



# UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

## ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

### CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“DETERMINACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN  
EL MOCO CERVICAL DE VACAS LECHERAS POST PARTO DE LAS  
GANADERÍAS DE LA HOYA DE LOJA”

Tesis de grado previo a la obtención  
al título de Médica Veterinaria  
Zootecnista

**Autora:** Mirian Margoth Ayora Ordoñez

**Director:** Dr. Tito Ramiro Muñoz Guarnizo Mg. Sc.

Loja – Ecuador

## CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS


Dr. Tito Ramiro Muñoz Guarnizo Mg. Sc

**DIRECTOR DE TESIS**

**CERTIFICA:**

Que el presente trabajo de investigación denominado “**DETERMINACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL MOCO CERVICAL DE VACAS LECHERAS POST PARTO DE LAS GANADERÍAS DE LA HOYA DE LOJA**” realizada por la egresada Mirian Margoth Ayora Ordoñez, previo a la obtención del título de Medica Veterinaria Zootecnista, ha sido dirigido y prolijamente revisado desde el inicio de su ejecución; por lo tanto, se autoriza su presentación para la calificación correspondiente.

Loja 02 de Marzo del 2016.

  
Dr. Tito Ramiro Muñoz Guarnizo Mg. Sc

**DIRECTOR DE TESIS**

# **CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO**

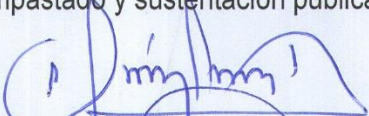
**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**


**AREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES  
RENOVABLES CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y  
ZOOTECNIA**

## **CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO**

### **CERTIFICA:**

Que, luego de haber procedido a la calificación de Tesis escrita del trabajo de la investigación titulado **“DETERMINACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL MOCO CERVICAL DE VACAS LECHERAS POST PARTO DE LAS GANADERÍAS DE LA HOYA DE LOJA”**, de la señorita egresada, Mirian Margoth Ayora Ordoñez; y, al haber constatado que se ha incluido en el documento las observaciones y sugerencias realizadas por los miembros del Tribunal, autorizamos a la interesada, continuar con los trámites correspondientes para su impresión, empastado y sustentación publica del referido trabajo de investigación.

  
Dr. Julio Ignacio Gómez Orbez Esp.  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

  
Dr. Héctor Francisco Castillo Castillo Mg.Sc.  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

  
Dr. Vladimir Rodríguez Mg.Sc  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**  
**ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES**  
**RENOVABLES**

**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y**

**ZOOTECNIA**

**AUTORÍA**

Yo, Mirian Margoth Ayora Ordoñez declaro ser el autor del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

**Autora:** Mirian Margoth Ayora Ordoñez

**Firma:**

**Cedula:** 1105212011

**Fecha:** Loja 02 de Marzo del 2016

**CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL, Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO.**

Yo **Mirian Margoth Ayora Ordoñez** declaro ser autor de la tesis titulada: **“DETERMINACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL MOCO CERVICAL DE VACAS LECHERAS POST PARTO DE LAS GANADERÍAS DE LA HOYA DE LOJA”**, como requisito para optar al grado de **Médica Veterinaria Zootecnista**, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional:

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, 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 de la Tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los diez y seis días del mes de enero del dos mil dieciséis, firma el autor.

**FIRMA:** .....

**AUTOR:** Mirian Margoth Ayora Ordoñez

**CEDULA:** 1105212011

**DIRECCIÓN:** Loja (Loja)

**CORREO ELECTRÓNICO:** margothsag7@gmail.com

**TELÉFONO:** 0968267433

**DATOS COMPLEMENTARIOS**

**Director de Tesis:**

Dr. Tito Ramiro Muñoz Guarnizo Mg Sc.

**Tribunal de Grado:**

Dr. Ignacio Gómez Orbes Esp.

Dr. Héctor Francisco Castillo Castillo Mg.Sc.

Dr. Vladimir Rodríguez Mg.Sc.

