del ácido hipocloroso en el tratamiento de la endometritis en vacas posparto, obteniendo días más cortos en el puerperio de estos animales.

MATERIALES Y METODOS

1. Población y número de animales

En el presente estudio se tomaron un total de 29 yeguas en un rango de 3 a 10 años aptas reproductivamente originarias de la Sabana de Bogotá, de las cuales solo 14 cumplieron con los criterios de inclusión y fueron incluidas en el trabajo y se escogieron por la casuística presentada en los criaderos basándonos en su signología y anamnesis.

2. Manejo de la población a muestrear

Se tomaron 14 animales, de los cuales se formaron dos grupos, el grupo 1 que fue tratado con HOCL en infusión intrauterina, y el grupo 2 o grupo control al cual se le aplicó antiséptico o antibiótico, en infusión intrauterina.

Este estudio se realizó bajo el método "Doble Ciego" que es una herramienta la cual busca que los resultados de la investigación obtenida no puedan ser manipulados o sesgados por los individuos participantes en el estudio ni su investigador.

3. Diagnóstico de la endometritis

Para el diagnóstico de la endometritis se utilizó el siguiente protocolo: Inspección y palpación al examen clínico, vaginoscopia, ecografía, biopsias endometriales, cultivo bacteriológico, citología endometrial y la oportuna correlación clínica de los resultados.

❖ **Tratamiento grupo 1**

Ácido hipocloroso (HOCL): En el presente estudio se uso ácido hipocloroso en agua electrolizada a una concentración de 450 ppm, concentración suficiente para inactivar y destruir cualquier microorganismo según el siguiente protocolo: 50 ml por 2 o 3 días, dependiendo el caso; os lavados se realizaron con una sonda Foley o catéter de inseminación, teniendo en cuenta en la practica la implementación de materiales limpios y previa desinfección de la vulva con ácido hipocloroso (Lais y Rose, 2017).

❖ **Tratamiento grupo 2**

Se usaron antibióticos en infusión como Gentamicina, Ciprofloxacina, entre otros, mediante infusión, usando un catéter que pasa a través del cuello uterino.

- **Examen general**

Al examen clínico se tomo frecuencia cardiaca, respiratoria, temperatura rectal, evaluación de condición corporal, ánimo del animal. La palpación rectal se realizo con mangas de palpación y lubricante obstétrico "Lubrivot" para introducir con mayor facilidad la mano en el recto, se reconocieron estructuras como el cérvix, útero, cuernos uterinos, oviductos, ovarios. Y luego se realizo un lavado con solución salina para así expulsar el moco o fluido que pueda encontrarse en el útero.

- **Examen especifico**

- **Vaginoscopia**

Después de tomar todas las medidas de seguridad con el animal se procedió a utilizar un vaginoscopio especial para yeguas, el cual se lubrico previamente y se introdujo para observar el color de la mucosa, iniciando desde el vestíbulo vaginal hasta la porción inicial del cérvix clasificándola desde un rosa pálido hasta hiperémica.



Imagen 6: uso de espejulo vaginal en yegua

Palpación rectal

Utilizando guantes de palpación y gel lubricante se procedió al vaciamiento de la materia fecal del recto del animal, posterior a eso se identificaron estructuras del tracto reproductivo (útero, ovarios) determinando la presencia o ausencia de contenido uterino y/o etapa del ciclo estral.



Imagen 7: palpación rectal

4. Ecografía

Mediante esta ayuda diagnóstica se pudo observar la integridad de la pared uterina, cuernos, ovarios, cérvix, y la presencia de contenido, lo cual se contempló en una imagen anecoica en sus bordes, seguido de una inflamación de las paredes del útero o la flacidez de las mismas en procesos muy crónicos, y fueron medidos gracias al ecógrafo Mindray DP – 10 Vet. con multifrecuencia de 5 MHz hasta 12 MHz. La ultrasonografía se le realizó a todas las yeguas con la finalidad de determinar el estado ovárico y a su vez clasificar el estado uterino, estableciendo la presencia o ausencia de contenido, inflamación de la pared uterina y/o etapa del ciclo estral. La clasificación ecográfica según Samper y Pycock en el 2007 establece un rango de 0 a 5, en donde 0 hace referencia a la ausencia de edema y siguiendo la clasificación en orden ascendente postula el grado 5 como un edema patológico con presencia exacerbada de líquido uterino.

1. Recolección de muestras

Para la recolección de muestras en cada uno de los protocolos desarrollados en las yeguas, inicialmente se tuvo en cuenta las buenas prácticas de manejo, el bienestar animal y las normas de bioseguridad, con el fin de tener al animal correctamente inmovilizado, evitando que se moviera y pudiera lesionarse o lesionar al profesional a cargo, posteriormente se realizó el lavado en la región perineal y la vulva, usando agua y jabón neutro, frotando con un cepillo de cerdas suaves (para disminuir lesiones por fricción) asegurando una adecuada limpieza, después de esto se desinfectó el área con yodopovidona al 5% y alcohol para las yeguas grupo control pero las yeguas, las cuales se les instauró el tratamiento con HOCL también se desinfectó con HOCL, en sentido medial a lateral evitando contaminar la zona, este procedimiento se ejecutó al menos tres veces, finalmente se secó con una toalla de papel y se procedió a recolectar la muestra con el respectivo protocolo, ya sea citología o cultivo bacteriológico (Gallego et al., 2015).

Toma de muestra para cultivo

Con la cola vendada y previamente evacuada la materia fecal del recto del animal se procedió a la antisepsia de la zona utilizando un embrocado de tipo quirúrgico, con la diferencia al sustituir la solución yodada por ácido hipocloroso (HOCL). Limpieza la zona, con un hisopo estéril para yeguas con recubierta doble estéril, se introduce el hisopo pasando vestíbulo vaginal, vagina y cérvix, ya el hisopo dentro del útero se procede a liberarlo de su cubierta y en el cuerpo del útero se impregna de su contenido, posterior a esto se introduce nuevamente el hisopo en su cubierta estéril para retirarlo cuidadosamente de la yegua y depositarlo enseguida en un medio de transporte Stuart.

