



1859



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Medicina Veterinaria

“Influencia del plasma rico en plaquetas sobre la flora bacteriana del tracto reproductivo de yeguas”

Trabajo de Titulación previo a la obtención del título de Médica Veterinaria

AUTORA:

Andrea Marisol Cumbicus Alba

DIRECTORA:

MV. Elena Carolina Serrano Recalde PhD.

Loja – Ecuador

2023

Certificación

Loja, 16 de febrero de 2023

Dra. Elena Carolina Serrano Recalde, PhD

DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

C E R T I F I C O:

Que he revisado y orientado todo el proceso de elaboración del Trabajo de Titulación titulado: **“Influencia del plasma rico en plaquetas sobre la flora bacteriana del tracto reproductivo de yeguas”**, previo a la obtención del título de Médica Veterinaria, de la autoría de la Srta. **Andrea Marisol Cumbicus Alba**, con cédula de identidad Nro.1900470103, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, para el efecto, autorizo la presentación del mismo para su respectiva sustentación y defensa.

Dra. Elena Carolina Serrano Recalde, PhD

DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Autoría

Yo, **Andrea Marisol Cumbicus Alba**, declaro ser autora del presente Trabajo de Titulación y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido de la misma. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Titulación, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.



Firma:

Cédula de Identidad: 1900470103

Fecha: 1 de junio de 2022

Correo electrónico: andrea.m.cumbicus@unl.edu.ec

Teléfono o Celular: 0967387269

Carta de autorización por parte de la autora, para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo del Trabajo de Titulación

Yo, **Andrea Marisol Cumbicus Alba**, declaro ser autora del Trabajo de Titulación denominado: **“Influencia del plasma rico en plaquetas sobre la flora bacteriana del tracto reproductivo de yeguas”**, como requisito para optar el título de **Médica Veterinaria** autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Titulación que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, al primer día del mes de junio del dos mil veintitrés.



Firma:

Autor: Andrea Marisol Cumbicus Alba

Cédula: 1900470103

Dirección: Urbanización Las Ramblas, Loja.

Correo electrónico: andrea.m.cumbicus@unl.edu.ec

Teléfono: 0967387269

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Directora del Trabajo de Titulación: Dra. Elena Carolina Serrano Recalde, PhD

Dedicatoria

Quiero dedicar este trabajo primeramente a *Dios*, por haberme bendecido en cada paso y darme la fuerza para seguir adelante pese a los tropiezos.

A mi hermosa madre, *Jenny Consuelo Alba*, por haberme inculcado valores, la perseverancia, la humildad, por haberme brindado su apoyo incondicional durante toda esta etapa, creyendo siempre en mí con mucho amor. Sin ti no habría podido llegar a donde estoy, eres mi pilar, mi orgullo. Eres mi razón para seguir adelante.

GRACIAS POR TANTO MAMÁ.

A mi padre, *José Ángel Cumbicus*, un hombre ejemplar que pese a la distancia nunca dejó de confiar en mí, de apoyarme y darme todo su cariño, todo esto es gracias a ti.

A mi hermano *Mattias Vides* por ser mi motor y motivo de superación y no rendirme.

A mis ángeles de la guarda, *José Lucas Alba* mi abuelo quien siempre estuvo ahí brindándome su apoyo incondicional, a Horacio Sarango mi bisabuelo quien me enseñó amar la vida en cada momento.

A mis fieles compañeros de cuatro patas, *Chiripa* y *Lucas* quienes me brindaron su compañía, su amor incondicional durante 25 años, y que nunca me abandonaron en mis noches de desvelo, gracias a ti por darme tu cariño. Los amo con todo mi corazón.

Además, quiero dedicar a mi abuela *Macrina Sarango* que ha estado apoyándome siempre, con sus palabras de aliento.

A toda mi familia, gracias por confiar en mí.

Con mucho cariño y amor.

Andrea Marisol Cumbicus Alba

Agradecimiento

Quiero agradecer, primeramente, a Dios por estar conmigo en cada paso que he dado, por haberme bendecido a lo largo de esta etapa y darme la fuerza y seguir adelante en momentos de tropiezo.

A todos aquellos que conforman la Universidad Nacional de Loja, a la Facultad Agropecuaria y Recursos Naturales Renovables, igualmente a la Carrera de Medicina Veterinaria por abrirme sus puertas y brindarme sus conocimientos durante mi etapa de formación como profesional

Un especial agradecimiento a mi tutora, *Dra. Elena Carolina Serrano Recalde*, por brindarme todo su apoyo, conocimientos, virtudes y constancia. Pero sobre todo gracias por la confianza, cariño y paciencia. Por sus enseñanzas que sin ellas no lo hubiese conseguido.

A la *Dra. Jessica Valdivieso*, por sus conocimientos, valores y ética profesional. Por darme la oportunidad de realizar mi trabajo de investigación, así mismo agradecer por facilitarme la información y brindarme su ayuda incondicional.

A todo el Grupo de Caballería Mecanizada N°18 “Cazadores de los Ríos”, por permitirme realizar mi trabajo de investigación en las instalaciones que me ha llevado a culminar una nueva etapa de mi vida.

A mi hermana, amiga y compañera, *Ana Andino* quien a pesar de todas las dificultades ha estado ahí dándome su cariño y apoyo incondicional.

Andrea Marisol Cumbicus Alba

Índice de contenidos

Portada.....	i
Certificación.....	ii
Autoría	iii
Carta de autorización.....	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento.....	vi
Índice de contenidos	vii
Índice de tablas.....	ix
Índice de figuras	ix
Índice de anexos	x
1. Título.....	1
2. Resumen	2
2.1. Abstract.....	3
3. Introducción.....	4
4. Marco teórico	6
4.1. Anatomía y Fisiología del Aparato Reproductor	6
4.1.1. Vulva	6
4.1.2. Vagina	6
4.1.3. Cérvix	6
4.1.4. Útero	7
4.1.5. Ovarios	7
4.2. Fisiología de la Reproducción	8
4.2.1. Ciclo estral	8
4.2.1.1. Estro	9
4.2.1.2. Diestro.....	10
4.2.2. Fisiología del Edema Uterino	10
4.3. Inmunidad Uterina.....	11
4.4. Barreras Físicas y Conformación Vulvar.....	11
4.4.1. Inmunoglobulinas	13
4.4.2. Polimorfonucleares	13
4.5. Bacterias del tracto reproductivo	14
4.5.1. Bacterias causadoras de vaginitis	14
4.5.2. Bacterias causadoras de endometritis.....	14
4.5.3. Bacterias formadoras de Biofilm.....	15
4.6. Cultivo	16
4.6.1. Antibiograma	16
4.6.2. Concentración inhibitoria mínima	17
4.6.3. Antibióticos.....	17

4.6.3.1. Betalactámicos	18
4.6.3.2. Fluoroquinolonas	18
4.6.3.3. Sulfonamidas y Trimetoprima	19
4.6.3.4. Aminoglucósidos	19
4.7. Tratamiento de endometritis	19
4.7.1. Lavado uterino.....	20
4.7.2. Ecbólicos	20
4.7.3. Antibióticos.....	20
4.7.4. Corrección Quirúrgica	22
4.7.5. Tratamientos alternativos.....	22
4.7.5.1. Plasma rico en plaquetas.....	23
5. Materiales y métodos.....	25
5.1. Área de estudio	25
5.2. Procedimiento.....	25
5.2.1. Enfoque metodológico	25
5.2.2. Diseño de la investigación.....	25
5.2.3. Tamaño de la muestra y tipo de muestreo	26
5.2.4. Técnicas.....	26
5.2.4.1. Evaluación ecográfica.....	26
5.2.4.2. Hisopado	27
5.2.4.3. Inseminación artificial	27
5.2.4.4. Preparación del plasma rico en plaquetas	27
5.2.4.5. Caracterización de microbiota	28
5.2.4.6. Conformación Vulvar.....	28
5.3. Procesamiento y análisis de la información.....	29
5.4. Consideraciones éticas.....	29
6. Resultados.....	30
6.1. Bacterias aisladas del tracto reproductivo de yeguas.....	30
6.2. Resultados de la prueba de sensibilidad a los antibióticos	33
7. Discusión.....	38
8. Conclusiones.....	43
9. Recomendaciones.....	44
10. Bibliografía.....	45
11. Anexos.....	52

Índice de tablas

Tabla 1. Antimicrobianos más comunes usados en yeguas que presentan endometritis bacteriana... 22	22
Tabla 2. Frecuencia absoluta, relativa e intervalo de confianza al 95%, de la presencia de bacterias en hisopado intrauterino de yeguas (n=9) 30	30
Tabla 3. Frecuencia absoluta, relativa e intervalo de confianza al 95%, de la presencia de bacterias en hisopado de fondo de vagina de yeguas (n=9). 30	30
Tabla 4. Frecuencia absoluta, relativa e intervalo de confianza al 95%, de la presencia de bacterias en hisopado intrauterino de yeguas (n=9) 48 horas después de la aplicación del tratamiento con Plasma Rico en Plaquetas (PRP). 31	31
Tabla 5. Frecuencia absoluta, relativa e intervalo de confianza al 95%, de la presencia de bacterias en hisopado de fondo de vagina de yeguas (n=9) 48 horas después de la aplicación con Plasma Rico en Plaquetas (PRP)..... 31	31
Tabla 6. Frecuencia absoluta, relativa e intervalo de confianza al 95%, de la presencia de bacterias en un segundo hisopado de fondo de vagina de yeguas (n=9) un ciclo después de la aplicación con Plasma Rico en Plaquetas (PRP). 32	32
Tabla 7. Bacterias aisladas de la flora del tracto reproductivo de yeguas (n=9) antes y después de la aplicación del tratamiento con Plasma Rico en Plaquetas (PRP). 33	33
Tabla 8. Resistencia a diferentes antibióticos de bacterias aisladas (n=28) de hisopados intrauterinos y vaginales de yeguas 34	34
Tabla 9. Resistencia de bacterias del tracto reproductivo de yeguas (n=9) a penicilina..... 34	34
Tabla 10. Resistencia de bacterias del tracto reproductivo de yeguas (n=9) a ampicilina..... 35	35
Tabla 11. Resistencia de bacterias del tracto reproductivo de yeguas (n=9) a gentamicina 35	35
Tabla 12. Resistencia de bacterias del tracto reproductivo de yeguas (n=9) a Sulfametoxazol/trimetoprima. 36	36
Tabla 13. Determinación de la resistencia a la enrofloxacin del tracto reproductivo de yeguas (n=9). 36	36
Tabla 14. Índice de Caslick (a x l), angulación y coaptación vulvar de yeguas (n=9). 36	36
Tabla 15. Correlación entre características vulvares y presencia de bacterias en útero y vagina en yeguas (n=9). 37	37

Índice de figuras

Figura 1. Mapa de la Caballería Cazadores de Los Ríos..... 25	25
Figura 2. Esquema de desarrollo del experimento 26	26

Índice de anexos

Anexo 1. Sensibilidad bacteriana a antibióticos de muestras aisladas del tracto reproductivo de yeguas.....	52
Anexo 2. Evaluación mediante palpación rectal	53
Anexo 4. Recolecta de semen	53
Anexo 3. Evaluación ecográfica	53
Anexo 5. Observación de semen recolectado.....	53
Anexo 6. Preparación de Botusemen en laboratorio	54
Anexo 8. Toma de muestras uterinas y vaginales	54
Anexo 7. Preparación de materiales para toma de muestras	54
Anexo 9. Recolecta de muestras uterinas y vaginales en el medio de transporte Stuart.....	54
Anexo 10. Procesamiento del plasma rico en plaquetas	55
Anexo 12. Crecimiento bacteriano en medio de cultivo Agar Sangre.	55
Anexo 11. Toma de muestras de sangre	55
Anexo 13. Cultivo bacteriano en agar.....	55
Anexo 14. Crecimiento bacteriano en Agar EMB.....	56
Anexo 15. Observación microscópica de bacterias.....	56
Anexo 16. Métodos de identificación bacteriana	57
Anexo 17. Métodos de identificación bacteriana	57
Anexo 18. Evaluación de la conformación vulvar	58
Anexo 19. Correlación entre características vulvares y bacterias aisladas de útero y vagina de yeguas (n=9).....	59
Anexo 20. Certificado de traducción del resumen	60

1. Título

“Influencia del plasma rico en plaquetas sobre la flora bacteriana del tracto reproductivo de yeguas”

2. Resumen

La endometritis bacteriana es consecuencia de infecciones ascendentes en el tracto reproductivo por alteraciones de los mecanismos de defensa y causa problemas de fertilidad. El objetivo de este estudio fue aislar e identificar las bacterias presentes en el útero y vagina de yeguas, verificar su resistencia a antibióticos y determinar si la aplicación del plasma rico en plaquetas (PRP) disminuye la presencia de bacterias en el tracto reproductivo. Se utilizaron yeguas mestizas cíclicas (n=9), entre 6 a 12 años de edad. Fue realizado el acompañamiento folicular, una vez detectado un folículo ≥ 35 mm y un edema uterino grado 3, se realizaron hisopados uterinos y vaginales, y posteriormente la inseminación artificial (IA). 4h después se realizó la aplicación intrauterina de PRP con aproximadamente $37,01 \pm 12.13 \times 10^6$ plaquetas. Pasadas 48h fue realizado un segundo hisopado para cultivo microbiológico y antibiograma. *Staphylococcus coagulasa negativa* fue la bacteria que creció en útero y vagina con mayor frecuencia con 43% (3/7) y 50% (3/6) respectivamente. *E.coli*, *Klebsiella* spp y *Micrococcus* tuvieron presencia del 14% (1/7) encontrados únicamente en el útero de una sola yegua antes de la aplicación de PRP. Después de la inoculación de PRP hubo una reducción de las bacterias aisladas, *Staphylococcus* spp presentó una frecuencia de 25% (1/4) en útero y 29 % (2/7) en vagina. *Staphylococcus* spp mostró mayor resistencia a penicilina (44%) , ampicilina (43%) y gentamicina (31%). A su vez *E.coli* fue resistente a todos los antibióticos testados y *Staphylococcus aureus* presentó resistencia a enrofloxacina. La aplicación de plasma rico en plaquetas disminuye el crecimiento bacteriano en útero y altera la microflora en vagina. *Staphylococcus coagulasa negativa* y *E.coli* son bacterias consideradas de riesgo debido a su elevada resistencia a antibióticos.

Palabras Clave: PRP, útero, vagina, antibióticos, microorganismos.