## **AGRADECIMIENTO**

El presente trabajo de tesis primeramente me gustaría agradecerle a Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado.

Mis más sincera Reconocimiento y Afecto a la Universidad Nacional de Loja, al Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables a la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia a los Docentes, compañeros y amigos que formaron piezas fundamentales para el logro de esta meta en mi vida.

Agradecimientos sinceros para mi director de tesis Dr. Tito Ramiro Muñoz Guarnizo Mg Sc, quien brindo información relevante, próxima, pero muy cercana a la realidad de nuestras necesidades. Los cuáles plasmaron nuestros resultados investigativos en diseños originales, atractivos y de gran realce para el éxito del proyecto.

Sin poder olvidarme de las distintas personas llenas de cooperación que nos ayudaron desinteresadamente e hicieron posible la recolección de las muestras para este proyecto, sinceramente mil gracias, sin ustedes no se hubiese podido realizar este proyecto de tesis

## DEDICATORIA

La presente investigación dedico de manera muy especial a Dios que es y ha sido mi fortaleza, con todo amor y cariño a mis Padres Lider Eduardo y Miria Esperanza, a mis Hermanas, quienes con su apoyo constante y paciencia han colaborado para poder culminar unas de mis metas.

*Mirian Margoth Ayora Ordoñez*

## INDICE GENERAL

Contenido	Pág.
PORTADA .....	i
CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS .....	¡Error! Marcador no definido.
CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO .....	ii
AUTORÍA.....	¡Error! Marcador no definido.
CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS.....	v
AGRADECIMIENTO .....	vi
DEDICATORIA .....	vii
INDICE GENERAL .....	viii
ÍNDICE DE CUADROS .....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xiii
RESUMEN.....	xv
SUMMARY .....	xvi
1 INTRODUCCIÓN .....	1
2 REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 FLORA BACTERIANA .....	3
2.1.1. Microbiota Normal Vaginal y Uterina.....	3
2.1.2. Aislamiento de Bacterias Anaerobias .....	4
2.2. ENFERMEDDES RELACIONADAS CON EL TRACTO REPRODUCTIVO.....	5
2.2.1. Enfermedades Virales .....	5
2.2.2. Enfermedades Bacterianas.....	7
2.2.3. Enfermedades Micóticas.....	11
2.2.4. Bacterias Aisladas del Tracto Reproductor.....	12
2.3. MICROORGANISMOS EN VACAS CON INFECCIONES CLÍNICAS.....	14
2.4. TINCIONES.....	16
2.4.1. Tinción de Gram.....	16



2.4.2.	Tinción de Ziehl Neelsen.....	17
2.4.3.	Lugol.....	20
2.4.4.	Hidróxido de Potasio .....	21
3.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	22
3.1.	MATERIALES.....	22
3.1.1.	Materiales de Campo .....	22
3.1.2.	Materiales de Oficina .....	22
3.1.3.	Materiales de Laboratorio .....	23
3.2.	MÉTODOS .....	24
3.2.1.	Ubicación del Área de Estudio .....	24
3.2.2.	Delimitación del Área de Estudio .....	25
3.2.3.	Tamaño y Selección de la Muestra.....	25
3.2.4.	Toma de la Muestra .....	27
3.2.5.	Análisis de Laboratorio.....	28
3.2.6.	Análisis Estadístico .....	30
3.2.7.	Variables a Evaluar .....	30
4.	RESULTADOS .....	31
4.1.	ASPECTO FÍSICO DEL MOCO CERVICAL EN VACAS POST-PARTO.....	31
4.1.1.	Color.....	31
4.1.2.	Olor.....	31
4.1.3.	Densidad del Moco Cervical .....	31
4.2.	pH VAGINAL .....	32
4.2.1.	Según la Raza .....	32
4.2.2.	Según la Edad de los Animales .....	33
4.2.3.	Según el Número de Partos .....	34
4.2.4.	Según el Puerperio.....	35
4.2.5.	pH Vaginal Según la Condición Corporal.....	36