Imagen 1: Toma de muestra para cultivo bacteriológico



Cultivo bacteriológico y antibiograma

Luego de llevar a cabo el lavado y embrocado como se ha explicado anteriormente, el médico veterinario dispuso de guantes de palpación y guantes estériles dispuestos en mano y brazo de mayor destreza. El protocolo que se implementó para la toma de muestra para el cultivo bacteriológico, se realizó por medio de un hisopo estéril especial para yeguas, el cual estuvo protegido para evitar que se contamine en el recorrido de la vagina y el cérvix, debido a que esto puede generar falsos positivos o alterar el resultado; las muestras se tomaron de la porción dorsal de la pared en el cuerpo del útero, se procedió a retirar el hisopo evitando contaminación y la muestra se envió al laboratorio en un medio de transporte Stuart

En el laboratorio se utilizó agar agar sangre, agar MacConkey, Luego de finalizar la siembra se procedió a marcar las cajas con cinta y guardar en una estufa de incubación a una temperatura optima de crecimiento de 37°C, por un tiempo de 24 a 48 horas, pasado este tiempo se observarán los resultados del cultivo, optando por un rango máximo de 72 horas dando espacio al crecimiento lento bacteriano u hongos en su defecto (Gallego et al., 2015). posterior a ello se observan las colonias específicas, para ello, se tomó como pauta la guía *Equine Uterine Culture*, de *Colorado State University*, 2015, además del trabajo de investigación de ferris en el 2016 y el estudio de Gallego et al en el 2015. Posterior al cultivo y a la identificación de la bacteria (as) en un agar Muller Hilton se realizó un hisopado de las colonias obtenidas en el cultivo de una manera muy homogénea y posterior a ello se introdujeron los 4 diferentes sensidiscos de antibiótico (penicilina G sódica, Gentamicina, Cefalexina, trimetropim sulfa) se dejó en la incubadora durante 24 horas y luego se procedió a observar los resultados.



Imagen 2: Agares cultivados y etiquetados



Imagen 3: Agares distribuidos en incubadora

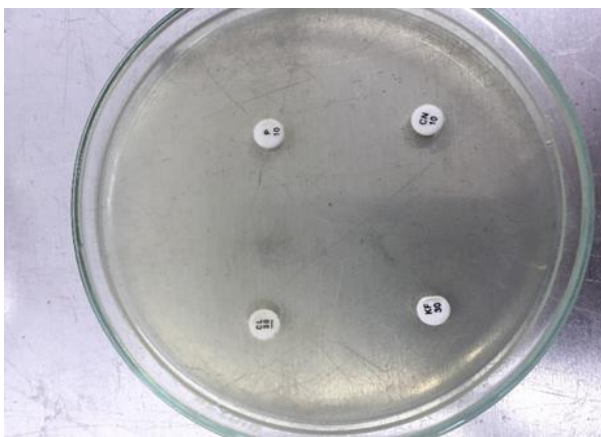


Imagen 4: Uso de sensidiscos



Imagen 5: Incubadora

Toma de Biopsia endometrial

La técnica para tomar la biopsia endometrial equina requirió de un animal completamente inmobilizado preferiblemente en un brete para evitar lesiones en el aparato reproductivo de la yegua, así mismo la cola fue envuelta en una venda elástica y ésta se desvió hacia un lado para evitar que interfiera al momento de sacar la biopsia.

Luego de esto se realizó un examen físico del aparato reproductivo externo y por medio de palpación transrectal se evaluó el tracto reproductivo interno, cabe destacar que esto debe ser realizado por un profesional competente en el área, ya que es un área muy sensible y una mala manipulación puede generar lesiones severas y graves consecuencias. Después se extrajo toda la materia fecal que fue posible para una mejor manipulación y luego se hizo una correcta asepsia de toda el área genital para que no tuviéramos una contaminación cruzada al momento de tomar la muestra y para esto se lavo con agua y jabón neutro tres veces inicialmente hasta que se genero espuma y luego se uso antiséptico simultáneamente con alcohol inhibiendo el crecimiento y la reproducción de bacterias y hongos.

Luego el Médico Veterinario usando un guante quirúrgico estéril sobre el brazo entro cuidadosamente al tracto reproductivo de la yegua conjuntamente con la pinza de biopsia especial para equinos que también estaba correctamente lavada y desinfectada, se dirigió hacia la parte exterior del cuello cervical y con la ayuda de sus dedos paso la pinza de biopsia por el cuello cervical hacia el interior, cabe resaltar que la otra mano del profesional Veterinario todo el tiempo iba acompañando este proceso por vía transrectal guiando la correcta introducción de la pinza y es en ese momento que por esta vía se oriento la pinza hacia el endometrio que es donde se tomo la biopsia (Mckinnon et al., 2011).

Al llegar al endometrio se tuvo en cuenta que la pinza tiene la capacidad de tomar una biopsia con un extenso espesor, pero está contraindicado razón por la cual lo que se hizo fue colocar la pinza paralela a un pliegue endometrial y tomar un fragmento del tejido.

Sitio de toma de muestra de biopsia

El sitio de biopsia fue la unión de un cuerno uterino al cuerpo, como lo describe Snideret al en el año 2010 usando una pinza especial para equinos Alligator.

Procedimiento de Histopatología

Para el procedimiento se utilizó la pinza Alligator y se tomó la muestra de 2 cm para asegurar un área de superficie evaluable criteriosamente, la cual se fijó en formalina boferada al 10%, posterior a esto se realizaron cortes macroscópicos mediante corte longitudinal sobre el eje mayor de la muestra, luego los tejidos fueron sometidos a proceso de deshidratación en alcoholes en concentraciones crecientes y se colocó la muestra en alcoholes de concentración creciente para eliminar el agua que tuviera ya que la parafina no es miscible con agua y se utilizaron etanol 70%, 80%, 96% y 100%. (Ávila, 2018)

Para la limpieza o aclaración se usó tolueno, acetona, xilol, benceno o equivalente, que son solventes los cuales produjeron transparencia en los tejidos, además de solubilizar la parafina y se hizo la inclusión en parafina caliente, que es una mezcla de hidrocarburos saturados que tienen diferentes puntos de fusión. La parafina blanda funde a 44 – 48°C y la parafina dura a 56 – 58°C. La parafina se puso en estufa de cultivo a unos grados por encima de su punto de fusión, luego se sumergió la muestra, posteriormente se llevó a estufa unos minutos para que la parafina penetre en los tejidos y luego se enfrió bruscamente colocando el recipiente en hielo. (Ávila, 2018).