2.1. Abstract

Bacterial endometritis is a consequence of ascending infections in the reproductive tract due to alteration of defense mechanisms and causes fertility problems. The aim of this study was to isolate and identify bacteria present in the uterus and vagina of mares, verify their antibiotic resistance and determine if the application of platelet-rich plasma (PRP) reduces the presence of bacteria in the reproductive tract. Cycling crossbred mares (n=9) between 6 to 12 years old were used. Follicular development was performed, once a follicle ≥ 35 mm and grade 3 uterine edema was detected, uterine and vaginal swabs were collected, followed by artificial insemination (AI). Four hours later, intrauterine PRP was applied with approximately $37.01 \pm 12.13 \times 10^6$ platelets. After 48 hours, we performed a second swab for microbiological culture and antibiogram. *Coagulase-negative Staphylococcus* was the bacteria that grew most frequently in the uterus and vagina with 43% (3/7) and 50% (3/6) respectively. *E. coli*, *Klebsiella* spp, and *Micrococcus* with a presence of 14% (1/7) were only found in the uterus of a single mare before PRP application. After the inoculation of PRP, there was a reduction of isolated bacteria, *Staphylococcus* spp had a frequency of 25% (1/4) in the uterus and 29% (2/7) in vagina. *Staphylococcus* spp showed more resistance to penicillin (44%), ampicillin (43%), and gentamicin (31%). *E. coli* was resistant to all antibiotics tested, and *Staphylococcus aureus* presented resistance to enrofloxacin. The application of platelet-rich plasma reduces bacterial growth in the uterus and alters the microflora in vagina. *Staphylococcus coagulase-negative* and *E. coli* are bacteria of risk due to their high resistance to antibiotics.

Keywords: PRP, uterus, vagina, antibiotics, microorganisms

3. Introducción

Las yeguas son animales poliéstricas estacionales de días largos. Presentan ciclos estrales de 21 días, siendo 14 días de diestro que es la fase lútea y 7 días de estro la fase folicular (Samper, 2000). Algunos factores que influyen en la fertilidad de las yeguas son la disponibilidad de alimento, el clima y la actividad que realizan (Aldaz, 2015; Galina & Valencia, 2008; McManus, 2000). A esto se suma la endometritis, que es una de las patologías más frecuentes en yeguas, siendo una de las principales causas de infertilidad, debido a cambios que se producen en el útero siendo incompatibles con la preñez (Gutjahr et al., 2000; Gajos et al., 2015).

La endometritis se define como la inflamación del endometrio o de la mucosa uterina (Gutjahr et al., 2000). Es una consecuencia de la interacción entre un agente causal infeccioso o no infeccioso y los mecanismos de defensa del útero (Martín & Ortega, 2020). Por un lado, los agentes infecciosos pueden ser de origen bacteriano o fúngico y, los no infecciosos producidos como respuesta de la hembra a la monta o a la IA. Dentro de los mecanismos de defensa alterados encontramos la disminución en la contractibilidad uterina, alteración en la respuesta hormonal, cambios vasculares en el endometrio entre otras (Canisso & Coutinho Da Silva, 2015).

Estudios muestran que la mortalidad embrionaria precoz es mucho mayor en yeguas que padecen endometritis que en yeguas sanas, generando importantes pérdidas económicas para los productores (Christoffersen *et al.*, 2015). La endometritis es causada por bacterias aeróbicas como *Escherichia coli*, *Proteus spp*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp*, *Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella Pneumoniae* (Eaton., *et al* 2010). La bacteria más comúnmente aislada en el endometrio de las yeguas es el *Streptococcus equi zooepidemicus* (LeBlanc & Causey, 2009).

La conformación vulvar tiene directo impacto en el mantenimiento de la sanidad del aparato reproductor de la yegua. La vulva se encuentra constituida por dos labios en la porción media del tracto, conformado por dos comisuras en el sitio de unión (Dyce, 2003). Las condiciones óptimas de ésta, radica en formar un cierre que disminuye la entrada de agentes extraños a la vagina en el tracto tubular (Aldaz, 2015).

El exceso de manipulación uterina y tratamiento de endometritis persistente con recidiva puede alterar la microbiota del tracto reproductivo, por lo que es importante identificar bacterias en la mucosa uterina y vaginal para aplicar un tratamiento adecuado en casos de endometritis y problemas reproductivos en yeguas (Paredes *et al.*, 2022).

El plasma rico en plaquetas (PRP) es un concentrado autólogo de plaquetas que proporciona una fuente de factores de crecimiento, quimiocinas y citocinas (Hessel et al. 2015; Chicharro-Alcántara *et al.* 2018; Lang & Herrmann 2018; Muir *et al.* 2019;). Es rico en péptidos y proteínas de señalización intercelular, así como citoquinas capaces de intervenir en cada una de las etapas de la regeneración de varios tejidos, suprime la expresión de citocinas proinflamatorias como IL-1 y TNF α y regula la inflamación intrauterina a través de la disminución de COX-2 del endometrio (Segabinazzi *et al.*, 2017).

Por lo tanto, los objetivos planteados en este estudio fueron: Estudiar la flora bacteriana del tracto reproductivo de yeguas. Identificar y caracterizar la flora bacteriana del útero y vagina de yeguas. Determinar la resistencia bacteriana a los antibióticos comúnmente empleados en el tratamiento de endometritis. Verificar el efecto del tratamiento con PRP sobre la flora bacteriana de útero y vagina de yeguas.

Como hipótesis del presente trabajo tenemos que la aplicación de PRP intrauterino altera la flora bacteriana del tracto reproductivo de yeguas.

4. Marco teórico

4.1. Anatomía y Fisiología del Aparato Reproductor

El aparato reproductor de la yegua está suspendido por una doble lámina de peritoneo que sostiene ovarios, oviductos, útero, cérvix, vulva y parte anterior de la vagina y vulva.

4.1.1. Vulva

La vulva se define como la abertura externa del aparato reproductor de la yegua, está conformada por una hendidura vulvar de 12,5 a 15 cm de alto y bordeada por dos labios redondos y prominentes. Los labios se encuentran dorsalmente en ángulo agudo y forman la comisura dorsal a 5 cm, ventral al ano. Se unen ventralmente para formar la comisura ventral, la cual es redondeada y gruesa (Sisson & Grossman, 2001), en la comisura inferior se encuentra la fosa del clítoris (Morel & Berasategui, 2006).

4.1.2. Vagina

La vagina es el canal que se extiende horizontalmente a través de la cavidad pelviana desde el cuello uterino a la vulva (Sisson & Grossman, 2001). Es un órgano tubular que mide horizontalmente entre 15 a 20 cm dentro de la cavidad pélvica, desde el orificio externo del cérvix hasta el pliegue transversal que recubre el orificio externo de la uretra (Brinsko *et al.*, 2011), y cuando está extendida alcanza de 10 a 12 cm de diámetro (Sisson & Grossman, 2001). Cumple una gran actividad secretora que depende del estado endocrino de la hembra, siendo mayor frecuencia en el periodo de estro o celo durante la cual el epitelio escamoso estratificado se engrosa protegiendo el interior de la misma durante la cópula y evitando la entrada de agentes patógenos (Morel & Berasategui, 2006).

4.1.3. Cérvix

El cérvix o también llamado cuello uterino, es la parte caudal estrecha que se une con la vagina. Tiene forma de semicono plano, no tiene anillos cervicales. y posee varios pliegues longitudinales. El cérvix tiene una longitud de aproximadamente 5 a 7,5 cm y 3.5 a 4 cm de diámetro. No es visible externamente, sin embargo, puede ser palpado a través de la pared vaginal. Durante el celo, el cérvix se mantiene flácido y en el diestro o gestación permanece cerrado y rígido.

4.1.4. Útero

El útero es un órgano muscular hueco que continúa con las trompas uterinas cranealmente, situado en la cavidad abdominal. Se encuentra sujeto en la región sublumbar y en las paredes laterales de la cavidad pelviana por dos pliegues de peritoneo. Está conformado por dos cuernos, el cuerpo y el cuello. Los cuernos del útero son cilíndricos cuando se encuentran distendidos y miden 25 cm de longitud (Sisson & Grossman, 2001). El cuerpo del útero está situado parcialmente en la cavidad abdominal y pelviana. Tiene forma de cilindro (Sisson & Grossman, 2001), y mide en promedio de 15 a 20 cm de longitud, el grosor en el extremo anterior es de 4 a 6 cm, haciéndose más estrecha conforme se acerca al cérvix (Morel & Berasategui, 2006). La pared del útero se encuentra formada por endometrio, miometrio y perimetrio. El perimetrio es la capa más externa, formada por tejido conectivo laxo y se continúa con el ligamento ancho, el miometrio la capa intermedia formada por fibras musculares longitudinales, una capa vascular intermedia y una capa interna gruesa de músculo liso circular. El endometrio es la capa más interna y es de vital importancia en la regulación de la función luteal durante el estro y la gestación de la yegua (Youngquist & Threlfall, 2007).

4.1.5. Ovarios

Los ovarios tienen forma de riñón y son más pequeños que los testículos. Las dimensiones varían dependiendo de cada especie animal, tamaño del cuerpo y edad. Su tamaño se encuentra alrededor de 7 a 8 cm de largo y 3 a 4 cm de ancho; su peso es de aproximadamente de 70 a 80 gramos. Cada ovario tiene dos superficies, dos bordes y dos extremidades. El ovario derecho está a 15 cm más caudal que el riñón; el ovario izquierdo está más caudal que el derecho y más cerca de su riñón correspondiente (Sisson & Grossman, 2001). Se encuentran situados en la región sublumbar y en contacto con la pared lumbar del abdomen. La distancia media desde el ovario al orificio vulvar es de 50 a 55 cm en una yegua de tamaño medio y la amplitud con la que se movilizan los ovarios se encuentra limitada por el mes ovario y la posición del útero (Morel & Berasategui, 2006).

El ovario de la yegua tiene una zona vascular en su superficie, la cual rodea el ovario en el margen mesovarial. En la parte opuesta encontramos la fosa

ovárica que se encuentra recubierta por el epitelio germinativo. En la fosa ovárica tiene lugar la ovulación que ocurre en los periodos del estro (Sisson & Grossman, 2001).

4.2. Fisiología de la Reproducción

Las yeguas son reproductoras poliéstricas estacionales, utilizan el fotoperiodo alto para planificar su actividad reproductiva: actividad ovulatoria o ciclicidad estral en días con mayor cantidad de horas luz (Brinsko & Blanchard, 2011). Además del fotoperiodo, existen factores de gran importancia como edad, estado reproductivo, nutrición, condición corporal que interfieren en la actividad reproductiva estacional de la yegua (Aurich, 2011; Cunningham, 2009).

La yegua presenta ciclos estrales que se repiten. Con el fin de establecer intervalos interovulatorios, se estimula el eje de hipotálamo-hipófisis-gonadal. Este estímulo está determinado por la retina que actúa como un fotorreceptor y convierte la información neuronal en señales hormonales, que se transmite al núcleo hipotalámico y la glándula pineal.

La disminución de la secreción de melatonina permite la actividad del eje hipotálamo-pituitario-gonadal, lo que conduce a la progresión de los ciclos estrales hasta lograr concebir. Los meses con más horas oscuras del año son los de mayor secreción de melatonina, lo que hace que los folículos no alcancen su pleno crecimiento para lograr la desviación y la maduración folicular (Cunningham, 2009).

La actividad ovárica aumenta conforme las horas luz se incrementan en el hemisferio Sur, cuyo patrón cíclico va desde octubre a marzo y se reduce hasta llegar a finalizar en la época mayo a julio (Nagy *et al.*, 2000). Estas dos épocas están separadas por períodos de transición (Sharpe, 1986). En el hemisferio norte, los períodos de ovulación y anestro difieren debido a la diferente duración del día y en patrones opuestos para el hemisferio sur (Nagy *et al.*, 2000; Cunningham, 2009).

4.2.1. Ciclo estral

El ciclo estral se conoce como el periodo comprendido entre dos ovulaciones seguidas, acompañadas de un estro y por concentraciones plasmáticas de progesterona que se encuentran por debajo de 1 ng/ml, tiene una

duración de 18 a 24 días con un promedio de 21 días y se divide en fase folicular o estrogénica y fase luteal o diéstrica (Andrade Souza *et al.*, 2011).

El ciclo estral está determinado por el balance de las hormonas producidas por la glándula pineal, hipotálamo, la hipófisis, ovarios y endometrio (Ginther *et al.*, 2008), donde el hipotálamo cumple una importante función en control reproductivo debido a que los gonadotropos secretan hormonas GnRH, provocando una estimulación, síntesis y liberación de gonadotropinas: hormona folículo-estimulante (FSH) y luteinizante (LH), responsables de la dinámica folicular ovárica, producción de estrógeno, ovulación y luteinización del cuerpo lúteo (Andrade Souza *et al.*, 2011).

4.2.1.1. Estro. La fase folicular o conocida como estro, es caracterizada por el crecimiento folicular con producción de estrógenos, resultando en celo conductual. Varios folículos empiezan a madurar, generalmente un solo folículo se vuelve dominante y ovula. Este proceso varía de 4 a 7 días, además presenta una rápida disminución de concentraciones plasmáticas de estrógeno.

El estro o también conocido como celo, es la época donde la yegua es receptiva. Se caracteriza por el deseo sexual y la aceptación del macho por la hembra (Cunningham, 2009). Este periodo tiene una duración de 5 días y se asocia con la liberación de FSH por la glándula pituitaria, la cual estimula el crecimiento de un pequeño número de folículos presentes en el ovario. De esta forma varios folículos se desarrollan, sin embargo, solamente uno alcanzará mayor tamaño. Generalmente, la ovulación en la yegua puede darse a partir de los 35 mm y se presenta entre las 24 a 48 horas antes de finalizar el estro (Souza *et al.*, 2011; Cunningham, 2009).

4.2.1.2. Diestro. La fase lútea es el periodo restante del ciclo estral, dura alrededor de 14 a 15 días, variando de acuerdo con la duración del estro. Se inicia con la ovulación, formación del cuerpo lúteo y la secreción de progesterona, lo que provoca que la yegua ya no muestre signos de celo conductual (Brinsko & Blanchard, 2011). En este periodo la yegua no es receptiva al semental. El cérvix se encuentra cerrado, y el moco que se ha producido en el estro está ausente como consecuencia de la producción de progesterona. El diestro comprende la parte restante del ciclo, sin alteración del comportamiento del animal, permanece en su actividad cotidiana. Se caracteriza por la presencia de cuerpo lúteo con producción de progesterona, también se le conoce como parte lútea; su duración varía de 12 a 16 días (Cunningham, 2009).

4.2.2. Fisiología del Edema Uterino

El edema uterino es provocado por el incremento de los niveles de estrógeno y los E2 son los responsables de aumentar el grado de edema en el tracto reproductivo (Samper, 2009). El edema uterino es un signo importante para determinar el celo, que se expresa por la forma de la llanta de carro. La principal característica observada en el endometrio durante el ciclo estral de las yeguas es la presencia de edema durante el celo (Samper 1997). El grado de edema endometrial se puede medir mediante un sistema de puntuación personal para evaluar el grado de edema uterino y la visibilidad de los pliegues endometriales. La presencia de edema uterino es el signo más fiable de estro en yeguas normales, incluso cuando la yegua no está receptiva. La ausencia de edema uterino con cuello uterino cerrado es característica de los diestros (Samper & Pycock 2007).

Samper (2009), indica el puntaje numérico de los grados de edema uterino que podemos encontrar en una yegua y que significa cada uno:

- Edema uterino grado 0: Existe una homogeneidad de la pared del útero y la presencia de un cuerpo lúteo y cérvix cerrado.
- Edema uterino grado 1: Presenta una cantidad mínima de edema, en este grado la yegua recién está entrando en celo y se caracteriza por tener un cérvix suave a palpación y un folículo de 25-35 mm

dependiendo de la raza y tamaño de la yegua. Pliegues uterinos difíciles de detectar.