4.4.	..... TIPO DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL MOCO CERVICAL DE VACAS POST- PARTO .....	37
4.4.1.	Microorganismos Encontrados Mediante la Coloración de Gram y Según la Edad de los Animales.....	38
4.4.2.	Microorganismos Encontrados Mediante la Coloración de Gram Según ..... el Número de partos.....	39
4.4.3.	Microorganismos Encontrados Mediante la Coloración de Gram Según ..... los Días Post Parto.....	40
4.4.4.	Microorganismos Encontrados con la Coloración de Gram según la Condición Corporal.....	41
4.4.5.	Microorganismos Encontrados Mediante la Coloración de Gram Según la Raza.....	42
4.4.6.	Formas de Bacterias Cocoides Encontradas Mediante la Coloración de Gram y Según el Número de Partos .....	43
4.4.7.	Formas de Bacterias Cocoides Encontradas Mediante la coloración de Gram y Según el Puerperio.....	44
4.4.8.	Formas de Bacterias Cocoides Encontradas en la Coloración de Gram Según la Condición Corporal.....	45
4.4.9.	Forma de Bacterias Cocoides Encontradas en la Coloración de Gram Según la Edad .....	46
4.4.10.	Forma de Bacterias Cocoides Encontradas Mediante la Coloración de Gram ..... Según la Raza.....	47
4.4.11.	Formas Bacilares Encontrados en la Coloración de Gram Según el Número de Partos.....	48
4.4.12.	Bacilos Encontrados en la Coloración de Gram Según los Días 'Post Parto .....	49
4.4.13.	Bacilos Encontrados en la Coloración de Gram Según la Condición Corporal.....	50
4.4.14.	Bacilos Encontrados en la Coloración de Gram Según la Raza .....	51
4.4.15.	Bacilos Encontrados en la Coloración de Gram Según la Edad .....	52
5.	DISCUSIÓN .....	53
6.	CONCLUSIONES.....	57
7.	RECOMENDACIONES .....	58
8.	BIBLIOGRAFÍA .....	59
9.	ANEXOS.....	62

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.
<b>Cuadro 1.</b> Bacterias aerobias aisladas de vacas clínicamente sanas. ....	4
<b>Cuadro 2.</b> Aislamiento de bacterias Aerobias y Anaerobias. ....	5
<b>Cuadro 3.</b> Bacterias aisladas en secreciones cervicales de vacas con infecciones clínicas.....	16
<b>Cuadro 4.</b> pH vaginal en vacas post parto según la raza en las ganaderías de la Hoya de Loja (%) ...	32
<b>Cuadro 5.</b> pH Vaginal según la edad en vacas post parto de la Hoya de Loja (%) .....	33
<b>Cuadro 6.</b> pH vaginal según el número de partos en vacas post parto en la Hoya de Loja (%) .....	34
<b>Cuadro 7.</b> pH vaginal según el puerperio en vacas post parto en la Hoya de Loja (%).....	35
<b>Cuadro 8 .</b> pH vaginal según la condición corporal de las vacas estudiadas en la Hoya de Loja (%) ..	36
<b>Cuadro 9.</b> Tipo de microorganismos de acuerdo a la coloración de Gram y a la edad de las vacas post parto, encontrados en secreciones cervico vaginales en la Hoya de Loja (%). ....	38
<b>Cuadro 10.</b> Microorganismos Gram + y Gram - encontrados en vacas post parto según el número de partos en la Hoya de Loja (%). ....	39
<b>Cuadro 11.</b> Microorganismos encontrados mediante la coloración de Gram y según el puerperio en vacas post parto en la Hoya de Loja (%). ....	40
<b>Cuadro 12.</b> Microorganismos Gram + y Gram - encontrados en la coloración de Gram según la condición corporal .....	41
<b>Cuadro 13.</b> Microorganismos encontrados mediante la coloración de Gram y según la raza en vacas postparto en la Hoya de Loja (%). ....	42
<b>Cuadro 14.</b> Formas de bacterias cocoides encontradas según el número de partos en vacas de puerperio en la Hoya de Loja (%). ....	43
<b>Cuadro 15.</b> Formas de bacterias cocoides encontradas según los días post parto en vacas de la Hoya de Loja (%). ....	44
<b>Cuadro 16.</b> Bacterias de forma cocoides encontradas en la coloración de Gram según la condición corporal .....	45
<b>Cuadro 17.</b> Bacterias cocoides encontradas a través de la coloración de Gram según la Edad en vacas post parto (%) .....	46
<b>Cuadro 18 .</b> Bacterias cocoides encontradas en secreciones de vacas post parto según la Raza (%). ....	47
<b>Cuadro 19.</b> Formas Bacilares encontradas en vacas post parto, de acuerdo al número de partos en la Hoya de Loja (%). ....	48