En la preparación del bloque de parafina, se realizó proceso de moldeamiento en frío, luego el corte micrométrico mediante instalación del bloque de parafina en estado sólido en la plataforma de corte de un micrótopo, en donde realizaron múltiples cortes o repeticiones entre 2.5 um, seguido a la colocación portaobjetos. Efectuados los cortes se colocaron en agua tibia para que se extiendan y luego fueron recogidos con un pincel y extendidos en el portaobjetos y se dejaron secar para su posterior coloración. (Ávila, 2018).

En cuanto a la limpieza, se extrajo toda la parafina del tejido y se aclaró nuevamente usando Xilol, posteriormente se deshidrató el tejido ya que la mayoría de los colorantes son de base acuosa y para ello se colocó el portaobjeto en soluciones de etanol de concentraciones decrecientes como etanol 100%, 96%, 80%, 70% y agua destilada. (Ávila, 2018).

Es importante mencionar que la coloración es un completo complejo fisicoquímico que le confiere color a los tejidos durante tiempos prolongados y las moléculas de colorantes tienen un grupo que es el que le confiere el color: cromóforo y otro que lo fija auxocromo. Los colorantes son sales, pero se los clasifica en básicos que es donde la molécula de sal que colorea es la base como por ejemplo la hematoxilina y ácidos donde la molécula de sal que colorea es el ácido como por ejemplo la eosina. (Ávila, 2018).

Para los resultados se tuvo en cuenta la clasificación histopatológica de Kenney en 1986 (Tabla 1).

Tabla 1.1 Clasificación histopatológica de Kenney

Categoría	Fibrosis periglandular	Degeneración glandular (%)	Expectativas de fertilidad (%)
I	ausente	< 10	80- 90
II alta	ligera	10- 35	50- 80
II baja	moderada	35- 60	10- 50
III	severa	> 60	10

CITOLOGIA

Para la citología se utilizó un cepillo citológico, el cual contó con una funda estéril protectora para evitar que se contamine al pasar por vagina y cérvix, al llegar al útero se realizó un barrido con el fin de coleccionar el material celular de la superficie del endometrio, posteriormente se recubrió con la funda estéril y se retiró cuidadosamente evitando lesionar a la yegua (Gallego et al., 2015), para finalizar se realizó el extendido en una lámina porta - objetos la cual debió secarse por 15 minutos y en el laboratorio se usó la tinción de Wright que es un colorante que está compuesto de azul de metileno (que tiñe de color azul las partes ácidas de las células) y eosina (que tiñe las partes alcalinas), disueltos en metanol (que permite la fijación de las células) (Lais y Rose, 2017).

Después de realizar todo el proceso de antisepsia como antes ya se ha mencionado para esta prueba se utilizó un cepillo Minutube especial para la toma de citologías en yeguas, el cual se acoplo a un vástago y utilizando guantes estériles, gel estéril (Gel priority Care steryl) y

protegiendo el vástago con fundas estériles se procedió a tomar la muestra de células de la porción media baja del útero, tomada la muestra el contenido obtenido en las cerdas del cepillo se impregnan en dos laminas porta objetos. Una vez en el laboratorio se fijó la muestra con Alcohol cetona durante 10 minutos, transcurrido este tiempo se les aplica a las láminas la coloración de Wright la cual se deja actuar 10 minutos más para posteriormente lavar las láminas con agua estéril o solución salina para finalizar el proceso. El conteo de células se realizó con un aumento de 1000X con aceite de inmersión y se contaban un total de 100 células por campo, el cual dicho resultado es expresado en porcentaje de células polimorfonucleares (%PMN).

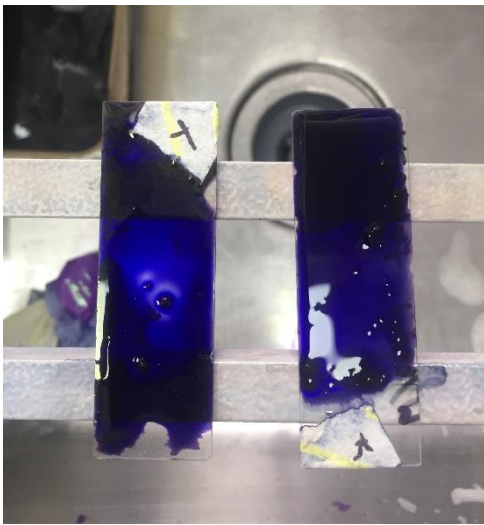


Imagen 8: Tinción de Wright



Imagen 9: almacenamiento de láminas



Imagen 10: Lectura de láminas

Tratamiento ácido hipocloroso

Después de diagnosticar el primer grupo de yeguas con endometritis se procedió a realizar el tratamiento con ácido hipocloroso (Vetisure®) en un volumen de 50 ml en infusión uterina por dos aplicaciones continuas, posterior a esto se procedió a los 21 días siguientes postratamiento la toma nuevamente de las muestras para establecer si este tratamiento si fue eficaz o no frente a la patología.

Tratamiento antibiótico

El segundo grupo de yeguas se trato con antibiótico por infusión uterina, para estas yeguas se tomó en cuenta el cultivo bacteriológico y la sensibilidad de estas ante el antibiograma donde se utilizó Penicilina G sódica, Gentamicina, Cefalosporinas de tercera generación, Enrofloxacina) de las cuales dependiendo la sensibilidad se eligió el antibiótico, cuya aplicación se formuló a una concentración de 1-2 gramos de antibiótico disueltos en 50 ml de lactato de Ringer o agua destilada, a excepción de la penicilina G sódica la cual no se utilizó por su alta resistencia bacteriana. Cada uno de los tratamientos se realizó bajo todo el protocolo habitual de antisepsia y con los implementos necesario para el tratamiento.