- Edema uterino grado 2: Existe una cantidad moderada de edema presente en el cuerpo del útero; los folículos están mayor de 35 mm y los pliegues uterinos se pueden distinguir.
- Edema uterino grado 3: Los folículos tienen un tamaño de 38 mm y los pliegues uterinos son fáciles de reconocer debido a que están más gruesos diferente a la clasificación anterior. El edema está presente en todo el útero.
- Edema uterino grado 4: Con una cantidad máxima de edema considerado normal, presente en todo el útero con líquido libre detectable en el lumen,
- Edema uterino grado 5: Es un edema uterino considerado patológico, se caracteriza por ecotextura irregular con gran cantidad de líquido libre en el lumen uterino. La presencia de este edema es evidente cuando aparece un edema prematuro con un folículo grande a los 14 a 15 días post ovulación.

La acumulación de líquido intrauterino es común en yeguas susceptibles a la endometritis (Walter et al., 2012). El aumento del edema a menudo se asocia con el estro. Mientras que Ibrahim et al. (2015) señala que la persistencia de líquidos durante el estro indica que la inflamación y el edema están directamente relacionados con la infertilidad y el aborto espontáneo temprano, entre otras condiciones. Por otro lado, Davies Morel et al. (2013) asocian la aparición de edema uterino agudo (grado 4 a 5) con aislados de bacterias como *Escherichia coli*, la cual genera una respuesta inflamatoria agresiva a nivel endometrial.

4.3. Inmunidad Uterina

El útero de la yegua se mantiene saludable y libre de contaminantes debido a varios factores que brindan protección fisiológica contra sustancias extrañas (LeBlanc & Causey, 2009).

4.4. Barreras Físicas y Conformación Vulvar

La cavidad uterina está protegida por 3 barreras físicas: Los labios externos que previenen la contaminación de la vagina y el útero. El esfínter vestibulovaginal es el

único esfínter funcional durante el celo. Y el cuello uterino. Si alguna de estas barreras es disfuncional, las yeguas serán más susceptibles a presentar vaginitis y endometritis, que causan irritación y facilitan la entrada de bacterias al útero (LeBlanc & Causey, 2009; Canisso *et al.* 2016).

Existe una conexión entre el esfínter anal, el tejido conectivo, los músculos vulvares y los ligamentos. Cuando la yegua tiene una elevada implantación de cola, la porción caudal de la vagina, junto con la vulva, son haladas cranealmente sobre el isquion, generando la inclinación de la vulva. Los músculos abdominales de la yegua disminuyen al presentar más gestaciones. Lo cual permite que los intestinos retraigan los esfínteres anal y vulvar, haciendo que la vulva aumente de longitud y se incline (Scoggin, 2015; Salas, 2022).

Pascoe (1979) elaboró el índice de Caslick, que determina el tipo de conformación vulvar y su predisposición a desarrollar enfermedades infecciosas del tracto reproductivo debidas a contaminación fecal (Pascoe, 2007). Cuando una yegua presenta una conformación vulvar deficiente, genera un cierre incompleto de los labios vulvares, permitiendo que los patógenos asciendan, resultando en vaginitis, neumovagina, urovagina o endometritis (Hurtgen, 2006; Godoy, 2015). Una conformación vulvar deficiente se produce en yeguas con una condición corporal baja y una atrofia muscular debido a la edad (Pascoe, 2006; Pierre & Blackford, 2016).

Tanto la entrada de aire o heces como la estancamiento de orina predisponen al animal a padecer una endometritis, por contaminación constante del aparato reproductivo, ya que las barreras anatómicas que impiden la contaminación del mismo están alteradas.

Pascoe (1979) desarrolló una técnica para medir la longitud efectiva (l) y el ángulo de inclinación (a) de la vulva de la yegua, cuyo producto ($l \times a$) determina el índice de Caslick, la cual es una herramienta útil para determinar la necesidad de vulvoplastia (Pascoe, 1979). La longitud efectiva es medida desde la comisura dorsal hasta donde se palpa el piso pélvico, el ángulo de inclinación de la vulva al plano vertical. Existen tres grupos de conformación:

- Grupo I: conformación vulvar buena. El índice es menor a 100.
- Grupo II: conformación vulvar regular. El índice está entre 100 y 150.
- Grupo III: conformación vulvar mala. El índice es mayor a 150.

Por lo tanto, en un diseño ideal, la longitud efectiva normalmente debe ser menor a 4 cm, y la inclinación con la vertical debe ser lo más cercana posible a cero o menor a

10°. Si no se sigue esta regla y el índice de Caslick es alto, se pueden producir problemas reproductivos (Salas, 2022).

4.4.1. Inmunoglobulinas

El endometrio forma parte del sistema inmunitario de las yeguas, debido a que su mucosa produce y secreta inmunoglobulinas. Las inmunoglobulinas se encuentran presentes en el epitelio glandular, luminal y en las secreciones. Existen tres tipos de inmunoglobulinas en el tracto reproductivo de la yegua: IgG, IgM e IgA. Esta última, se considera como la que más predomina en el tracto reproductivo de la yegua (Canisso *et al.* 2020).

La concentración de los anticuerpos en el útero está regulada por el nivel de hormonas esteroides, aumentando la concentración de IgA durante el estro. Generalmente, el nivel de IgA en el útero es más alto que el nivel sérico, es decir, la IgA se produce fundamentalmente de forma local y es un importante factor protector de las superficies mucosas, impidiendo la adhesión bacteriana a las superficies epiteliales (Tizard, 2018).

4.4.2. Polimorfonucleares

Los polimorfonucleares (PMN) son las primeras células inflamatorias implicadas en la respuesta inmune celular del útero. Cuando existe la entrada de microorganismos, el número de células inflamatorias en la luz uterina aumenta, permaneciendo ahí durante varios días. Estas células forman una barrera principal en la defensa del útero contra infecciones, cuya función principal es la fagocitosis (Canisso *et al.*, 2015).

La migración de PMN al útero resulta de la liberación de quimiocinas en los sitios de inflamación; complemento, prostaglandinas, los leucotrienos, las histaminas y algunas enzimas pueden actuar como quimioatrayentes. La opsonización juega un papel importante en los mecanismos de defensa del útero al aumentar la fagocitosis de los polimorfonucleares. Las opsoninas se unen a las superficies microbianas y proporcionan a los PMN sitios de unión para atacar a los microorganismos; el complemento y la IgG son las principales opsoninas en el fluido uterino (Canisso *et al.*, 2020).

En la actualidad, conocemos que los polimorfonucleares además de fagocitar bacterias, producen trampas extracelulares de neutrófilos. Los PMN liberan ADN y complejos moleculares que se encuentran asociados al ADN

que llevan elementos nucleicos y proteínas citoplasmáticas, las cuales se encargan de atrapar y eliminar a las bacterias en el lugar que estén produciendo la infección, el cual es un proceso conocido como la liberación de trampas extracelulares de neutrófilos (NETs) (Lögters *et al.*, 2009).

Existen bacterias como *S. Zooepidemicus* o *E. Coli* que al entrar en contacto con los polimorfonucleares se estimula la NETosis, estableciendo que este medio es uno de los sistemas de defensa de las yeguas contra la endometritis. Sin embargo, los NETs al ser primera línea de defensa, pueden presentar como inconveniente fibrosis endometrial secundaria (Rebordão *et al.*, 2014).

4.5. Bacterias del tracto reproductivo

4.5.1. Bacterias causadoras de vaginitis

La vaginitis se define como la inflamación de la mucosa vaginal que puede afectar a yeguas de todas las edades. La vaginitis es causada generalmente por agentes no infecciosos, posteriormente se produce una proliferación de microorganismos saprofitos generando una inflamación que produce secreciones vaginales (Feldman, 2000). Estas secreciones pueden presentar mucopurulento.

Existen bacterias como *Taylorella equigenitalis* la cual es altamente contagiosa en caballos y que afecta a la fertilidad en hembras. Esta bacteria se puede ubicar en la fosa del clítoris y en el útero. En yeguas este microorganismo puede dar lugar a una vaginitis y endometritis (Li *et al.*, 2021).

4.5.2. Bacterias causadoras de endometritis

La endometritis bacteriana se considera una de las principales causas de infertilidad en la yegua, con una prevalencia entre 25 y 60% en yeguas infértiles (Benko *et al.*, 2015; Canisso *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2021). Generalmente los signos aparecen en yeguas no quedan en gestación después de la cubrición y que presentan pérdidas fetales, placentitis (Leblanc & Causey, 2009; Scott *et al.*, 2020).

Los microorganismos que afectan al tracto reproductivo de la yegua son agentes oportunistas cuya presencia en el útero desencadenando problemas que afectan al ciclo reproductivo normal comprometiendo la vida del animal (Katila, 2016).

Dentro de los agentes causales más comunes de endometritis bacteriana se encuentran: *E. coli*, *Proteus spp*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Streptococcus equi subsp. Zooepidemicus*, *Klebsiella pneumoniae* y algunas cepas de *Pseudomona aeruginosa*. Siendo *Streptococcus equi zooepidemicus* la que tiene mayor prevalencia en el útero de las yeguas (Leblanc & Causey, 2009). Esta bacteria forma parte de la flora que permanece en la parte caudal del tracto reproductor de las yeguas, siendo la principal causa de endometritis (Causey, 2006). Sin embargo, aunque forma parte de la flora del aparato reproductivo caudal, causa infección del útero al llegar por vía ascendente, atravesando vulva, esfínter vestibulovaginal y cuello uterino (Rasmussen *et al.*, 2013).

4.5.3. Bacterias formadoras de Biofilm

Los agentes patógenos causantes de la endometritis tienen la capacidad de producir biofilms, que son capas protectoras que los repelen de su entorno, permitiendo su maduración, proliferación y haciendo más difícil el ataque hacia ellos (Díaz, 2013; Martínez, 2019)

El mecanismo patogénico de las bacterias se basa en su adhesión a las superficies epiteliales, impidiendo su extracción física y la producción de toxinas, lo que provoca la irritación del endometrio, produciendo la formación de exudados inflamatorios y conduciendo a la formación de biofilms sobre las que forman un matriz de adherencia. Esto promueve infecciones persistentes. Los biofilms brindan un mayor soporte al epitelio, resistencia a los antibióticos, así como a las defensas celulares y humorales (Katila, 2016).

Existen bacterias que se adhieren fuertemente a la superficie epitelial lo que impide su eliminación física. La evaluación de las bacterias aisladas del útero de la yegua, sugiere que la mayoría de los aislados de *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae* son capaces de producir una biopelícula, mediadas en parte por proteínas de unión a fibronectina y cápsulas de ácido hialurónico.

El material del biofilm adherido es multifocal, con una mayor adherencia entre los pliegues del tejido y en los cuernos uterinos. Las bacterias se encuentran en mayor número en la profundidad de las glándulas endometriales en comparación con la superficie luminal (Ferris, 2017).

4.6. Cultivo

El cultivo es una técnica microbiológica muy importante que nos permite evaluar e identificar los microorganismos presentes en el útero y vagina (LeBlanc & Causey, 2009). El cultivo uterino nos puede ayudar mucho en el diagnóstico de las infecciones uterinas si se utiliza junto con la citología uterina (Causey, 2006). La citología uterina proporciona pruebas directas de la inflamación uterina y ayuda a identificar los cultivos falsamente positivos. Sin embargo, el cultivo uterino proporcionará resultados ambiguos o engañosos si no se realiza la citología uterina.

Para cultivar estos microorganismos se realiza mediante el método estándar. Se incuban las bacterias en placas petri y monopetri a 37°C y su evaluación se realiza a las 24 h y 48 horas esto para comprobar si existe o no crecimiento bacteriano. Su diagnóstico se basa en el tamaño de colonia, la morfología, la pigmentación y la hemólisis. Además de usar Agar sangre, se pueden utilizar otro tipo de agares especiales para una mayor identificación de los microorganismos, pruebas bioquímicas y tinción de Gram. Se deben tomar las muestras cuando la yegua se encuentre al comienzo del estro ya que el cérvix se encuentra relajado y el útero es más resistente a la infección.

Las bacterias más comunes cultivadas en cultivos positivos son: *Escherichia coli*, *Streptococcus* β – hemolítico y *Pseudomonas spp.* Aunque no sólo se producen bacterias, sino que también encontramos hongos que también causan endometritis (Katila, 2016).

4.6.1. Antibiograma

El antibiograma es una prueba microbiológica, que determina la susceptibilidad o resistencia de un microorganismo a un grupo de diferentes antibióticos. Esta prueba se utiliza específicamente para estudiar la actividad de antibióticos frente a bacterias causantes de infecciones y que requieran de tratamiento antimicrobiano.

Se define como antibiótico a la sustancia capaz de matar o inhibir el crecimiento de bacterias. Estos pueden ser naturales, sintéticos o semisintéticos. El uso de antibióticos supone un avance para la eliminación de procesos infecciosos, sin embargo, también implica un aumento de niveles de resistencia antimicrobiana (Pratz, 2009).

Una de las principales utilidades del antibiograma es la instauración de un tratamiento con el antibiótico correcto. Se necesita saber si el microorganismo

causante de la infección tiene mecanismos que les aporte inmunidad frente a diferentes antibióticos con el fin de no incluirlo como tratamiento.

El antibiograma es importante en el seguimiento y la confirmación del tratamiento. En muchos casos, los tratamientos se comienzan antes de conocer la sensibilidad de la cepa por lo que el antibiograma nos ayuda a corregir el tratamiento. Por otro lado, existen microorganismos que mantienen su sensibilidad original a ciertas drogas, por lo que no sería necesario realizar pruebas de sensibilidad.

4.6.2. Concentración inhibitoria mínima

Se conoce como la concentración mínima inhibitoria (CMI) de un antibiótico el cual inhibe el crecimiento de una cepa bacteriana determinada. Se considera una prueba “gold standard” para determinar la susceptibilidad de un microorganismo frente a un antibiótico. Una prueba de sensibilidad que nos proporcione CMI nos ayuda a determinar el tipo de antibiótico más eficaz, lo cual aumenta la probabilidad de eliminar la infección y detener la resistencia antimicrobiana.

Sensible (S), Intermedia (I), Resistente (R), seguido de la concentración mínima inhibitoria:

- Sensible: el crecimiento del microorganismo está inhibido a la concentración sérica del fármaco usando la dosis habitual.
- Intermedia: el crecimiento del microorganismo está inhibido a la dosis máxima recomendada.
- Resistente: las cepas resistentes no son inhibidas por las dosis habituales de uso.

4.6.3. Antibióticos

4.6.3.1. Betalactámicos. Poseen un anillo central de cuatro átomos llamado anillo β -lactámico. Su modo de acción es la de inhibir la síntesis de la pared celular, constituyendo la familia más numerosa de antimicrobianos. Son antibióticos de acción lenta, con actividad dependiente del tiempo, con buena distribución y escasa toxicidad. Lo que se agrega de grupos sustituyentes al anillo va a determinar si se trata de una penicilina, un cephem, carbapenem o un monobactam (Suárez, 2008). La penicilina va dirigida a bacterias que no producen B-Lactamasas, gram positivas y gram negativas. Las acilamino-penicilinas mantienen actividad contra muchas especies gram negativas. Las penicilinas resistentes a penicilinasas tienen una actividad contra gram positivos, inclusive *Staphylococcus* productores de penicilinasas (Mesa *et al.*, 2007). Por último, la ampicilina posee un amplio espectro antimicrobiano contra bacterias gram positivas y gram negativas. Algunas bacterias que presentan resistencia son *Staphylococcus* productores de penicilinasas, *Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella* entre otros (Goodman & Gilman, 2007).