<b>Cuadro 20.</b> Formas Bacilares encontradas en secreciones de vacas pos parto, de acuerdo al puerperio en la Hoya de Loja (%). .....	49
<b>Cuadro 21.</b> Bacilos encontrados mediante la coloración de Gram en vacas post parto según su condición corporal (%). .....	50
<b>Cuadro 22.</b> Bacilos encontrados en secreciones de vacas post parto según la raza en la hoy de Loja (%) .....	51
<b>Cuadro 23.</b> Formas bacilares encontradas mediante la coloración de Gram en vacas post parto según la edad (%) .....	52

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b> Representación gráfica de la zona de estudio (Lojan, 2011). .....	24
<b>Figura 2.</b> Hisopo con medio de Stuard .....	27
<b>Figura 3.</b> pH Vaginal en vacas post parto según la raza.....	32
<b>Figura 4.</b> pH Vaginal según la edad en vacas post parto.....	33
<b>Figura 5.</b> pH según el número de partos en vacas post parto de la Hoya de Loja (%). .....	34
<b>Figura 6.</b> pH vaginal de acuerdo al puerperio en vacas post parto .....	35
<b>Figura 7.</b> pH vaginal según la condición corporal en vacas post parto .....	36
<b>Figura 8.</b> Microorganismos presentes en secreciones vaginales de vacas posparto según la edad en la Hoya de Loja (%). .....	38
<b>Figura 9.</b> Microorganismos presentes en secreciones vaginales de vacas posparto en la Hoya de Loja (%) según el número de partos.....	39
<b>Figura 10.</b> Microorganismos Gram + y Gram encontrados mediante la coloración de Gram según los días postparto. ....	40
<b>Figura 11.</b> Microorganismos encontrados mediante la coloración de Gram y según la condición corporal en vacas posparto (%) .....	41
<b>Figura 12.</b> Microorganismos presentes en vacas posparto según la raza (%). ....	42
<b>Figura 13.</b> Formas cocoides encontradas en vacas según los días post parto .....	43
<b>Figura 14.</b> Formas cocoides encontradas en la coloración de Gram según los días post parto .....	44
<b>Figura 15.</b> Bacterias cocoides encontradas en la coloración de Gram según la condición corporal .....	45
<b>Figura 16.</b> Bacterias cocoides encontradas en la coloración de Gram según la Edad .....	46
<b>Figura 17.</b> Bacterias encontradas en la coloración de Gram según la Raza. ....	47
<b>Figura 18.</b> Forma Bacilares encontrados en la coloración de Gram en secreciones de vacas post parto según el número de partos. ....	48
<b>Figura 19.</b> Bacilos encontrados en la coloración de Gram según los días post parto .....	49
<b>Figura 20.</b> Bacilos encontrados en la coloración de Gram según la condición corporal.....	50
<b>Figura 21.</b> Bacilos encontrados en la coloración de Gram según la raza .....	51
<b>Figura 22.</b> Formas Bacilares encontrados en la coloración de Gram según la edad .....	52

**“DETERMINACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS  
PRESENTES EN EL MOCO CERVICAL DE VACAS LECHERAS POST  
PARTO DE LAS GANADERÍAS DE LA HOYA DE LOJA”**