Recolección de muestras post tratamiento

Después de realizados los tratamientos en los dos grupos de yeguas se tomaron las muestras nuevamente, así como lo describe Mckinnon *et al.*, en el 2011, donde desde el primer tratamiento se dio un tiempo de reestructuración epitelial uterino de 18 a 21 días, lo que equivale a un celo normal en el animal, tiempo en el cual el útero se recupera de la manipulación por la biopsia, citología y aplicación de medicamento anteriormente implementado. Para ello, se realizaron nuevamente todas las técnicas utilizadas anteriormente (palpación rectal, ecografía, cultivo bacteriológico- antibiograma, citología y biopsia endometrial), para estos resultados se evaluó el crecimiento bacteriano, el número de células polimorfonucleares por campo observado y la clasificación celular en los resultados de la biopsia, esto nos determinó si la endometritis fue tratada con éxito y si realmente el ácido hipocloroso funciono mejor que el tratamiento antibiótico o por el contrario no resolvió la patología.

Método estadístico

Para la estadística se utilizó el programa "STATISTIX 8.0" con procedimientos descriptivos como lo son "X²" y "Doble prueba T".

Prueba X²

Chi-cuadrado (χ^2) o Ji-cuadrado es una herramienta de la estadística descriptiva y fue sugerida por Carl Pearson como una forma de valorar la bondad del ajuste de unos datos a una distribución de probabilidad conocida, y se ha establecido como el procedimiento de elección para el contraste de hipótesis. Esta prueba estadística se emplea en el análisis de dos o más grupos, y de dos o más variables. Desde entonces, se ha convertido en una prueba muy aceptada y aplicable a múltiples usos, cuando se dispone de datos independientes de tipo nominal. En términos generales, esta prueba contrasta frecuencias observadas con las frecuencias esperadas de acuerdo con la hipótesis nula (Hernandez et al., 2017).

Proporción T semicuantitativa

La prueba "t" de Student es un tipo de estadística deductiva. Se utiliza para determinar si hay una diferencia significativa entre las medias de dos grupos. Con toda la estadística deductiva, asumimos que las variables dependientes tienen una distribución normal. Especificamos el nivel de la probabilidad (nivel de la alfa, nivel de la significación, p) que estamos dispuestos a aceptar antes de que cerco datos ($p < .05$ es un valor común se utiliza que). Con una t-prueba, el investigador desea indicar con un cierto grado de confianza que la diferencia obtenida entre los medios de los grupos de la muestra sea demasiado grande ser un acontecimiento chance (Hernandez et al., 2017).

RESULTADOS

De los 14 animales 13 presentaron endometritis clínica (92,8%) y solo 1 (7,2%) endometritis subclínica, en todos los casos fueron aisladas bacterias, donde el 21, 4% presentó un crecimiento de colonias mixta y el 78,5 % crecimiento bacteriano de un solo agente. Durante la inspección visual solo se observó 1 animal (7,1%) que presentaba una conformación perianal y bulbar patológica

Palpación rectal

Durante la exploración rectal se pudo determinar que en el 78,5 % de los animales presentaron a la palpación un útero con presencia de líquidos y un 14,2 % presentaban adherencias en el útero e inflamación de este.

Ecografía

En la ecografía se observaron zonas ecogénicas, lo que indicaba la presencia de líquido dentro del útero, dentro de las cuales los 7 animales presentaron un edema grado 1 según lo descrito por Samper y Pycock en el 2007 y las demás yeguas presentaron edema grado 2 (6) y edema grado 4 (1) (Tabla 2).



Imagen 11: Ecografía de útero con edema grado 4

Tabla 2: Grados de edema en yeguas muestreadas

Grado de Edema	Numero de yeguas
Edema grado 1	7
Edema grado 2	6
Edema grado 3	0
Edema grado 4	1

$H_0: F_i = F_{ii}$

$H_1: F_i \neq F_{ii}$

$\alpha = 0.05$

P. Valve=0.5148 > 0.0500 ΔH_0

CITOLOGIA

La citología fue interpretada por un experto en el área de reproducción equina con más de 30 años de experiencia en campo y laboratorio desarrollando e interpretando este tipo de muestras. En el análisis citológico se tuvo énfasis en el conteo de PMN.

Tabla 3. Resultado pre y post tratamiento en estudio de muestra de citología

YEGUA #	PRE - TRATAMIENTO %PMN	POST- TRATAMIENTO %PMN	DIAGNOSTICO DE GESTACION +
1	0 %	0 %	+
2	38 %	30 %	
3	27 %	5 %	+
4	2 %	0 %	+

5	29 %	28%	
6	38%	3%	
7	10%	3%	
8	15%	3%	+
9	28%	5%	
10	12%	7%	
11	10%	2%	+
12	1%	0%	
13	0%	0%	
14	15%	5%	

% Polimorfonucleares

Pretratamiento 16

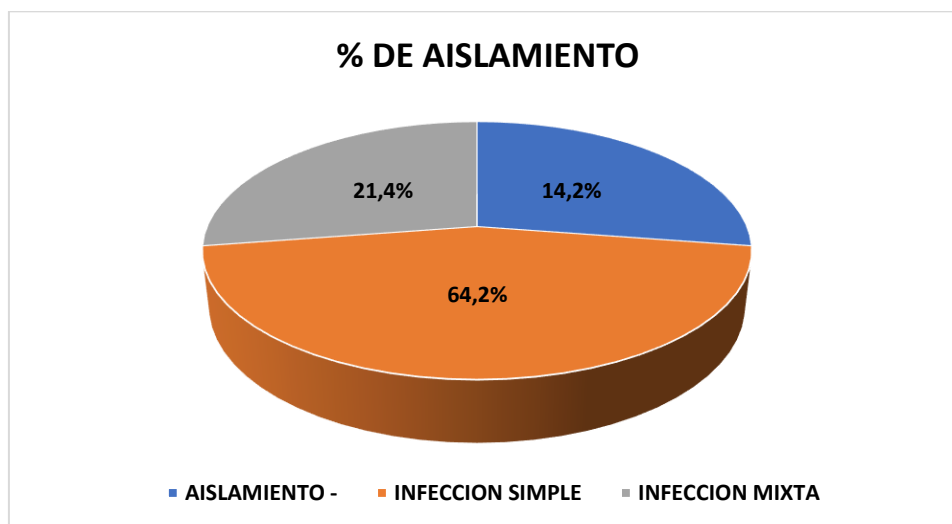
Postratamiento 6

P= 0.0427 < 0.05

Cultivo bacteriológico y antibiograma

En las 14 yeguas muestreadas, de ellas (14,2%) no hubo crecimiento bacteriano o fúngico, en 3 (21,4%) muestras se evidencio crecimiento mixto bacteriano, el 64,2% restante se observó el crecimiento de un solo género bacteriano (*E. Coli* y *Streptococcus*).