4.6.3.2. Fluoroquinolonas. Es un grupo de agentes antibacterianos sintéticos, de amplio espectro, bactericidas de gran penetración intracelular que han tenido éxito en tratamientos de infecciones leves, moderadas y graves. Dentro de las fluoroquinolonas encontramos la enrofloxacin, caracterizada por una buena actividad antimicrobiana contra bacterias gram positivas y gram negativas. Además, también actúa contra microorganismos susceptibles o resistentes a los antibióticos de uso habitual en animales (Maguiña & Solari, 2006).

4.6.3.3. Sulfonamidas y Trimetoprima. Este grupo se encuentra formado por varios agentes quimioterapéuticos con similar espectro de actividad, inhibiendo el metabolismo del folato. El sulfisoxazol es la sulfonamida mayormente usada en el tratamiento de infecciones. El sulfametoxazol se usa en combinación fija con trimetoprima, ambos fármacos bacteriostáticos, produciendo una inhibición secuencial en dos pasos del metabolismo del folato de ciertas bacterias gram negativas y gram positivas, sin embargo, *Pseudomona aeruginosa* puede presentar resistencia (Benavides-Plascencia, 2005).

4.6.3.4. Aminoglucósidos. La inactivación enzimática mediada por plásmidos representa un mecanismo importante de resistencia bacteriana en Enterobacterias, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* y *Enterococcus*, aunque también hay otros mecanismos como alteración de la permeabilidad de la membrana y/o mutaciones cromosómicas.

La gentamicina es un ejemplo de este grupo de antimicrobianos. Su mecanismo de acción es interferir en la síntesis normal de proteínas, lo que origina proteínas no funcionales en microorganismos susceptibles. Presenta un espectro antimicrobiano frente a bacterias gram negativas, además, también tiene actividad frente a ciertas bacterias gram positivas. Por otro lado, si se los combina con los betalactámicos actúan eficazmente contra infecciones causadas por *Streptococcus sp* (Goodman & Gilman, 2007).

4.7. Tratamiento de endometritis

El tratamiento de endometritis bacteriana se basa en tres principios: corregir defectos de las barreras físicas externas, neutralizar agentes bacterianos y finalmente controlar la inflamación post cubrición con el uso de fármacos y técnicas (LeBlanc & Causey, 2009). El tratamiento para la endometritis radica en que no hay un tipo de

tratamiento estandarizado debido a que en cada yegua se establece un cuidado específico.

4.7.1. Lavado uterino

El lavado uterino con solución salina estéril e isotónica elimina los contaminantes uterinos, los residuos, semen antiguo y el exudado inflamatorio, mejorando el entorno fagocítico (Causey, 2006). Además, ayuda a mejorar la estimulación de contractibilidad uterina y reclutamiento de opsoninas, neutrófilos mediante la irrigación mecánica del endometrio (Vega, 2011). El lavado uterino está indicado principalmente en yeguas con problemas para la eliminación de exceso de líquido. Se usa de 1 a 2 litros de solución salina isotónica estéril o Ringer Lactato dentro del útero a una temperatura de 40°C. Este procedimiento se puede acompañar con un masaje uterino por vía rectal (LeBlanc, 2010).

4.7.2. Ecbólicos

Son sustancias que favorecen la contracción del miometrio, promoviendo la salida y drenaje del útero. Dentro de estos fármacos que abarcan los ecbólicos se encuentran la oxitocina y la cloprostenol que es un análogo de la prostaglandina F_{2α} (Swift et al., 2020). La oxitocina se utiliza ampliamente para el tratamiento de las infecciones uterinas en los caballos. Es segura, barata, no invasiva, no irritante y refuerza las defensas uterinas mediante la expulsión del líquido uterino (Causey, 2006; Annandale *et al.*, 2018). Asimismo, el cloprostenol es utilizado en la práctica para tratar la acumulación de líquido intrauterino en yeguas (Scoggin, 2016).

4.7.3. Antibióticos

Antes de aplicar antibióticos se debe realizar cultivos para el aislamiento y la identificación de la bacteria causante de la infección. Posteriormente se debe realizar un antibiograma para establecer los antibióticos más adecuados y así, evitar resistencia bacteriana. Se debe tener en cuenta tanto la sensibilidad bacteriana como los efectos secundarios para usarlo en el medio uterino (Blanchard *et al.*, 2003).

Los antibióticos intrauterinos se han utilizado ampliamente para el tratamiento y la prevención de las infecciones uterinas. Los fármacos que son frecuentemente utilizados para el tratamiento de endometritis son los β-

lactámicos como la ampicilina, penicilina; aminoglucósidos como la gentamicina; fluoroquinolonas como la enrofloxacina y sulfonamidas como sulfametoxazol asociadas con pirimidina (trimetoprim) (Dascanio, 2009).

La vía de administración es intrauterina, siendo de esta forma la que alcanza una mejor concentración a diferencia de la vía sistémica. Sin embargo, existen algunos estudios que critican la administración local de antibióticos, ya que pueden interferir en los mecanismos de defensa uterina (Causey 2006).

En la administración local se debe tener en cuenta el pH de los antibióticos, para no alterar el pH uterino y evitar daño sobre las membranas mucosas. Por ejemplo, la gentamicina, es un antibiótico con pH ácido que tiene que amortiguarse con bicarbonato de sodio para que se pueda usar en perfusión en el útero y evitar irritación uterina (Brinsko *et al.*, 2011). El tiempo de administración de antibióticos uterinos se recomienda realizar infusión una vez al día durante tres días en caso de endometritis leve, por tres días en endometritis moderadas y durante 7 días en endometritis severa.

Los antibióticos sistémicos se utilizan con menos frecuencia que los intrauterinos debido a que se cree que la concentración mínima inhibitoria se alcanza más fácilmente con la administración intrauterina. La principal ventaja de la vía sistémica es que su distribución es más homogénea en el tracto reproductivo. El tiempo de tratamiento depende del nivel de gravedad de la endometritis. Los antibióticos se deben administrar por lo menos de 5 a 7 días, aunque se puede llegar hasta 10 a 14 días en caso de que la infección sea grave (Liu & Troedsson, 2008; Ferris, 2015). La administración sistémica alcanza concentraciones inhibitorias mínimas en el endometrio sin inducir la contaminación del útero y con menos fluctuación de los niveles de antibióticos.

Los antibióticos administrados por vía sistémica incluyen la penicilina G procaína, la gentamicina, la amikacina, la ampicilina y el trimetoprim sulfa, a las dosis sistémicas habituales (Canisso *et al.*, 2020). La administración sistémica puede ser una alternativa a la perfusión en caso de que no se pueda administrar por esta vía.

Tabla 1. *Antimicrobianos más comunes usados en yeguas que presentan endometritis bacteriana*

Antibiótico	Vía Local	Vía Sistémica
Betalactámicos		
Penicilina	5 millones UI en 60 ml de solución salina	25.000 UI/kg cada 12 h
Ampicilina	1 -3 g con 60 ml de solución salina	29 mg/kg IV o IM cada 12–24 h
Aminoglucósidos		
Gentamicina	1-3 g con 10-20 ml de NaHCO ₃ al 8,4%	6,6 mg/kg IV o IM cada 24horas
Fluoroquinolonas		
Enrofloxacina		5,5 mg/kg IV lento o 7,5 mg/kg VO cada 24 horas
Sulfonamidas		
Sulfametoxazol y Trimetoprim		30 g/ kg equivalentes cada 24 horas

En estudios realizados por Acosta & Álvarez (2019), una de las mejores opciones de antibióticos para infusiones uterinas en la actualidad, es el ceftiofur, lo cual también coincide con otros estudios realizados por Anon (2009), donde también se demostró que excede la concentración inhibitoria mínima para *Streptococcus equi zooepidemicus*, a razón de una dosis de 6,6 mg/kg.

4.7.4. Corrección Quirúrgica

Aunque no todas las yeguas con endometritis son por causa de cubrición, si no que existen otros factores como la deficiente conformación vulvar. La técnica más usada de corrección quirúrgica es la cirugía de Caslick o también llamada vulvoplastía, la cual consiste en corregir la pneumovagina que se presenta cuando no hay buena conformación vulvar y que permite la entrada de agentes patógenos desde el vestíbulo vaginal hasta el útero (Gaitskell-Phillips & Ortega-Ferrusola,2020).

4.7.5. Tratamientos alternativos

Se han propuesto otros tratamientos para las infecciones uterinas y se han obtenido mayores tasas de eliminación de *Streptococcus* mediante la vacunación de la mucosa con *S. zooepidemicus* (Widders et al., 1995). La aplicación de células madre mesenquimales ayudan en el tratamiento de la

endometritis persistente post cubrición en la yegua (Morris et al., 2020). Sus efectos inmunomoduladores reducen la inflamación del endometrio a los espermatozoides, a la vez que disminuyen significativamente la afluencia de polimorfonucleares (PMN) y aumentan la inducción de citoquinas antiinflamatorias (IL-6, IL-8, MCP-1, CCL5, TLR4) en el útero (Ferris, 2015; Rink et al., 2018). Actualmente se están realizando avances en microbiología y desarrollo de técnicas de secuenciación masiva, lo cual permite identificar bacterias en órganos que se consideraban estériles como el útero (Ferris, 2015). Así mismo existen tratamientos como la manosa, que según estudios indican que es un excelente método tanto para prevenir como para curar la endometritis bacteriana. Se administra azúcares, principalmente la manosa a dosis de 50 mg de D-manosa/ml. Esto provoca la inhibición bacteriana al tejido del endometrio por medio de mecanismos de competición. Las lectinas en la superficie bacteriana por parte de azúcares exógenos evitan la adhesión y colonización de bacterias (Ferris,2017).

4.7.5.1. Plasma rico en plaquetas. El plasma rico en plaquetas (PRP) es un hemoderivado con alto recuento de plaquetas, que puede ser producido a través de varias centrifugaciones sucesivas (Chicharro-Alcántara *et al.* 2018; Lang & Herrmann 2018). Es rico en péptidos y proteínas de señalización intercelular, así como citoquinas capaces de intervenir en cada una de las etapas de la regeneración de varios tejidos. Se le han atribuido efectos antiinflamatorios en diferentes lesiones, así como otros efectos biológicos sobre las células y tejidos (Argüelles et al. 2008; Carmona *et al.*, 2007; Pereira *et al.*, 2019; Piedra & Varela 2020).

El PRP con altas concentraciones de plaquetas dan lugar al enriquecimiento de factores de crecimiento, citoquinas liberadas por las plaquetas tras la activación,7,8 y péptidos antimicrobianos naturales que modulan colectivamente la respuesta inmune uterina y las infecciones bacterianas (Segabinazzi *et al.*, 2021)..

En estudios realizados por Acosta & Álvarez (2019), una de las mejores opciones de antibióticos para infusiones uterinas en la actualidad, es el ceftiofur, lo cual también coincide con otros estudios realizados por Anon (2009), donde también se demostró que ceftiofur excede la concentración inhibitoria mínima para *Streptococcus equi zooepidemicus*, a razón de una dosis de 6,6 mg/kg. Según Ferris (2017), el ceftiofur para dosis intrauterinas puede administrarse 1 gramo reconstituido en 20 a 60 ml de solución estéril. Así mismo existen tratamientos como la manosa, que según estudios indican que es un excelente método tanto para prevenir como para curar la endometritis bacteriana. Se administra azúcares, principalmente la manosa a dosis de 50 mg de D-manosa/ml. Esto provoca la inhibición bacteriana al tejido del endometrio por medio de mecanismos de competición. Las lectinas en la superficie bacteriana por parte de azúcares exógenos evitan la adhesión y colonización de bacterias.

5. Materiales y métodos

5.1. Área de estudio

El presente estudio se realizó en la “Caballería Cazadores de los Ríos” ubicada al sureste de la ciudad de Loja, con coordenadas 4°00'36.6"S 79°11'13.9"W a una altitud promedio de 2101 msnm, con temperatura media 16,1°C, la humedad relativa 76,7%, precipitación 0,07 mm y nubosidad de 70%. Se llevó a cabo durante el periodo octubre 2022 y noviembre 2022. Los cultivos microbiológicos se realizaron en el “Laboratorio de Biotecnología” de la Universidad Nacional de Loja con coordenadas 4°02'14.3"S 79°12' 17.8"W a una altitud promedio de 2135 msnm.

Figura 1. Mapa de la Caballería Cazadores de Los Ríos



5.2. Procedimiento

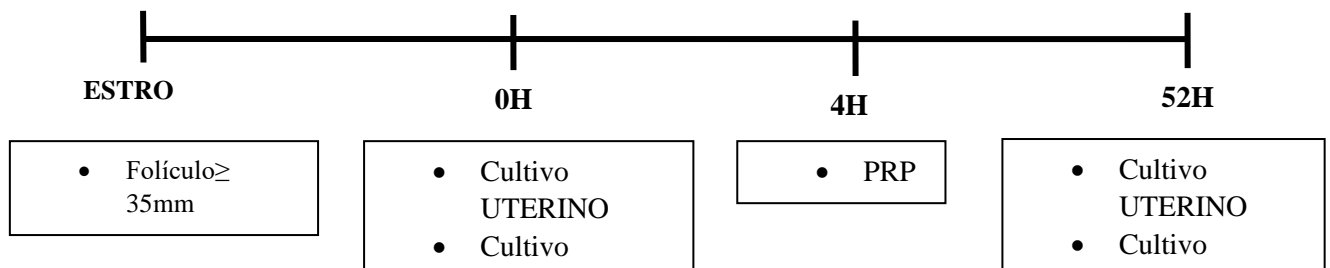
5.2.1. Enfoque metodológico

Enfoque cualitativo

5.2.2. Diseño de la investigación

Para el primer y segundo objetivo se desarrolló un estudio observacional, descriptivo y con muestreo por conveniencia. Para el tercer objetivo se utilizó un diseño cuasiexperimental de un grupo de 9 yeguas antes y después de la aplicación del tratamiento plasma rico en plaqueta (PRP).

Figura 2. Esquema de desarrollo del experimento



5.2.3. Tamaño de la muestra y tipo de muestreo

Las unidades experimentales fueron 9 yeguas cíclicas mestizas con líneas de polo, con edad entre 6 y 12 años, con condición corporal 4-5 en una escala 1 - 9 según Henneke *et al.*, (1983). Los animales presentaban una alimentación con libre acceso al pastoreo y agua *ad libitum*. Mediante un examen ginecológico que constó de palpación rectal y ultrasonografía transrectal, se seleccionaron las yeguas. Se realizó el acompañamiento folicular de un ciclo, se tomaron muestras intrauterinas y vaginales antes y 48 horas después de la aplicación de PRP durante el estro. Se evaluó la presencia de microorganismos del útero y vagina mediante cultivo bacteriano y pruebas bioquímicas para la identificación de los mismos. Se realizó un antibiograma para medir el halo de inhibición bacteriana (mm) frente a los antibióticos más comúnmente usados en reproducción (sulfametoxazol/trimetoprima, enrofloxacina, penicilina, ampicilina, gentamicina), verificando resistencia o sensibilidad. Se pudo evaluar la longitud de comisura vulvar, angulación, coaptación vulvar y el índice de Caslick.