## RESUMEN

Los problemas reproductivos en las vacas lecheras de la hoya de Loja, pueden constituirse en una grave limitante en la producción ganadera. El presente trabajo de investigación estuvo orientado a determinar la presencia de alteraciones reproductivas y de microorganismos capaces de disminuir la actividad del aparato reproductivo en vacas post parto. Se tomaron 85 muestras de vacas comprendidas entre uno a treinta días post parto procedentes de los distintos sectores que conforman la hoya de Loja: Animales de diferente edad, raza, condición corporal, puerperio y número de partos. Las muestras de moco cervical se obtuvieron mediante un hisopo con medio de stuard haciendo un raspado en la parte interna logrando así la toma del moco cervical, para someterlas a las diferentes tinciones como Ziehl Neelsen, de Gram, Hidróxido de Potasio y Lugol, para diferenciar bacterias, hongos, protozoarios en el laboratorio de Microbiología Animal del Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja; de manera complementaria, se hizo una evaluación del color, olor, densidad de moco y pH de la vagina. Los resultados revelaron que en la totalidad de vacas post parto, se observó una mucosa normal (rosada); en cuanto al olor, se pudo constatar que no existieron anormalidades y en la gran mayoría de los casos, se observó una mucosidad de tipo acuosa transparente, considerada normal. En la lectura del pH vaginal se puede apreciar que el 95,29 % de vacas, tuvieron un  $\text{pH} \leq 7$ . En cuanto a las tinciones se puede decir que únicamente con la tinción de Gram fue posible encontrar microorganismos compatibles con bacterias tales como: diplococos, estreptococos, tétradas, estafilococos, bacilos, estreptobacilos, empalizadas (x, j, y, v). Los hallazgos permiten demostrar que en la mucosa cérvico-vaginal de vacas post parto en las fincas la hoya de Loja, residen microorganismos bacterianos que conforman la flora normal del postparto temprano; y que por lo tanto, no constituyen riesgo infeccioso que conlleve a complicaciones en cualquier etapa reproductiva del animal.

## SUMMARY

Reproductive problems in dairy cows in the basin of Loja, can become a serious constraint on livestock production. This research was aimed at determining the presence of reproductive abnormalities and microorganisms capable of decreasing the activity of the reproductive tract in cows post calving. 85 samples were taken from cows ranging from one to 30 days postpartum from the various sectors that make up the basin of Loja, of different age, race, body condition, postpartum and parity. Samples of cervical mucus obtained by a swab through stuard making a scraping on the inside making the seizure of cervical mucus, for submission to the various stains such as Ziehl Neelsen, Gram, potassium hydroxide and iodine, to differentiate bacteria, fungi, protozoa in laboratory animal microbiology Biotechnology Center of the National University of Loja; complementarily an assessment of the color, odor, density of mucus and pH of the vagina was made. The results revealed that in all post calving cows, normal mucosa (pink) was observed; for odor, it was found that there were no abnormalities and in most cases, a transparent aqueous mucus was observed type regarded as normal. In vaginal pH reading we see that the 95.29% of cows, had a  $\text{pH} \leq 7$ . As can say that stains only Gram stain was possible to find compatible with bacterial microorganisms such as diplococci, streptococci, tetrads, staphylococci, bacilli, estreptobacilos, fences (x, j, and v). The findings as to establish that in the cervical-vaginal mucosa post calving cows on farms the basin of Loja, live bacterial organisms that make up the normal flora of the early postpartum; and therefore are not infectious risk associated complications in any animal reproductive stage.



# 1 INTRODUCCIÓN

Los problemas reproductivos, que con frecuencia se presentan en las ganaderías de la hoya de Loja, que se encuentran relacionados con retenciones placentarias, aborto y procesos purulentos de los tractos genitales en sus diferentes secciones, cuyos agentes microbianos no son reconocidos en la práctica clínica veterinaria; amerita ser estudiados como preámbulo de alternativa a sus posibles soluciones.