Figura 1: Esquema de porcentaje de microorganismos aislados



Entre los microorganismos aislados se obtuvo crecimiento de *E. coli*, *streptococcus Alfa haemolitico*, *Streptococcus Beta haemolitico*, *Staphylococcus Aureus sup beta haemolitico*

Tabla 4: Porcentaje de agentes aislados

Agente microbiológico	Numero de yeguas (n-%) pretratamiento	Numero de yeguas (n-%) post tratamiento
<i>E.coli</i>	4 (28,5%)	3
<i>Streptococcus Beta haemolitico</i>	1 (7,1%)	1
<i>Streptococcus equi subs zooepidemicus</i>	1 (7,1%)	1
<i>Staphylococcus Aureus</i>	1 (7,1%)	1
<i>Staphylococcus Aureus sup beta haemolitico</i>	2 (14,2%)	1
Aislamiento negativo	2 (14,2%)	2
Infección mixta	3 (21,4%)	5
Total	14 (99,6%)	14(99,6)



Imagen 12: Agar sangre positivo a *E.coli* Imagen 13: Agar Macconkey positivo *E,coli*

Antibiograma

De las 12 yeguas que obtuvieron un crecimiento microbiológico positivo y se les realizo la prueba de sensibilidad de antibióticos, se obtuvo que en la Gentamicina tuvo una sensibilidad de 35,7%, Penicilina 7,1%, Ceftiofur 42,8%, Enrofloxacin 14,2%.

Nivel de sensibilidad	Penicilina	Gentamicina	Ceftiofur	Enrofloxacin
Alta		14,2%	42,8%	14,2%
Intermedia		7,1%		
Baja	7,1%	14,2%		

Tabla 5: Porcentaje de sensibilidad de antibióticos

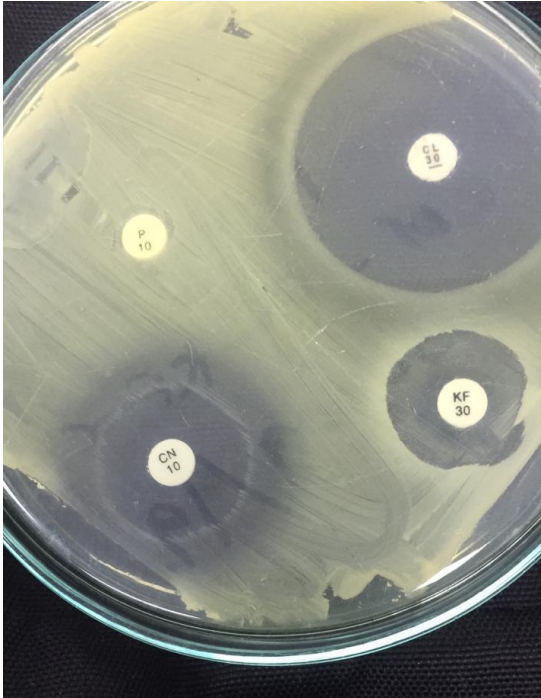


Imagen 14: Resultado de sensibilidad



Imagen 15: Resistencia antibiótica

Resultado Acido hipocloroso

De las 7 (**100%**) yeguas tratadas con ácido hipocloroso se realizó nuevamente post - tratamiento el cultivo bacteriológico, dando como resultado un crecimiento negativo en 3 (**42,8%**) animales, reducción del número de colonias en 2 (**28,5%**) y un crecimiento normal bacteriano en 2 (**28,5%**) animales.

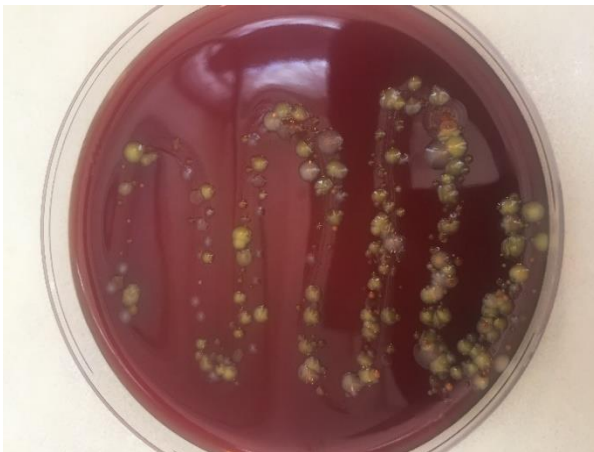


Imagen 16: crecimiento de colonias bacterianas

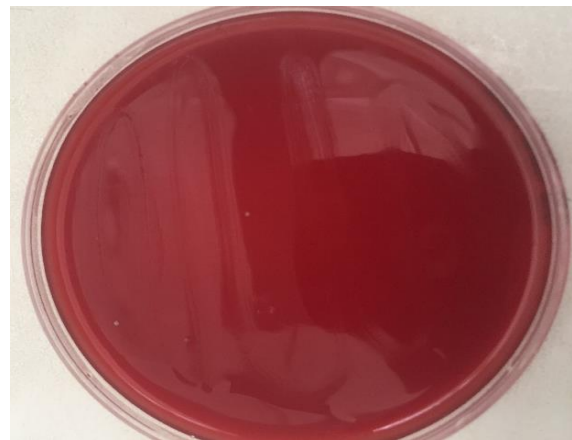


Imagen 17: crecimiento negativo postratamiento

➤ **Crecimiento de MO**

P= 0.1266

5	7
1	2

Histopatología.