5.2.4. Técnicas

5.2.4.1. Evaluación ecográfica. Fue evaluado un ciclo estral mediante la palpación rectal y ultrasonografía transrectal (Mindray® CP-50 Vet, modo B). Una vez detectado un folículo mayor o igual a 35 mm (Morel, 2020) y un edema uterino grado 3 (Samper, 2009), valorando que la yegua se encontraba en estro se tomaron muestras, se hizo la inseminación artificial y se aplicó el PRP.

5.2.4.2. Hisopado. Se procedió a tomar muestras mediante las técnicas de hisopado intrauterino e hisopado vaginal con material estéril. Para el hisopado intrauterino se utilizó el aparato de citología endometrial con camisa sanitaria. Las muestras se guardaron en medio Stuart refrigeradas a 4-6°C durante una hora hasta llegar al laboratorio. Esta técnica se repitió después de 48 horas de haber aplicado el plasma rico en plaquetas.

5.2.4.3. Inseminación artificial. Se realizó inmediatamente después del hisopado. Se utilizó semen de un único semental a una dosis de $1\ 000 \times 10^6$ de espermatozoides en un volumen de 20 ml diluido en (Botu-semen®, Botupharma, Botucatu, SP-Brasil). Se utilizó una pipeta estéril y el semen fue depositado en el cuerpo del útero.

5.2.4.4. Preparación del plasma rico en plaquetas. Se recolectaron 100 ml de sangre de la yegua mediante venopunción yugular usando una aguja vacutainer 21G en 20 tubos de 5 ml con citrato de sodio. Seguidamente, en el laboratorio se llevó a cabo una primera centrifugación (Eppendorf® 5702, Germany) a 2315 x g durante 15 minutos. Se extrajo 2000 µL de plasma que se encuentra sobre la capa leucocitaria y eritrocitos, de cada tubo. El plasma se colocó en 10 tubos tapa roja para una segunda centrifugación.

La segunda centrifugación se llevó a cabo a 579 x g durante 10 minutos. Posteriormente, con una micropipeta se extrajo 2000 µL del fondo de la muestra totalizando un volumen de 20 ml de PRP.

Para el conteo de plaquetas se realizó una dilución 1:990 en agua destilada y tinción en azul de metileno con el objetivo de facilitar la observación de las células en la cámara de Neubauer.

La concentración de plaquetas promedio fue de 1850.5×10^3 en un rango que varía de 1402,5 - 2885 $\times 10^3/\mu\text{L}$ y el total de plaquetas aplicadas de la misma forma que la IA sobre el endometrio fue de $37.01 \pm 12.13 \times 10^9$

La aplicación intrauterina de PRP se realizó 4 horas después de realizada la inseminación artificial.

5.2.4.5. **Caracterización de microbiota**

- **Inoculación de la muestra.** Se sembró la muestra en estriado girando el hisopo sobre medios de cultivo de Agar MacConkey, sangre y sal manitol previamente preparados, y fueron colocadas en la incubadora a 37°C durante 24 horas.
- **Caracterización Macroscópica.** El análisis macroscópico se basó en la descripción de la morfología de las colonias. Se describieron las características de tamaño, forma, consistencia, color y tipos de hemólisis.
- **Aislamiento e identificación.** Para la identificación de bacterias se utilizaron pruebas bioquímicas como catalasa, oxidasa y coagulasa y por medio de tinción de gram, fueron analizadas microscópicamente (Labomed® Lx400, Fremont, California, USA) con un aumento de 100X, donde se diferenció entre cocos y bacilos verificando si eran gram positivos o gram negativos.
- **Antibiograma.** Con el hisopo estéril se tomaron colonias bacterianas de los agares puros y se sembraron en agar Mueller Hinton. Se pasó el hisopo por toda la placa sin dejar zonas libres, sembrando uniformemente. Fueron seleccionados cinco antibióticos: sulfa y trimetoprima, enrofloxacina, penicilina, ampicilina y gentamicina, usados frecuentemente en infecciones con endometritis bacteriana. Se colocaron los cinco discos de antibióticos en cada placa con una pinza estéril sobre la superficie del agar, presionando ligeramente para entrar en contacto. Se colocaron las placas en la incubadora a 37°C durante 24 horas, se evaluó el halo de inhibición de crecimiento bacteriano para verificar la resistencia o sensibilidad al antibiótico.

5.2.4.6. **Conformación Vulvar**

- **Longitud de comisura vulvar.** Se realizó mediante la medición desde la comisura dorsal hasta donde se palpa la tuberosidad isquiática o también llamado piso de la pelvis.

- **Angulación Vulvar.** Se midió con respecto al eje vertical de 90° con respecto al suelo.
- **Coaptación vulvar.** Se evaluó el grado de apertura de los labios vulvares utilizando el dedo índice y el pulgar, midiéndolos en una escala de 1(difícil) a 3 (fácil).
- **Índice de Caslick.** Se obtuvo mediante la multiplicación entre la longitud (cm) y el ángulo de inclinación vulvar (°), como determinado por Pascoe (2007).

5.3. Procesamiento y análisis de la información

Estadística descriptiva de tablas de frecuencia absoluta, relativa e intervalo de confianza al 95%.

Análisis de correlación entre características vulvares y presencia de bacterias de útero y vagina en yeguas utilizando el procedimiento PROC CORR (SAS on Demand for Academics 2023).

5.4. Consideraciones éticas

Los animales fueron manejados con las normas para el cuidado y uso de animales en investigación según el “Código Orgánico del Ambiente” (ROS N° 983, Ecuador).

6. Resultados

6.1. Bacterias aisladas del tracto reproductivo de yeguas

A continuación, se presentan los valores de la frecuencia absoluta, relativa y el intervalo de confianza de la flora bacteriana encontrada en útero (tabla 2) y vagina (tabla 3) de yeguas.

Tabla 2. Frecuencia absoluta, relativa e intervalo de confianza al 95%, de la presencia de bacterias en hisopado intrauterino de yeguas (n=9)

Bacteria	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa	Intervalo de confianza 95%	
<i>Klebsiella spp</i>	1	14,29	-11,6	40,2
<i>E. coli</i>	1	14,29	-11,6	40,2
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	3	42,86	6,2	79,5
<i>Streptococcus</i>	0	0	0	
<i>Enterococcus</i>	0	0	0	
<i>Micrococcus</i>	1	14,29	-11,6	40,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	14,29	-11,6	40,2
Total	7	100		

Al realizar la identificación de bacterias presentes en el tracto reproductivo de 9 yeguas, fue posible caracterizar 5 bacterias de 7 muestras intrauterinas con crecimiento bacteriano. Considerando el intervalo de confianza al 95% la única bacteria que mostró una frecuencia diferente de 0 es la bacteria *Staphylococcus coagulasa negativa*, con una presencia del 43% del total de las muestras, antes de la aplicación de Plasma Rico en Plaquetas (PRP). Las bacterias *Klebsiella spp*, *E. coli*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus aureus* presentaron una frecuencia baja con un intervalo de confianza que no es diferente de 0.

Tabla 3. Frecuencia absoluta, relativa e intervalo de confianza al 95%, de la presencia de bacterias en hisopado de fondo de vagina de yeguas (n=9).

Bacteria	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa	Intervalo de confianza 95%	
<i>Klebsiella spp</i>	0	0	0	
<i>E. coli</i>	0	0	0	
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	3	50	10	90
<i>Streptococcus</i>	1	16,67	-13,2	46,5
<i>Enterococcus</i>	1	16,67	-13,2	46,5
<i>Micrococcus</i>	0	0	0	
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	16,67	-13,2	46,5
Total	6	100		

Así también de las 9 yeguas, 6 muestras de fondo de vagina tuvieron crecimiento bacteriano, y fueron identificadas 4 bacterias. Considerando el intervalo de confianza al 95% la única bacteria que mostró una frecuencia diferente de 0 es la bacteria *Staphylococcus coagulasa negativa*, con una presencia del 50% del total de las muestras, antes de la aplicación de PRP. Las bacterias *Klebsiella spp*, *E. coli*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus aureus* presentaron una frecuencia baja (16,66%) con un intervalo de confianza que no es diferente de 0.

Tabla 4. Frecuencia absoluta, relativa e intervalo de confianza al 95%, de la presencia de bacterias en hisopado intrauterino de yeguas (n=9) 48 horas después de la aplicación del tratamiento con Plasma Rico en Plaquetas (PRP).

Bacteria	Frecuencia Absoluta	Frecuencia Relativa	Intervalo de confianza	
<i>Klebsiella spp</i>	0	0	0	0
<i>E. coli</i>	1	25	-17,4	67,4
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	1	25	-17,4	67,4
<i>Streptococcus</i>	0	0	0	
<i>Enterococcus</i>	0	0	0	
<i>Micrococcus</i>	1	25	-17,4	67,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	25	-17,4	67,4
Total	4	100		

Las muestras intrauterinas analizadas posterior a la aplicación de PRP, tuvieron diferente crecimiento bacteriano que antes del tratamiento. Considerando el intervalo de confianza al 95% las bacterias que mostraron una frecuencia baja con un intervalo de confianza que no es diferente de 0 son *E. coli*, *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Micrococcus*, *Staphylococcus aureus* con 25 % (1/4) cada uno. Por lo tanto, hubo una disminución de la presencia de bacterias después de la aplicación del tratamiento con plasma rico en plaquetas (PRP).

Tabla 5. Frecuencia absoluta, relativa e intervalo de confianza al 95%, de la presencia de bacterias en hisopado de fondo de vagina de yeguas (n=9) 48 horas después de la aplicación con Plasma Rico en Plaquetas (PRP).

Bacteria	Frecuencia Absoluta	Frecuencia Relativa	Intervalo de confianza	
<i>Klebsiella spp</i>	1	14,29	-11,6	40,2
<i>E. coli</i>	1	14,29	-11,6	40,2
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	2	28,57	-4,9	62
<i>Streptococcus</i>	0	0,00	0	0
<i>Enterococcus</i>	0	0,00	0	0
<i>Micrococcus</i>	2	28,57	-4,9	62

Bacteria	Frecuencia Absoluta	Frecuencia Relativa	Intervalo de confianza	
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	14,29	-11,6	40,2
Total	7	100		

Después de la aplicación del tratamiento con PRP no hubo crecimiento de bacterias como *Enterococcus*, y *Streptococcus* en fondo de vagina. Solamente con un intervalo de confianza del 95% las bacterias que presentaron una frecuencia baja con un intervalo de confianza que no es diferente de 0 son *Klebsiella spp*, *E. coli* y *Staphylococcus aureus* con 14 % (1/7), *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Micrococcus* con un 29 % (2/7).

Tabla 6. Frecuencia absoluta, relativa e intervalo de confianza al 95%, de la presencia de bacterias en un segundo hisopado de fondo de vagina de yeguas (n=9) un ciclo después de la aplicación con Plasma Rico en Plaquetas (PRP).

Bacteria	Frecuencia Absoluta	Frecuencia relativa	Intervalo de confianza 95%	
<i>Klebsiella</i>	0	0,00	0	0
<i>E. coli</i>	1	33,33	-20	86,7
<i>Staphylococcus coagulasa negativo</i>	1	33,33	-20	86,7
<i>Streptococcus</i>	0	0,00	0	0
<i>Enterococcus</i>	0	0,00	0	0
<i>Micrococcus</i>	1	33,33	-20	86,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0,00	0	0
Total	3	100		

Después de ser realizado un segundo hisopado para comprobar el crecimiento bacteriano, no hubo colonias en muestras intrauterinas, y en las de fondo de vagina se comprobó que hubo disminución de la presencia de bacterias. Con un intervalo de confianza al 95% las bacterias que presentaron una frecuencia baja con un intervalo de confianza que no es diferente de 0 son *E. coli* con 33% (1/3), *Staphylococcus coagulasa negativa* con un 33% (1/3) y *Micrococcus* con 33 % (1/3).

Los resultados de identificación y caracterización de cultivos de hisopados intrauterinos y vaginales de yeguas antes y después de la aplicación del tratamiento con Plasma Rico en Plaquetas (PRP) se representan en la Tabla 7.

Tabla 7. Bacterias aisladas de la flora del tracto reproductivo de yeguas (n=9) antes y después de la aplicación del tratamiento con Plasma Rico en Plaquetas (PRP).

Yegua	Útero		Vagina	
	Antes	Después	Antes	Después
1	<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	<i>Micrococcus*</i>
2	-	<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	<i>Staphylococcus coagulasa negativa*</i>
3	<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	-	<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>
4	<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	-	<i>Enterococcus</i>	-
5	-	-	-	-
6	-	-	-	-
7	-	-	-	<i>Micrococcus</i> <i>E. coli</i>
8	<i>Micrococcus</i> <i>Klebsiella spp</i> <i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>Streptococcus</i> -	<i>Klebsiella spp*</i> <i>Klebsiella spp*</i> -
9	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus*</i>

* El asterisco indica los cultivos con crecimiento bacteriano donde se repitió la toma de muestras dando como resultado negativo.

- Muestras donde no hubo crecimiento bacteriano.

En la flora bacteriana del tracto reproductivo de yeguas (n=9) se determinó que entre los microorganismos no patógenos el de mayor presencia en el útero y vagina es *Staphylococcus* spp y de agentes patógenos *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Micrococcus* encontrados en una sola yegua. Mientras que después de la aplicación del tratamiento con PRP la bacteria que se presentó en mayor frecuencia es *Staphylococcus* spp y de *Micrococcus*.

6.2. Resultados de la prueba de sensibilidad a los antibióticos

Después de realizar el antibiograma, los resultados de resistencia bacteriana a los antibióticos frecuentemente usados en yeguas para tratamientos reproductivos se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Resistencia a diferentes antibióticos de bacterias aisladas (n=28) de hisopados intrauterinos y vaginales de yeguas

Antibiótico	Frecuencia Absoluta	Sumatoria	Frecuencia Relativa	Intervalo de confianza al 95%
Enrofloxacina	5	28	17,86	3,7 - 32
Sulfametoxazol/trimetoprima	6	28	21,43	6,2 - 36,6
Penicilina	27	28	96,43	89,6 - 103,3
Gentamicina	12	28	42,86	24,5 - 61,2
Ampicilina	28	28	100	100 - 100

Considerando el intervalo de confianza al 95% todos los antibióticos mostraron una frecuencia diferente de 0, las bacterias del tracto reproductivo de yeguas tuvieron mayor resistencia a ampicilina en un 100% (28/28) seguido de la penicilina con 96% (27/28), gentamicina con 46% (13/28), sulfametoxazol/trimetoprima con 21% (6/28) y la enrofloxacina con 17% (5/28).