Las infecciones del tracto reproductor de la hembra, en especial la contaminación del útero, con microorganismos patógenos o potencialmente patógenos posee una gran importancia; con lo que podemos presumir que el grado de contaminación uterina está estrechamente relacionado con el ambiente microbiano del lugar y se favorece aún más cuando concurren ciertos factores predisponentes como servicio de monta, inseminación, periparto, etc.

Es muy conocido la existencia de una flora bacteriana tipo saprofita en el tracto cervical, sin embargo su estudio e identificación es muy incipiente por parte de los especialistas en reproducción.

Estos problemas generan elevadas pérdidas económicas y baja incidencia reproductiva expresada en amplios periodos intervalo inter parto, baja concepción; tardío ingreso de las hembras a la reproducción, entre otros.

Se dice que una de las trabas en la producción de ganado bovino es la presencia de problemas reproductivos como reabsorciones embrionarias, abortos (tempranos o tardíos), metritis, nacimiento de crías muertas o débiles y muertes perinatales entre otras; lo que en última instancia afecta la fertilidad del hato.

El desconocimiento de los agentes causales microbianos que provocan los procesos purulentos post parto en las vacas lecheras de la hoya de Loja, imposibilita los tratamientos más adecuados y limita la práctica clínica veterinaria para en forma oportuna e idónea resolver las infecciones genitales.

La presente investigación se propuso identificar los microorganismos cervicales en vacas hasta 30 días post parto, y a su vez relacionarlos con las características de las secreciones cervicales y las patologías reproductivas presentes en la zona de la hoya de Loja.

Los resultados de la presente evaluación, permitirán a las entidades públicas, empresas privadas, profesionales del área ganadera, en general, adoptar estrategias que contribuyan al control de enfermedades reproductivas del ganado bovino, así como a la adopción de políticas, basadas en conocimiento real del problema. Los objetivos planteados en el proyecto de tesis que permitieron abordar el estudio, fueron los siguientes:

- Identificar los tipos de microorganismos presentes en el moco cervical de vacas lecheras post parto
- Establecer las características de las secreciones cervicales, y relacionar con los diferentes tipos de microorganismos presentes en el moco cervical

## **2 REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 FLORA BACTERIANA**

La flora bacteriana de la vagina de un animal gestante se la puede encontrar en su parte posterior, mientras que la parte anterior es estéril. Los trabajos que existen sobre los gérmenes son muy escasos, pero los que hay indican una mezcla de bacterias comunes (saprofitos a patógenos o potencialmente patógenos) (Tellez, 1997).

La composición de esta flora varía de acuerdo con los ambientes en donde se encuentran los animales. Más complicado es en animales estabulados, aunque también influye la resistencia genética del animal. Es evidente, que gérmenes patógenos existentes en el ambiente animal puedan también establecerse en todos los sectores del canal genital (Tellez, 1997).

#### **2.1.1. Microbiota Normal Vaginal y Uterina**

El cuerpo de los mamíferos debido a que mantiene relativamente estables su pH, temperatura y un aporte constante de nutrientes, provee un hábitat favorable para una gran cantidad y variedad de microorganismos. Esta gran mezcla de microorganismos adaptada al cuerpo del animal recibe el nombre de microflora, aunque el término más preciso es el de microbiota.

La microbiota normal comprende bacterias, hongos y protozoos que viven dentro o sobre los animales normales sin producir enfermedad. Se incluyen en esta microbiota muchos microorganismos saprofitos, patógenos potenciales y oportunistas. Es esencial tener algún conocimiento de la microbiota normal para poder juzgar el significado probable de los gérmenes aislados.

La variedad de microorganismos que compone la microbiota puede clasificarse en dos grupos:

- Microbiota residente
- Microbiota transitoria

La microbiota residente está compuesta de tipos relativamente fijos de gérmenes, los cuales se encuentran consistentemente en un sitio dado a una edad dada; si se transforma, se restablece espontáneamente con rapidez.

Los microorganismos que están siempre presentes en un lugar del cuerpo son comensales forma de simbiosis que se caracteriza por la asociación mutua pero casi indiferente entre bacterias y organismos superiores. Por ejemplo las bacterias normalmente presentes en la mucosa uterina son comensales aunque algunas cepas sean, dicho más exactamente, oportunistas (Fernández, 2006).