Para el procedimiento de la Histopatología con las biopsias endometriales se escogieron 8 yeguas con casos más avanzados de historial reproductivo negativo. las cuales se les tomo la biopsia de acuerdo a criterio clínico y posteriormente a 4 yeguas se les aplicó Acido Hipocloroso (HOCL) mediante infusión intrauterina y las otras 4 yeguas fueron el grupo control las cuales se les suministro antibiótico para un total de 8 yeguas.

Yeguas tratadas con Acido Hipocloroso	Yeguas tratadas con antibiótico
3, 9, 2, 7	5, 10, 6, 12

Tabla 6: Grupos de yeguas con biopsia

RESULTADOS PRE TRATAMIENTO:

De las 8 yeguas (100%) a tratar, 4 (50%) de ellas obtuvieron endometritis grado **IIA** en la clasificación histopatológica de Kenney en 1986. Así mismo 2 yeguas (25%) se les diagnosticó endometritis grado **IIB** y finalmente 2 de ellas (25%) más tuvieron endometritis grado **I**.

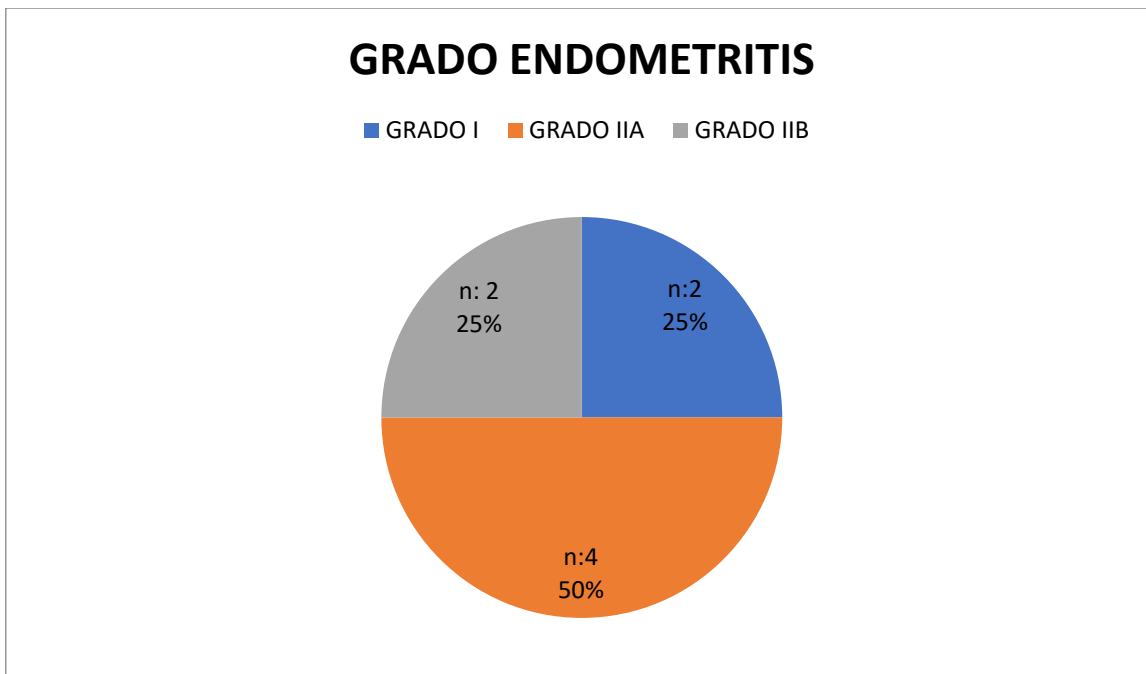


Figura 2: Esquema representativo de grados de endometritis en yeguas

YEGUA	GRADO ENDOMETRITIS PRE-TTO
3	IIA
9	IIB
5	IIA
10	I
6	IIA
2	IIB
7	IIA
12	I

Tabla 7: Clasificación de los grados de endometritis antes del tratamiento

RESULTADOS POST TRATAMIENTO

GRUPO DE YEGUAS CON ACIDO HIPOCLOROSO

Posterior al tratamiento con Acido hipocloroso se tomó biopsia control a las yeguas (3,9,2,7) las cuales presentaron los hallazgos consignados en la tabla 8

YEGUA	GRADO ENDOMETRITIS POST-TTO
3	I
9	IIB
2	IIA
7	I

Tabla 8: Clasificación de los grados de endometritis después del tratamiento con Acido Hipocloroso

Es importante destacar que la yegua #3 ya tiene una gestación confirmada

GRUPO DE YEGUAS CON ANTIBIOTICO

Posterior al tratamiento con antibiótico se tomó biopsia control a las yeguas (5,10,6,12) las cuales presentaron los hallazgos consignados en la tabla 9

YEGUA	GRADO ENDOMETRITIS POST-TTO
5	IIA
10	I
6	I
12	I

Tabla 9: Clasificación de los grados de endometritis después del tratamiento con antibiótico.

1 normal

2 patológico

P= 0.4652

	NORMAL	PATOLOGICO
1	2	2
2	3	1

DISCUSION

En el presente estudio se pudo comprobar que el agente causal más aislado en los casos de endometritis fue la bacteria del género *E. coli*, contrario a lo que estipula Smith en 2010 donde menciona al *Streptococcus equi zooepidemicus*, como agente principal, a si tal cual como se observó en los cultivos con esta bacteria se comprobó que el ácido hipocloroso actúa en gran diversidad de microorganismos, haciendo énfasis en *E.coli*, la cual en algunos cultivos post tratamiento realizados se pudo observar que la molécula elimino satisfactoriamente esta bacteria y en casos muy graves redujo significativamente el número de colonias, corroborando así la afirmación de linden en el 2013.

Así mismo el ácido hipocloroso solo se ha reportado en procesos de limpieza de heridas y preparación de instrumental quirúrgico tal y cual lo menciona Acero et al en el 2015 haciendo énfasis en su alta eficacia antimicrobiana, lo cual se confirmó al obtener los resultados postratamiento, lo que nos indica y reafirma su alto potencial bactericida y su bajo nivel de toxicidad al utilizar en infusión para esta patología y por qué no en muchas otras donde sería interesante comprobar su efectividad.