Respecto a la resistencia de las bacterias a penicilina (Tabla 9), considerando el intervalo de confianza al 95%, aquellas que mostraron resistencia con una frecuencia diferente de 0 fueron *Staphylococcus coagulasa negativa* con una frecuencia de resistencia del 44%, *E. coli* con 19% y *Micrococcus* con un 15%. Las bacterias *Klebsiella spp*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus aureus* presentaron una frecuencia baja con un intervalo de confianza que no es diferente de 0.

Tabla 9. Resistencia de bacterias del tracto reproductivo de yeguas (n=9) a penicilina.

Penicilina	Frecuencia Absoluta	Frecuencia relativa	Intervalo de confianza 95%
<i>E.coli</i>	5	18,52	3,9 - 33,2
<i>Klebsiella spp</i>	3	11,11	-0,7 - 23
<i>Streptococcus</i>	0	0	0 - 0
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	12	44,44	25,7 - 63,2
<i>Micrococcus</i>	4	14,82	1,4 - 28,8
<i>Enterococcus</i>	1	3,70	-3,4 - 10,8
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	7,41	-2,5 - 17,3
Total	27	100	

Las bacterias que mostraron resistencia a ampicilina (Tabla 10), con una frecuencia diferente de 0 fueron *Staphylococcus coagulasa negativa* con una frecuencia del 43%, *E. coli* con 18% y *Micrococcus* con un 14%. Las bacterias *Klebsiella spp*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus aureus* presentaron una frecuencia baja con un intervalo de confianza que no es diferente de 0.

Tabla 10. Resistencia de bacterias del tracto reproductivo de yeguas (n=9) a ampicilina

Ampicilina	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa	Intervalo de confianza 95%
<i>E.coli</i>	5	17,86	3,7 - 32
<i>Klebsiella spp</i>	3	10,71	-0,7 - 22,2
<i>Streptococcus</i>	1	3,57	-3,3 - 10,4
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	12	42,86	25 - 61,2
<i>Micrococcus</i>	4	14,29	1,3 - 27,2
<i>Enterococcus</i>	1	3,57	-3,3 - 10,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	7,14	-2,4 - 16,7
Total	28	100,00	

Por otro lado, las bacterias que mostraron resistencia a la gentamicina con una frecuencia diferente de 0 fueron *Staphylococcus coagulasa negativa*, con 31% y *E.coli* con 23% (Tabla 11).

Tabla 11. Resistencia de bacterias del tracto reproductivo de yeguas (n=9) a gentamicina

Gentamicina	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa	Intervalo de confianza 95%
<i>E. coli</i>	3	23,08	0,2 - 46
<i>Klebsiella spp</i>	2	15,39	-4,2 - 35
<i>Streptococcus</i>	0	0	0 - 0
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	4	30,77	5,7 - 55,9
<i>Micrococcus</i>	2	15,39	-4,2 - 35
<i>Enterococcus</i>	1	7,69	-6,8 - 22,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	7,69	-6,8 - 22,2
Total	13	100	

En cuanto a la resistencia de las bacterias del tracto reproductivo de yeguas a Sulfametoxazol/trimetoprima y Enrofloxacin (Tabla 12 y 13), tomando en cuenta el intervalo de confianza al 95%, *Klebsiella spp*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Staphylococcus coagulasa negativa* presentaron una frecuencia baja tomando en cuenta el intervalo de confianza que abarca el 0, por lo tanto baja resistencia a estos antibióticos.

Tabla 12. Resistencia de bacterias del tracto reproductivo de yeguas (n=9) a Sulfametoxazol/trimetoprima.

Sulfametoxazol	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa	Intervalo de confianza 95%
<i>E.coli</i>	2	33,333	-4,4 - 71,1
<i>Klebsiella spp</i>	1	16,667	-13,2 - 46,5
<i>Streptococcus</i>	0	0,000	
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	2	33,333	-4,4 - 71,1
<i>Micrococcus</i>	1	16,667	-13,2 - 46,5
<i>Enterococcus</i>	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0
Total	6	100,000	

Tabla 13. Determinación de la resistencia a la enrofloxacin del tracto reproductivo de yeguas (n=9).

Enrofloxacin	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa	Intervalo de confianza 95%
<i>E. coli</i>	2	40	-2,9 - 82,9
<i>Klebsiella spp</i>	1	20	-15,1 - 55,1
<i>Streptococcus</i>	0	0	0
<i>Staphylococcus coagulasa</i>	0	0	0
<i>Micrococcus</i>	0	0	0
<i>Enterococcus</i>	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	40	-2,9 - 82,9
Total	5	100	

A continuación, se presentan los resultados sobre el índice de Caslick, angulación y coaptación vulvar (tabla 14), y la correlación entre las características vulvares y presencia de bacterias en útero y vagina de yeguas (n=9) se presenta en la (tabla 15)

Tabla 14. Índice de Caslick (a x l), angulación y coaptación vulvar de yeguas (n=9).

Yegua	Coaptación vulvar	Ángulo de inclinación (a)	Longitud vulvar (l)	Índice de Caslick
1	2	5	6,9	34,5
2	1	0	7,8	0
3	1	20	7	140
4	2	0	9	0
5	3	0	9,5	0
6	3	0	9	0
7	1	0	8	0
8	3	30	7,5	225
9	2	10	7,5	75

Tabla 15. Correlación entre características vulvares y presencia de bacterias en útero y vagina en yeguas (n=9).

Medición	Correlación*	Significancia
Peso de yeguas		
vs		
• Longitud de la comisura vulvar		P=0,047
• Ángulo de inclinación	+	P=0,05
• Índice de Caslick	-	P=0,05
	-	
Ángulo de inclinación		
vs		
• Longitud de la comisura vulvar	-	P=0,04
• Índice de Caslick	+	P<0,0001
• <i>Klebsiella</i> spp	+	P=0,057
• <i>Streptococcus</i>	+	P=0,02
Índice de Caslick		
vs		
• <i>Streptococcus</i>		
	+	P=0,007
<i>Klebsiella</i> spp		
vs		
• <i>Streptococcus</i>		
• <i>Staphylococcus aureus</i>	+	P=0,052
	+	P=0,052

*+ Correlación positiva, - Correlación negativa

Al realizar la correlación entre las características vulvares y el crecimiento bacteriano de cultivos de útero y vagina de yeguas se observó que coaptación, longitud de la comisura vulvar, y la presencia de *E. coli*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus coagulasa negativo* y *Staphylococcus aureus* no estuvieron relacionadas entre ellas. Se observó que a mayor peso de las yeguas existe menor ángulo de inclinación e índice de Caslick, mientras que la longitud de la comisura vulvar fue mayor.

Por otro lado, a mayor ángulo de inclinación, mayor fue el índice de Caslick, además se relacionó con la presencia de *Klebsiella* spp y *Streptococcus*. Sin embargo, a mayor ángulo de inclinación, menor resultó la longitud de la comisura vulvar. Existe una mayor presencia de *Streptococcus* en útero y vagina en yeguas con mayor índice de Caslick, y se correlaciona la presencia de *Klebsiella* spp a la presencia de *Streptococcus* y *Staphylococcus aureus*.

7. Discusión

En yeguas existen alteraciones del tracto reproductivo de origen infeccioso como vaginitis, cervicitis, metritis y endometritis; La endometritis bacteriana es una de las principales causas de infertilidad (LeBlanc, 2010; Paredes,2023). Deficiente conformación anatómica y cierre vulvar, permiten aspiración de aire y contaminación del tracto reproductivo (Pycock & Ricketts, 2008), asociado a fallas de las barreras inmunitarias con presentación de infecciones ascendentes (Rivera,2003; Hurtgen, 2006; Ricketts & Troedsson, 2007). Yeguas susceptibles se consideran aquellas que después de 96h de la inoculación de bacterias o espermatozoides aún presentan inflamación endometrial (Woodward, 2012). Un diagnóstico adecuado es fundamental para aplicar el tratamiento correcto.

Robinson *et al.*, (2016) afirman que *Staphylococcus spp* (22%) es la bacteria con mayor aislamiento en útero en yeguas; Otros autores mencionan que es *Escherichia coli* con un 26,6%, 33,3 % y 54,4% seguida de *Staphylococcus spp* con 21,3% (Pardo,2010, Ibrahim *et al.*, 2015; Pacheco,2011). *E. coli* es considerada una bacteria invasora oportunista que forma parte de la flora normal del periné, labios vulvares, vestíbulo posterior y fosa clitorica de la yegua (Overbeck *et al.*, 2011).

Sin embargo, la presencia de *E. coli* en útero se debe a técnicas reproductivas mal realizadas o condiciones perineales predisponentes a contaminación del tracto reproductivo (Gallego *et al.*, 2020). La endometritis causada por *E. coli* tiene menor reacción inflamatoria y edema uterino que infecciones por *Staphylococcus spp* (Burlison, 2010).

En el presente estudio, 33,33% de los hisopados intrauterinos de 9 yeguas tuvieron crecimiento de *Staphylococcus coagulasa negativa* y 11,11% de *E. coli*, resultados que concuerdan con lo mencionado por Robinson *et al.*, (2016), al ser *Staphylococcus spp* la bacteria encontrada con mayor frecuencia.

Un menor porcentaje de yeguas (11,11%) también presentó aislamiento de *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella spp* en útero. En otro estudio, de 88 hisopados uterinos de yeguas, 9,09% tuvieron crecimiento de *Staphylococcus aureus* y 1,14% de *Klebsiella pneumoniae* (Pacheco, 2011). Un trabajo con 30 yeguas Pura Raza Chilena, 6% tuvieron crecimiento de *Klebsiella pneumoniae* (Pardo,2010). Los porcentajes mencionados por estos autores son bajos, similares a los observados en los presentes resultados, aunque se debe considerar que fueron evaluadas menor número de muestras.

Otros autores afirman que *Streptococcus equi subespecie zooepidemicus*, bacteria considerada habitante normal de la microbiota del tracto reproductivo de yeguas, es un agente patógeno oportunista aislado con mayor frecuencia (31,7%) en casos de endometritis (Frontoso *et al.*, 2008). Pacheco (2011), solamente aisló 5,68% de *Streptococcus spp*. En este estudio ninguna yegua presentó crecimiento de *Streptococcus spp* en útero, mientras que una yegua presentó crecimiento a nivel vaginal.

En fondo de vagina, 33,33 % de las yeguas del presente estudio tuvieron crecimiento de *Staphylococcus coagulasa negativo* y 11,11% de *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Staphylococcus aureus*, sin presencia de *E. coli*. Un estudio semejante demostró crecimiento de 45% de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa negativo* en vagina, seguido de 7,5% de *E. coli* y 5% de *Pseudomona aeruginosa* (Mittel, 2009). Otros autores concluyeron que *E. coli* se presenta tanto en vagina como en vulva, y *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus* son las más prevalentes (Herreño *et al.*, 2021).

Algunas de estas bacterias son parte de la microbiota normal del sistema reproductivo de la hembra, y su multiplicación se limita debido a la acción de bacterias saprofitas comunes, sin embargo, su presentación está relacionada con la respuesta inmune del ambiente uterino (Fronoso *et al.*,2008). Se ha determinado que *E. coli* y *Streptococcus equi subespecies*

zooepidemicus son los principales microorganismos encontrados a nivel del tracto reproductivo caudal, que puede ascender al útero tornándose patógenos cuando el sistema inmunitario se ve alterado (Causey, 2006).

En yeguas con conformación vulvar aparentemente normal se encuentran bacterias como *Staphylococcus coagulasa negativo*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp*, y *Escherichia coli* (Bustos & Sánchez, 2004), lo que concuerda con los resultados obtenidos.

La evaluación morfológica del tracto reproductivo de las yeguas es de fundamental importancia en un examen ginecológico, así como también la obtención de muestras uterinas para análisis bacteriológico. Por ello es posible relacionar que la única yegua que presentó crecimiento de *E.coli*, *Klebsiella spp*, y *Streptococcus spp* en tracto reproductivo fue la misma que tenía una conformación vulvar deficiente con mayor ángulo de inclinación, por consecuencia un mayor índice de Caslick, lo que probablemente influyó en la entrada de estas bacterias patogénicas tanto antes como después de la manipulación.

El plasma contiene el sistema complemento, elemento del sistema inmunitario esencial para los mecanismos humorales de defensa frente a agentes infecciosos (Segabinazzi *et al.*, 2021). La administración intrauterina de plasma fortalece las defensas del endometrio en yeguas susceptibles, la fagocitosis uterina de *S.zooepidemicus* es reforzada con el plasma, por los anticuerpos y activación del complemento al promover la opsonización, sin embargo existe controversia sobre su eficacia bactericida (Causey,2006).

La adición de plasma a la terapia con antibióticos después de la IA en yeguas estériles podría mejorar las tasas de preñez (Pascoe,2018). Los péptidos del plasma rico en plaquetas (PRP) tienen actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* (Álvarez *et al.*, 2011). Aparentemente una mayor concentración de

plaquetas en el PRP se correlaciona con un mayor potencial antimicrobiano (Drago *et al.*,2014).

En las muestras intrauterinas estudiadas después de la inseminación artificial (IA) y 48h de la aplicación de PRP con $37,01 \pm 12.13 \times 10^9$ plaquetas totales en útero, se observó 11,11% de crecimiento de *E. coli*, *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Micrococcus*, *Staphylococcus aureus*. Mostrando una reducción del 22,22% de *Staphylococcus coagulasa negativa*, y no se observó ya crecimiento de *Klebsiella spp*, resultados interesantes que se sustentan con lo mencionado por Álvarez *et al.*, (2011).

En fondo de vagina, pós aplicación de PRP hubo crecimiento de 22,22% de *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Micrococcus* y 11,11% *Klebsiella spp*, *E. coli* y *Staphylococcus aureus*. Por lo tanto, existe una disminución de la presencia de bacterias como *Staphylococcus coagulasa negativo*, *Streptococcus*, *Enterococcus* después del tratamiento. La aparición de *Micrococcus* se puede atribuir a la manipulación. En un segundo hisopado, realizado pocos días después para confirmar ese crecimiento bacteriano, no se aislaron bacterias a partir de hisopados uterinos, y se observó mayor reducción de las bacterias de muestras vaginales. Es posible que la activación del complemento, opsonización, y otros mecanismos de defensa humoral uterina (Segabinazzi *et al.*, 2021) demoren más de 48 horas para equilibrar o controlar la flora bacteriana del tracto reproductivo.

La endometritis bacteriana se trata al combinar limpieza uterina, antibioticoterapia y corrección quirúrgica de defectos anatómicos (Causey, 2006). Sin embargo, el uso inadecuado de diferentes antibióticos ha generado resistencia bacteriana en la actualidad (Scofield *et al.*, 2014).

En el presente estudio las bacterias tuvieron mayor resistencia a los betalactámicos y aminoglucósidos. *Staphylococcus coagulasa negativo* presentó resistencia a la mayoría de los

antibióticos, ampicilina, penicilina, gentamicina, sulfa y trimetoprima, similar a lo encontrado por Rathbone et al., (2023) en yeguas con problemas reproductivos.