En la citología endometrial se encontró en más del 50 % de las muestras células proinflamatorias (P= 0.0427) tanto en procesos agudos como en las endometritis crónicas, las cuales estaban acompañadas de células epiteliales y moco, lo que no concuerda en su totalidad con lo mencionado por Ortiz et al en el 2011 donde menciona la cariólisis de las células y un cambio de coloración del núcleo en procesos patológicos. Lo que si se confirma es el tamaño de las células donde en procesos agudos y crónicos variaba su tamaño en lo que hacía referencia a la tasa de producción, mencionando en procesos crónicos, celularidad

intermedia, pero con disminución en su tamaño y en procesos agudos alta celularidad y de tamaño normal.

Dentro de los factores que predisponen a la hembra equina a desarrollar endometritis encontramos la edad avanzada del animal, lo cual se pudo observar en este estudio, que hembras de edades avanzadas son las más susceptibles a esta patología, concordando con lo mencionado por Acero en el 2014 donde corrobora lo previsto en este estudio.

Por otro lado es importante resaltar que el apareamiento o coito continuo, es el responsable de desencadenar una degeneración uterina, ya sea por el número de partos, la manipulación por parte del hombre en procesos reproductivos como recolecta de embriones, número elevado de montas o inseminaciones, esto genera de una manera fisiológica normal, la respuesta por parte del sistema inmunológico dando inicio a una inflamación transitoria normal, pero en casos donde esto se vuelve repetitivo se generan respuestas secundaria inflamatoria crónica, esto se pudo comprobar con algunos animales los cuales son bancos reproductivos y de los cuales obtuvimos resultados compatibles con endometritis crónica, mencionado esto pudimos confirmar lo postulado por Le Blanc en el 2014 donde mencionaba el continuo apareamiento y manipulación uterina como causa esencial y principal de la endometritis.

En la mayoría de los casos la endometritis es sobre valorada por muchas personas, solo por el hecho de no observar signos claros tales como la presencia de moco turbio en la zona perianal del animal, por lo cual es necesario un examen clínico y paraclínico completo lo cual sugiere Acosta y Alvarez en el 2010 de lo cual en el presente estudio se corrobora que el implementar técnicas diagnósticas (vaginoscopia, ecografía, citología, cultivo bacteriológico, antibiograma, biopsia endometrial) nos ayuda a tener resultados diagnósticos claros y así poder instaurar un tratamiento adecuado.

La biopsia endometrial a pesar de ser una técnica invasiva se pudo comprobar que el personal que desarrolla esta técnica debe tener la experiencia suficiente para no generar daños irreparables en el útero del animal, tal cual lo menciono Kenny en 1986 donde en la actualidad esta técnica sigue siendo representativa en el diagnóstico definitivo de la integración uterina y de la cual se puede obtener un estimado de la cronicidad de la patología.

CONCLUSIONES

- Se llegó a la conclusión que ambos tratamientos son eficientes ya que hubo diferencia estadísticamente entre las variables "pretratamiento" y "post tratamiento" (pero no hubo diferencia significativa entre las variables "grupo con Acido hipocloroso" y "grupo con Antibiótico").

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio se concluye que el Acido Hipocloroso (HOCL) ha demostrado tener efectividad en la respuesta contra los diferentes microorganismos ($P= 0.1266$), logrando así un aumento en la concepción de las yeguas, evitando así pérdidas económicas para el propietario.

- Se pudo comprobar que el uso indiscriminado de antibióticos sin tener como base estudios previos de laboratorio ha demostrado la gran resistencia de los microorganismos ante estas moléculas reduciendo así el éxito del tratamiento
- Se comprobó que el microorganismo más aislado en casos de endometritis crónica es *E. Coli* el cual presenta una susceptibilidad alta a las cefalosporinas de cuarta generación y una resistencia alta a los demás antibióticos.
- La citología endometrial es una técnica no invasiva y fácil de realizar, por la cual se puede determinar según la celularidad encontrada si el animal presenta o no la patóloga (endometritis) y su cronicidad, además de determinar el estado en el ciclo estral en el que se encuentra.
- También se concluye que es de suma importancia hacer un examen reproductivo completo a las yeguas para garantizar la efectividad del tratamiento que instauraremos.
- Se concluye que la biopsia endometrial se considera la prueba diagnóstica más importante en el diagnóstico de patologías uterinas ya que constituye una efectiva técnica para la evaluación del estado del útero en función de las expectativas de fertilidad en la yegua

RECOMENDACIONES

- o El profesional médico veterinario que se desempeña en el área reproductiva en la hembra equina debe tener presente que si el animal sobrepasa los dos servicios es de suma importancia comenzar a desarrollar un estudio clínico, el cual abarque todas las posibles patologías que afecten el tracto reproductivo, no sin antes mencionar que la endometritis solo es una posible causa de infertilidad, por lo cual no se debe disociar las otras patologías.
- o El tratamiento antibiótico como herramienta curativa y preventiva debe ser prescrita no sin antes haber realizado un cultivo bacteriológico y antibiograma como medida de seguridad la cual va a garantizar el éxito del tratamiento y aumentara los índices de concepción para ese animal.
- o Los tratamientos antibióticos instaurados deben comenzar con los antimicrobianos más antiguos y comunes, basándonos en un cuadro de antibiograma y posterior a eso al observar la resistencia a estas primeras moléculas ir aumentando la clasificación antibiótica hasta llegar a las moléculas de última generación, todo esto con la finalidad de reducir la resistencia de los microorganismos a los antibióticos de última generación.
- o Es recomendable hacer un examen reproductivo completo de las yeguas con historial reproductivo negativo, ya que cada examen nos sirve como guía para tener un diagnóstico más claro poder conocer el estado real del útero.
- o Es importante mencionar que, aunque la endometritis sea un proceso fisiológico normal del animal para eliminar todas aquellas sustancias extrañas que pueden identificar negativamente cuando el embrión sea transportado al útero, debemos contar con todas las medidas necesarias para evitar la entrada de microorganismos patógenos al útero, ya que nos podrían afectar negativamente más adelante en la fertilidad de la yegua.
- o También es recomendable usar productos como el Acido Hipocloroso en casos de endometritis, dado que con frecuencia son usados muchos antibióticos indiscriminadamente dejando así resistencia bacteriana contra los mismos, y más adelante no serán eficaces .

LISTA DE REFERENCIAS

Acero, H. (2014). Endometritis crónica en yegua de raza criollo colombiano. Universidad de la Salle. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Programa de medicina veterinaria. Informe de practica rotatoria. Bogotá, Colombia.

Acero, V., Calderón, J., Robles, J. (2015). El Ácido Hipocloroso y sus aplicaciones en medicina veterinaria y la industria pecuaria. *Revista Acovez*, 44(2):27-29.

Acosta, A. Álvarez, E, (2010). Estudio retrospectivo de cultivos endometriales determinando los agentes bacterianos y su resistencia o sensibilidad a un grupo de antimicrobianos en yeguas. Universidad de la Salle, Bogotá, Colombia.

Annandale, C., Schulman, M., Kirkpatrick, R. (2008). The use of electrochemically activated saline as a uterine instillation in pony mares. *Journal of the south african veterinary association*, 79(1):36-38.

Ávila Jerson. (2018). *Procedimiento de Histotecnica con las biopsias endometriales*. Bogotá.

Ferris, R. (2016). Endometritis diagnostic tools for infectious endometritis. Colorado state university. Department of clinical sciences. Equine production laboratory. Colorado, Estados Unidos.

Fuentes, A. (2018). Efecto del ácido hipocloroso como alternativa terapéutica sobre la endometritis bovina posparto. Universidad técnica de Ambato, Ambato, Ecuador.

Gallego, R., Ruiz, A., Ruiz, B. (2015). Evaluación de la eficacia clínica de tres protocolos antibióticos en yeguas diagnosticadas con endometritis bacteriana en el valle de aburra. Programa de medicina veterinaria y zootecnia, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

Hernández, Y., Moreno, V., Hernández, N., Castañeda, E. (2017). Which of these two alternatives is the correct way to say Chi-square in Spanish? Chi cuadrado o Ji cuadrado? *Revista científica villa clara*, 21(4):294-295.

Hughes, J., Loy, R. Investigations on the effect of intrauterine inoculations of *Streptococcus zooepidemicus* in the mare. In: *Proceedings of the Am Assoc Equine Pract* 1969; 15:289-292.

Kenney, R., Doig, P. (1986). Equine Endometrial Biopsy, in Morrow, D.A.(ed): *Current Therapy in Theriogenology*, ed 2. Philadelphia, WB Saunders Co, p. 723 –729.

- Lais, R., Rose, M. (2017). *Manual of clinical procedures in the horse*. USA. Wiley Blackwell.
- LeBlanc, M. (2004). Endometritis inducida por el apareamiento continuo en la yegua: patogénesis, diagnóstico y tratamiento. Recuperado de http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_equinos/curso_equinos/1/52-endometritis.pdf
- Liden, B. (2013). Hypochlorous acid: Its multiple uses in wound care. *Ostomy Wound Management*, 59(9):8-10.
- Liu, I., Troedsson, M. (2008). The diagnosis and treatment of endometritis in the mare: yesterday and today. *Theriogenology*. 70(3):415-420
- Martínez, C. (2012). El muestreo en investigación cualitativa. Principios básicos y algunas controversias. *Ciência&SaúdeColetiva*, 17(3):613-619
- Mckinnon, A., Squires, E., Vaala, W., Varner, D. (2011). *Equine reproduction*. New Delhi, India: Wiley-Blackwell.
- Nielsen, J. (2005). Endometritis in the Mare A diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology*, 64(3):510 -518.
- Nocera, F., papulino, C., Del prete, C., palumbo, V., Pasolini, M., De Martino, L. (2017). Endometritis associated with *Enterococcus casseli flavus* in a mare: A case report. *Asianpacificjournalof tropical biomedicine*. 7(8):760-762
- Otzen, T.,Materola C. (2017). Técnicas de muestreo sobre una población a estudio. *Int. J. Morphol*, 35(1):227-232.
- Ortiz, L., Garzón, A., Rodríguez, B. (2011). Cytodiagnosis trends at the animal pathology laboratory of the University of Antioquia (Colombia). *Revista Colombiana de ciencias pecuarias*, 24(2): 157-169.
- Pino, G., Francisco, J. (2009). Piómetra en una yegua: reporte de un caso. Universidad autónoma del estado de México. *Redvet-Revista electrónica de veterinaria*,10(11):1-9
- Samper, J. (2009). *Equine Breeding Management and Artificial Insemination*. Canadá: Saunders.

Schnobrich, M., Pearson, L., Barber, B., Bradecamp, E., Tibary, A. (2015). Effects of Intrauterine Infusion of a Water-Based Suspension of Enrofloxacin on Mare Endometrium. *Journal of Equine Veterinary Science*, 35(8):662-667

Smith, Bradford. (2010). *Medicina Interna de Grandes Animales*. Barcelona, España: Elsevier.

Snider, T., Sepoy, C., Holyak, G. (2010). Equine endometrial biopsy reviewed: Observation, interpretation, and application of histopathological data. Elsevier, 75: 1567- 1581.

Tovar, C., Mendoza, S. (2017). Empleo del ácido hipocloroso en patologías de la superficie ocular del perro. Disponible en: <http://argos.portalveterinaria.com/noticia/12461/articulos-archivo/empleo-del-acido-hipocloroso-en-patologias-de-la-superficie-ocular-del-perro.html>

Vicéns, J., Herrarte, A., Medina, E. (2005). Análisis de la varianza (ANOVA). Recuperado de: https://www.uam.es/personal_pdi/economicas/eva/pdf/anova.pdf

Wang, L., Bassiri, M., Naja fi, R., Naja fi, K., Jang, J., Khosrovi, B., Hwong, W., Barati, E., Belisle, B., Celeri, C., Robson, M. (2007). Hypochlorous Acid as a Possible Wound Care Agent. *Journal of Burns and Wounds*, 6(e5):65-79