Se ha determinado que *E. coli* es altamente resistente a ampicilina y penicilina entre otros antibióticos (Frontoso et al., 2008; Rathbone et al., 2023). *E. coli* en este estudio, presentó resistencia a todos los antibióticos testados, inclusive a enrofloxacin en un mayor porcentaje en comparación con dichos estudios.

Staphylococcus aureus ha presentado alta resistencia a los antimicrobianos mencionados (Frontoso et al., 2008; Rathbone et al., 2023), sin embargo, en la presente investigación esta bacteria fue sensible a la mayoría de los antibióticos, pero presentó evidente resistencia (40%) a enrofloxacin.

Según Luque *et al.*, en el 2006, la enrofloxacin es recomendada en el tratamiento de endometritis bacteriana. Estudios realizados por Albiñ *et al.*, (2003), encontraron que la enrofloxacin es el único antibiótico al cual la mayoría de bacterias comunes en endometritis en yeguas no presentaron resistencia. La resistencia a los antibióticos se convierte cada vez más en un problema de salud de gran importancia (Oliver et al., 2000; De Graef et al., 2004).

De acuerdo a los resultados obtenidos, *Staphylococcus coagulasa negativa* y *E. coli* son bacterias que se consideran de alto riesgo debido a su elevada resistencia a antibióticos. La antibioticoterapia elegida para el tratamiento de endometritis debe incluir estudios de sensibilidad, de manera que se pueda instaurar un tratamiento apropiado evitando la resistencia con el fin de eliminar microorganismos y restaurar el endometrio (Blanchard *et al.*, 2003). Es importante señalar que las presiones de selección del entorno, como el uso de antimicrobianos para otras infecciones, o animales no equinos, podrían conducir a infecciones de bacterias con múltiple resistencia a antibióticos en el útero a pesar de los mejores esfuerzos para garantizar la bioseguridad en la cobertura.

8. Conclusiones

- Al realizar la identificación de bacterias presentes en el tracto reproductivo de 9 yeguas, fue posible caracterizar 5 bacterias de 7 muestras intrauterinas con crecimiento bacteriano y 4 bacterias en 6 muestras positivas de fondo de vagina. La bacteria encontrada con mayor frecuencia fue *Staphylococcus coagulasa negativa*, con una presencia de más del 43 y 50% de las muestras respectivamente.
- Con la aplicación de plasma rico en plaquetas (PRP), a las 48 horas hubo una disminución del crecimiento bacteriano en el útero, además de haber alteración de la frecuencia de las bacterias presentes en ambas estructuras estudiadas.
- Los agentes bacterianos presentaron resistencia a diferentes antibióticos de hisopados intrauterinos y vaginales de yeguas con respecto a ampicilina en un 100%, penicilina con 96% y gentamicina con 46%.
- *Staphylococcus coagulasa negativa* presentó una resistencia importante a los betalactámicos siendo 44% a penicilina y de 43% a ampicilina, además de ser resistente a aminoglucósidos con 31% a gentamicina.

9. Recomendaciones

- Utilizar el plasma rico en plaquetas (PRP) como tratamiento no tradicional que posee propiedades antimicrobianas reduciendo el uso de antibióticos.
- Realizar antibiograma antes de la antibioticoterapia es de extrema importancia para evitar infecciones de origen bacteriana con múltiple resistencia a antibióticos.
- No usar ampicilina y penicilina (betalactámicos) sin antes realizar estudios de sensibilidad.

10. Bibliografía

- Acosta Urrea A, Álvarez Rivera AE. Estudio retrospectivo de cultivos endometriales determinando los agentes bacterianos y su resistencia o sensibilidad a un grupo de antimicrobianos en yeguas [tesis de grado]. Bogotá [internet]: Universidad de La Salle [citado 2019 mar 15]. Disponible en https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1244&context=medicina_veterinaria
- Annandale, A., R. M. Stroehle, M. L. Schulman, K. P. Sibeko-Matjila, G. T. Fosgate, J. Handler, D. C. Vemming, and S. J. Clift. 2018. "Influence of Cycle Stage, Age and Endometrial Biopsy Score on Oxytocin Receptor Distribution and Gene Expression in the Cervix and Uterus of Non-Pregnant Mares." *Theriogenology* 120. doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.07.013.
- Andrade Souza, F., Pérez Osorio, J., D'Oliveira-Sousa, A., Do Vale Filho, V. R., Marc, H., Chacón J., L., & Arias, S. A. (2011). *Foliculogénesis y ovulación en la especie equina*. Revista de Medicina Veterinaria, 22, 43. <https://doi.org/10.19052/mv.563>
- Aldaz, B. (2015). "Utilización de prostaglandinas para sincronización de celos en yeguas con tres diferentes tipos de manejo". Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador. Recuperado de <https://bit.ly/3xomKRf>
- Albihn A, Båverud V, & Magnusson U. (2003). Uterine microbiology and antimicrobial susceptibility in isolated bacteria from mares with fertility problems
- Argüelles, D., J. U. Carmona, F. Climent, E. Muñoz, and M. Prades. 2008. "Autologous Platelet Concentrates as a Treatment for Musculoskeletal Lesions in Five Horses." *Veterinary Record* 162(7). doi: 10.1136/vr.162.7.208.
- Brinsko, S., Blanchard, T., Varner, D., Schumacher, J., Love, C. H., & Hinrichs, K. (Ed.) (2011) *Manual of Equine Reproduction*, third ed. Maryland Heights, Missouri Editorial: Mosby.
- Benavides-Plascencia L, A.-O. A. (2005). Vigilancia de los niveles de uso de antibióticos y perfiles de resistencia bacteriana
- Breeding-Induced Endometritis in Mares - a Multifaceted Challenge: From Clinical Aspects to Immunopathogenesis and Pathobiology." *International Journal of Molecular Sciences* 21(4).
- Blanchard, T. L., Varner, D. D., Schumacher, J., Love, C. C., Brinsko, S. P., Rigby, S. L., & Schumacher, J. (2003). *Endometritis*. *Manual of equine reproduction*, 59-68

- Brinsko, S. P., Blanchard, T. L., Varner, D. D., Schumacher, J., Love, C. C., Hinrichs, K., & Hartman, D. (2011). *Manual of equine reproduction* (3.a ed.). Missouri, Elsevier, 332 p.
- Benko T, Boldizar M, Novotny F, Hura V, Valocky I, Dudrikova K, Karamanova M, Petrovic V. Incidence of bacterial pathogens in equine uterine swabs, their antibiotic resistance patterns, and selected reproductive indices in English thoroughbred mares during the foal heat cycle. *Veterinaria Medicina*. 2015;60(11):613-20. <https://doi.org/10.17221/8529-VETMED>
- Burleson MD, LeBlanc MM, Riddle WT, Hendricks K. Endometrial microbial isolates are associated with different ultrasonographic and endometrial cytology findings in Thoroughbred mares. *AAEP Proceedings*. 2010;56:317.
- Canisso IF, Coutinho DS. Bacterial endometritis. En: *Robinson's current therapy in equine medicine*. 7a ed. St. Louis, MO: Elsevier; 2015. p. 683-688. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-4555-5.00163-1>
- Carmona, J. U., D. Argüelles, F. Climent, and M. Prades. 2007. "Autologous Platelet Concentrates as a Treatment of Horses with Osteoarthritis: A Preliminary Pilot Clinical Study." *Journal of Equine Veterinary Science* 27(4):167–70. doi: 10.1016/j.jevs.2007.02.007.
- Causey R. (2007). Uterine therapy formares with bacterial infections. In: Samper J, Pycock J, McKinnon A (eds). *Current therapy in equine reproduction*. USA: Saunders. p 105-115.
- Causey, R. C. (2006). Making sense of equine uterine infections: the many faces of physical clearance. *The Veterinary Journal*, 172 (3), 405-421
- Canisso, Igor F., and Marco A. Coutinho Da Silva. 2015. "Bacterial Endometritis." Pp. 683–88 in *Robinson's Current Therapy in Equine Medicine: Seventh Edition*. Elsevier Inc.
- Canisso, Igor F., Lorenzo G. T. M. Segabinazzi, and Carleigh E. Fedorka. 2020. "Persistent Breeding-Induced Endometritis in Mares - a Multifaceted Challenge: From Clinical Aspects to Immunopathogenesis and Pathobiology." *International Journal of Molecular Sciences* 21(4).
- Christoffersen, M. y Troedsson, M.H.T. (2017). *Inflammation and fertility in the mare*. *Reproduction in Domestic Animals*. (52), 14-20. doi: 10.1111/rda.13013.
- Chicharro-Alcántara, Deborah, Mónica Rubio-Zaragoza, Elena Damiá-Giménez, José M. Carrillo-Poveda, Belén Cuervo-Serrato, Pau Peláez-Gorrea, and Joaquín J. Sopena-Juncosa. 2018. "Platelet Rich Plasma: New Insights for Cutaneous Wound Healing Management." *Journal of Functional Biomaterials* 9(1).

- Collard WT, Cox SR, Lesman SP, Grover GS, Boucher JF, Hallberg JW, et al. Pharmacokinetics of ceftiofur crystalline-free acid sterile suspension in the equine. *Vet Pharmacol.* 2011;34(5):476-81. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2011.01266.x>
- Cunningham, JG y Klein, BG (2009). *Fisiología veterinaria* (4a. ed.). Barcelona [etc.]: Elsevier.
- CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 4 th ed. CLSI Standard M27. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017. 14.
- CLSI. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 1st ed. CLSI Supplement M60. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.
- Dascanio, John J. 2009. "How and When to Treat Endometritis With Systemic or Local Antibiotics." *Clinical Theriogenology 1*.
- DAVIES, M. C., LAWLOR, O., & NASH, D.M. *Equine endometrial cytology and bacteriology: effectiveness for predicting live foaling rates*. En: *Vet J.*, 2013. vol. 198, nro 1. Pp. 206-211. {En línea}. Disponible en: <https://cutt.ly/uyEmEgo>
- Dyce KM (2003). *Anatomía Veterinaria*. México D.F, Mc. Graw-Hill Interamericana, 956 p
- Ettinger, SJ y Feldman, EC (2000) *Textbook of Veterinary Internal Medicine—Diseases of the Dog and Cat*. Segunda edición, WB Saunders Co., Filadelfia, 402-406.
- Eaton S, Raz T, Chirino-Trejo M, Bergermann J. *Comparison of endometrial inflammation following intrauterine inoculation with genital strains of Streptococcus equi subsp zooepidemicus or Escherichia coli in the mare*. *Anim Reprod Sci.* 2010;121(supl. 1-2);101-2. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.04.167>
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Antifungal Agents Breakpoint tables for interpretation of MICs [Internet]. 2015 [citado 25 de noviembre de 2019]. Disponible en: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/AFST/Clinical_breakpoints/Antifungal_breakpoints_v_9.0_1_80212.pdf
- Ferris RA. Therapeutics for infectious endometritis: a clinical perspective. *Rev Bras Reprod Anim.* 2017;41(1):175-9. Obtenido de <https://pesquisa.bvsalud.org/bvs-vet/resource/pt/vti-17298>.
- Feldman, E. (2000). Chapter 162. *The Cystic Endometrial Hiperplasia - Piometra Complex and Infertility in Female*. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Vol. 2. ETTINGER,S.
- Ferris, R. A. (2015). Mating-Induced Endometritis. In *Robinson's Current Therapy in Equine Medicine (Seventh Edition)* 692-694.

- Ferris, R. (2017). *Current understanding of bacterial biofilms and latent infections: A clinical perspective*. Equine Reproduction Laboratory, Colorado State University. Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, v.41, n.1, p.74-80,
- Frontoso R, De Carlo E, Pasolini M, van der Meulen K, Pagnini U, Iovane G, et al. Retrospective study of bacterial isolates and their antimicrobial susceptibilities in equine uteri during fertility problems. Res Vet Sci. 2008;8:1-6.
- Gaitskell-Phillips, G. & Ortega-Ferrusola, C. (2020). Nuevos avances en el tratamiento de la endometritis en la yegua. Revista Equinus, 34, 22-29.
- Goodman, Gilman. Las bases farmacológicas de la Terapéutica. P.e.: 11 ed. Parte XI, Capítulo 44. México DF: Editorial Médica Panamericana, 2007: part 11, cap 44:991-1017
- Ginther, O. (1979). *Reproductive biology of mare*. Basic and applied aspects. Equiservices, Crodd Plains. Wisconsin: Mc Maughton and Gunn
- Gajos, K., Kozdrowski, R., Nowak, M., & Siemieniuch, M. J. (2015). *Altered secretion of selected arachidonic acid metabolites during subclinical endometritis relative to estrous cycle stage and grade of fibrosis in mares*. Theriogenology, 84(3), 457-466. Recuperado de doi: 10.1016/j.theriogenology.2015.03.038.
- Ginther, O. J., Gastal, E. L., Rodrigues, B. L., Gastal, M. O. y Beeg, M. A. (2008). *Follicle diameters and hormone concentrations in the development of single versus double ovulations in mares*. Theriogenology, 69, 583-590.
- Ginther, OJ. (1993). *Major and minor follicular waves during the equine estrous cycle*. Journal of Equine Veterinary Sciences. 13:18-25. Doi:10.1016/S0737-0806(07)80012-8
- Gutjahr S, Paccamonti DL, Pycock JF, Taverne MA, Dieleman SJ, van der Weijden GC. (2000). *Effect of dose and day of treatment on uterine response to oxytocin in mares*. Theriogenology. 54(3):447-56. Recuperado de <https://bit.ly/3zkZfdi>
- Hurtgen J. 2006. Pathogenesis and treatment of endometritis in the mare: a review. Theriogenology 66: 560-566. doi: 10.1016/j.theriogenology.2006.04.006
- Katila, T. (2016) Evaluation of diagnostic methods in equine endometritis. Reproductive Biology 16 (3), 189 – 196
- Lang, Siegmund, Markus Loibl, and Marietta Herrmann. 2018. "Platelet-Rich Plasma in Tissue Engineering: Hype and Hope." European Surgical Research 59(3-4):265-75.
- LeBlanc MM, Causey RC. (2009) Clinical and subclinical endometritis in the mare: Both Threats to Fertility. Reprod Domest Anim. 44(supl. 3):10-22. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01485.x>

- LeBlanc, M. M. (2010). Advances in the diagnosis and treatment of chronic infectious and post-mating-induced endometritis in the mare. *Reproduction in Domestic Animals*, 45, 21–27.
- Lögters, T., Margraf, S., Altrichter, J., Cinatl, J., Mitzner, S., Windolf, J., & Scholz, M. (2009). The clinical value of neutrophil extracellular traps. *Medical microbiology and immunology*, 198(4), 211.
- Liu, I. K. M. & Troedsson, M. H. T. (2008). The diagnosis and treatment of endometritis in the mare: yesterday and today. *Theriogenology*, 70(3), 415-420.
- Li, Jing, Yufei Zhao, Yu Gao, Yiping Zhu, G. Reed Holyoak, and Shenming Zeng. 2021. “Treatments for Endometritis in Mares Caused by *Streptococcus Equi* Subspecies *Zooepidemicus*: A Structured Literature Review.” *Journal of Equine Veterinary Science* 102:103430. doi: 10.1016/J.JEVS.2021.103430
- Luque, I., Fernández-Garayzábal, J. F., Blume, V., Maldonado, a., Astorga, R., & Tarradas, C. (2006). Molecular typing and anti-microbial susceptibility of clinical isolates of *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus* from equine bacterial endometritis. *Journal of Veterinary Medicine Series B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, 53(9), 451–454.
- Millares-Ramirez, and Ghislaine A. Dujovne. 2020. “Randomized Comparative Trial of Acupuncture and Exercise Versus Uterine Ecbolics in the Treatment of Persistent Postbreeding Endometritis in Mares.” *Journal of Equine Veterinary Science* 86. doi: 10.1016/j.jevs.2019.102821.
- Morel, M. D. C. G., & Berasategui, L. A. (2006). *Fisiología de La Reproducción de Los Équidos*, Cría y Manejo de La Yeguada. ACRIBIA.
- Martinez S. (2019). *Endometritis en la yegua: Diagnóstico y Tratamiento*. Universidad de Santiago de Compostela. Recuperado de <https://minerva.usc.es/xmlui/handle/10347/20539>
- Mensa J, Gatell JM, Azanza JR, Domínguez-Gil A, García JE, Jiménez de Anta MT, et al. Guía de Terapéutica Antimicrobiana 2007. 17.^a ed. Barcelona: Elsevier Masson; 2007.
- Maguiña-Vargas, Ciro, Ugarte-Gil, César Augusto, & Montiel, Marco. (2006). Uso racional y adecuado de los antibióticos. *Acta Médica Peruana*, 23 (1), 15-20. Recuperado en 09 de noviembre de 2022, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172006000100004&lng=es&tlng=en.
- Morris, L. H A., M McCue, P. & Aurich, C. (2020). Equine endometritis: a review of challenges and new approaches. *Reproduction*, 160(5), 95–110.

- Paredes Cañón, Astrid Lucila, Pérez Osorio, Jair, González Rodríguez, Aldemar, Andrade Souza, Fernando, Mora Ruiz, Daniela, Mendoza-Sánchez, Geovanny, Diaz Sacristán, Paula Katherine, & Moreno Sánchez, Ana Milena. (2023). Reporte de caso clínico: endometritis crónica en una yegua criolla colombiana. *Revista Logos Ciencia & Tecnología*, 15 (1), 68-86. Epub 11 de diciembre de 2022. <https://doi.org/10.22335/rlct.v15i1.1686>.
- Pereira, Roberta Carneiro da Fontoura, Flávio Desessards De La Côte, Karin Erica Brass, Marcos da Silva Azevedo, Miguel Gallio, Camila Cantarelli, Stefano Leite Dau, Alfredo Skrebsky Cezar, and Maria Andréia Inkelmann. 2019. "Evaluation of Three Methods of Platelet-Rich Plasma for Treatment of Equine Distal Limb Skin Wounds." *Journal of Equine Veterinary Science* 72. doi: 10.1016/j.jevs.2017.10.009.
- Piedra, Silvia E. Castro, and Karla A. Arias Varela. 2020. "Actualización En Plasma Rico En Plaquetas." *Acta Médica Costarricense* 61(4). doi: 10.51481/amc.v61i4.1044.
- Pycock, J.; Ricketts, S. 2008. Perineal and cervical abnormalities. Proceeding of the 10th International Congress of World equine veterinary Association, Moscow, Russia. pp 257-268.
- Rebordão, M. R., Carneiro, C., Alexandre-Pires, G., Brito, P., Pereira, C., Nunes, T., & Ferreira-Dias, G. (2014). Neutrophil extracellular traps formation by bacteria causing endometritis in the mare. *Journal of reproductive immunology*, 106, 41-49.
- Rasmussen, C. D., Haugaard, M. M., Petersen, M. R., Nielsen, J. M., Pedersen, H. G., & Bojesen, A. M. (2013). *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus* isolates from equine infectious endometritis belong to a distinct genetic group. *Veterinary Research*, 44(1), 26
- Rivera G. 2003. Caracterización histopatológica del endometrio de yeguas con antecedentes clínico-reproductivos de subfertilidad. Tesis de Médico Veterinario. Valdivia, Chile: Univ. Austral de Chile. 60 p.
- Rink, B. E., Beyer, T., French, H. M., Watson, E., Aurich, C. & Donadeu, F. X. (2018). The fate of autologous endometrial mesenchymal stromal cells after application in the healthy equine uterus. *Stem Cells and Development*, 27(15), 1046–1052.
- Ricketts S, Troedsson M. 2007. Female reproductive problems: diagnosis and management. In: Samper J, Pycock J, McKinnon A (eds). *Current therapy in equine reproduction*. USA: Saunders. p 53-69.

- Salas,G. (2022). *Conformación de grupo e índice de Caslick en yeguas de raza caballo peruano de paso*. Universidad Científica del Sur. Rev.Med. Veterinario. no.44. ISSN 0122-9354
Versión en línea ISSN 2389-8526
- Scoggin, Charles F. 2016. “Endometritis: Nontraditional Therapies.” *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice* 32(3):499–511. doi: 10.1016/j.cveq.2016.08.002.
- Scofield D, Black J, Wittenburg L, Gustafson D, Ferris R, Hatzel J, Traub-Dargatz J, Mccue P. Endometrial tissue and blood plasma concentration of ceftiofur and metabolites following intramuscular administration of ceftiofur crystalline free acid to mares. *Equine Vet J*. 2014;46(5):606-10. <https://doi.org/10.1111/evj.12192>
- Scott, C. J. 2020. “A Review of Fungal Endometritis in the Mare.” *Equine Veterinary Education* 32(8).
- Swift, Laura A., Bruce W. Christensen, Mollie B. Samocha, Sarah S. le Jeune, Esther M.
- Segabinazzi, L. G., Canisso, I. F., & DACT, D. E. R. (2021). How to Prepare Platelet-Rich Plasma for Use in Reproductive Practices with Mares. Canisso, Igor F., Lorenzo G. T. M. Segabinazzi, and Carleigh E. Fedorka. 2020. “Persistent Breeding-Induced Endometritis in Mares - a Multifaceted Challenge: From Clinical Aspects to Immunopathogenesis and Pathobiology.” *International Journal of Molecular Sciences* 21(4).
- Tizard, Ian. 2018. “Veterinary Immunology, 10th Edition.” Elsevier.
- Tizard, Ian r. 2018. *Introducción a la Inmunología Veterinaria*. Vol. 53.
- Vega, F. J. P. (2011). Veterinaria: Causas de infertilidad en la yegua: Complejo Endometritis. *ExtremaduraPRE: la revista de la Asociación Extremeña de Criadores de Caballos de Pura Raza Española*, (10), 25-29.
- Youngquist, R. S., & Threlfall, W. R. (2007). *Current Therapy In Large Animal 2 (2.aed.)* [Libro electrónico]. Elsevier Gezondheidszorg.
https://www.researchgate.net/profile/Ahmed_Ali117/post/nitrogen_tank-where_to_apply_the_temperature_sensor/attachment/59d640ebc49f478072eaa8ea/AS%3A273792432050178%401442288610180/download/Current+Therapy+in+Large+Animal+Therigenology+2nd+Edition+.pdf

11. Anexos

Anexo 1. Sensibilidad bacteriana a antibióticos de muestras aisladas del tracto reproductivo de yeguas.

Bacteria	Muestra	Penicilina	Ampicilina	Gentamicina	Enrofloxacina	Sulfa
<i>Klebsiella spp</i>	8U	Resistente	Resistente	1 Resistente	Sensible	1 Sensible
	8.2.1V	Resistente	Resistente	1 Intermedio	Sensible	1 Intermedio
	9.2V	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
	1.2V	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible
<i>E. coli</i>	7.2V	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible
	8.2.2V	Resistente	Resistente	Intermedio	Sensible	Sensible
	9U	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
	9.2U	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	1V(s)	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible
	1U(s)	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible
	1V(sm)	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible
	1U(sm)	Resistente	Resistente	Intermedio	Sensible	Intermedio
	2.2V	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible
	2.2U	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible
	2V	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Intermedio
	3U	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Resistente
	3V	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Resistente
	3.2V	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible
	4U(sm)	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible
	4U(s)	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible
<i>Streptococcus</i>	8	Sensible	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible
<i>Enterococcus</i>	4	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Intermedio
<i>Micrococcus</i>	1.2 U	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible
	1.2 V	Resistente	Resistente	Sensible	Sensible	Resistente
	7	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Intermedio
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible	Intermedio
	9.2 U	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible
	9.2 V	Resistente	Resistente	Sensible	Resistente	Sensible

Anexo 2. *Evaluación mediante palpación rectal*



Anexo 3. *Evaluación ecográfica*



Anexo 4. *Recolecta de semen*



Anexo 5. *Observación de semen recolectado*



Anexo 6. *Preparación de Botusemen en laboratorio*



Anexo 7. *Preparación de materiales para toma de muestras*



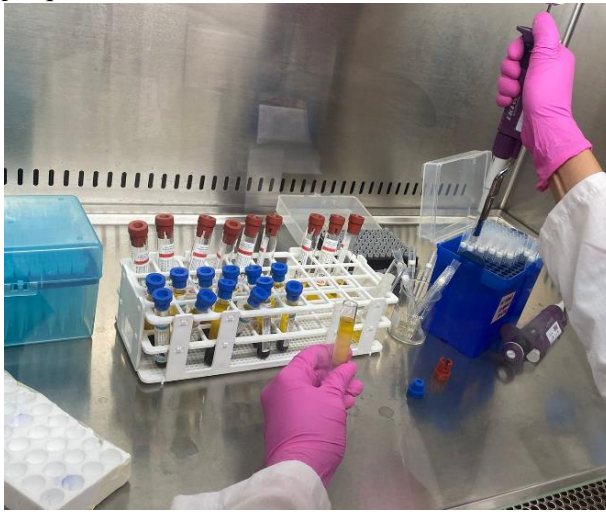
Anexo 8. *Toma de muestras uterinas y vaginales*



Anexo 9. *Recolecta de muestras uterinas y vaginales en el medio de transporte Stuart*



Anexo 10. *Procesamiento del plasma rico en plaquetas*



Anexo 11. *Toma de muestras de sangre*



Anexo 12. *Crecimiento bacteriano en medio de cultivo Agar Sangre.*



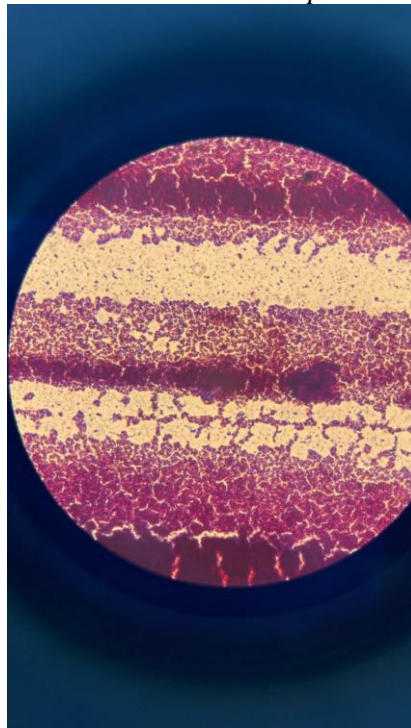
Anexo 13. *Cultivo bacteriano en agar*



Anexo 14. *Crecimiento bacteriano en Agar EMB*



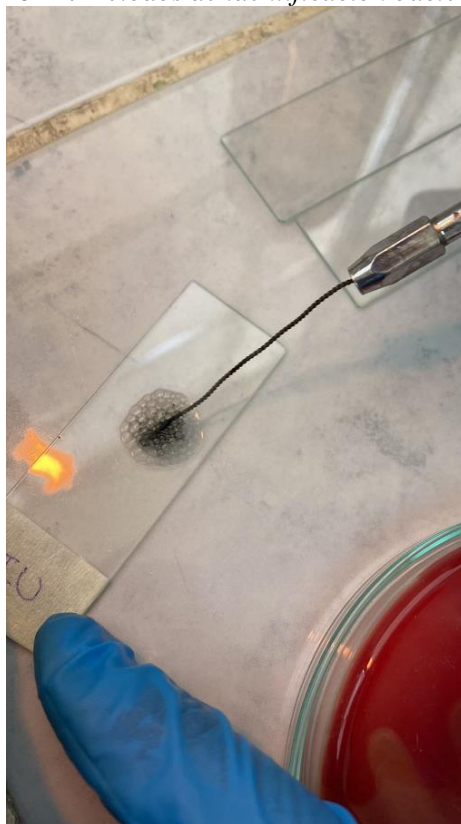
Anexo 15. *Observación microscópica de bacterias*



Anexo 16. Métodos de identificación bacteriana



Anexo 17. Métodos de identificación bacteriana



Anexo 18. *Evaluación de la conformación vulvar*



Anexo 19. *Correlación entre características vulvares y bacterias aisladas de útero y vagina de yeguas (n=9).*

	Yegua	Peso	Coaptación	Longitud comisura vulvar	Ángulo de inclinación	Índice de Caslick	<i>E. coli</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Yegua	1	0,325	-0,105	0,380	-0,501	-0,474	-0,520	-0,207	-0,547	-0,414	0,346	0,273
Peso		1	0,277	0,671	-0,663	-0,652	-0,489	-0,450	-0,555	-0,133	-0,367	-0,040
Coaptación			1	0,494	0,173	0,215	0	0,327	0,433	-0,327	-0,548	0
Longitud comisura vulvar				1	-0,459	-0,403	-0,555	-0,317	-0,209	-0,347	-0,352	-0,209
Ángulo de inclinación					1	0,997	0,234	0,636	0,795	-0,356	-0,026	0,046
Índice de Caslick						1	0,221	0,646	0,812	-0,382	-0,047	0,043
<i>E. coli</i>							1	0,598	0,395	0,598	-0,350	0,395
<i>Klebsiella</i>								1	0,661	-0,286	-0,478	0,661
<i>Streptococcus</i>									1	-0,189	-0,316	-0,125
<i>Micrococcus</i>										1	0,060	-0,189
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>											1	-0,316
<i>Staphylococcus aureus</i>												1

*Todos los valores de r en negrita tienen valor de $p \leq 0,05$.

English Speak Up Center

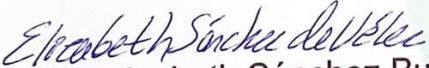
Nosotros "English Speak Up Center"

CERTIFICAMOS que

La traducción del resumen de tesis "INFLUENCIA DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS SOBRE LA FLORA BACTERIANA DEL TRACTO REPRODUCTIVO DE YEGUAS." documento adjunto solicitado por la señorita Andrea Marisol Cumbicus Alba con cédula de ciudadanía número 1900470103 ha sido realizada por el Centro Particular de Enseñanza de Idiomas "English Speak Up Center"

Esta es una traducción textual del documento adjunto. El traductor es competente y autorizado para realizar traducciones.

Loja, 19 de mayo de 2023


Mg. Sc. Elizabeth Sánchez Burneo
DIRECTORA ACADÉMICA

DIRECCIÓN: SUCRE 207-46 ENTRE AZUAY Y MIGUEL RIOFRIO

TELÉFONO: 099 5263 264