**Cuadro 1.** Bacterias aerobias aisladas de vacas clínicamente sanas.

<b>Especies de bacterias aerobias aisladas</b>	<b>Numero de aislamiento</b>	<b>Ocurrencia (%)</b>
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	12	27.27
<i>Staphylococcus epidermis</i>	11	25.00
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	6	13.64
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	11.36
<i>Echerichia coli</i>	4	9.09
<i>Providencia stuartii</i>	2	4.54
<i>Stphylococcus saprophyticus</i>	1	2.27
<i>Providencia spp.</i>	1	2.27
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	1	2.27
<b>TOTAL</b>	<b>44</b>	<b>100</b>

Fuente: Ocando (2010).

### 2.1.2. Aislamiento de Bacterias Anaerobias

Estudios realizados manifiestan que en una muestra estimable de vacas clínicamente sanas el aislamiento de gérmenes aerobios en crecimiento puro representan un 39,13%, y las anaerobias un 62,5% siendo las bacterias aisladas con mayor frecuencia *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Peptostreptococcus spp* y *Bacteroides spp*.

Las bacterias anaerobias aisladas con mayor frecuencia fueron el *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Peptostreptococcus spp* y *Bacteroides spp*. El total de especies de bacterias anaerobias aisladas del muestreo, las cuales están expresadas en el siguiente cuadro (Ocando, 2010).

**Cuadro 2.** Aislamiento de bacterias Aerobias y Anaerobias.

Aislamientos	Número de aislamiento	Gram (%)		Número de Vaginas	Tipo de Crecimiento (%)	
		Positivas	Negativas		Puros	Mixtos
Aerobias	44	81,82	18,18	23	39,13	60,87
Anaerobias	52	73,08	26,92	32	62,5	37,5

Fuente: Ocando (2010).

## 2.2. ENFERMEDDES RELACIONADAS CON EL TRACTO REPRODUCTIVO

### 2.2.1. Enfermedades Virales

Como ya se mencionó, en el tracto reproductivo existe una población de microorganismos muy amplia que está sujeta a las condiciones ambientales que le son proporcionadas por su hospedador, y son exclusivas del órgano en el que habitan, que en este caso es la vagina. Se incluyen microorganismos de tipo bacteriano, viral y micótico. Entre los virus que más se relacionan con problemas reproductivos se encuentra principalmente:

- **La diarrea viral bovina (DVB).** representa un problema de ámbito mundial que causa considerables pérdidas tanto en ganado de carne como lechero, afectándolo de diversas formas las cuales están supeditadas a la edad del animal, estado inmunológico y momento de la gestación en el que se produce la infección. La DVB es causada por un virus ARN, género Pestivirus, familia Flaviviridae, el cual ha sido clasificado en 2 biotipos (citopático y no citopático) según su comportamiento en

células de cultivo y en 2 genotipos (I y II) basados en su secuencia genética. Dependiendo de las cepas infectantes se presenta un cuadro clínico particular variando en severidad desde una forma subclínica, pasando por la forma clínica e incluso produciendo la fatal enfermedad de las mucosas o causando efectos deletéreos sobre el feto. A pesar de que en nuestro medio ya existen estudios sobre esta entidad, la implementación de metodologías diagnósticas constituye una limitante para el manejo de la misma. La presente revisión se enfoca en la patogenia e inmunopatología de la DVB (Rondón, 2006).

- **La Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR).** es una enfermedad infectocontagiosa causada por un virus perteneciente a la Familia Herpesviridae y denominado Virus Herpes Bovino tipo 1 (VHB1). Generalmente es conocida como una enfermedad del tracto respiratorio caracterizada por rinitis, traqueítis y fiebre, siendo el aborto la consecuencia directa más grave desde un punto de vista económico. El VHB1 produce vulvovaginitis pustular infecciosa, balanopostitis, conjuntivitis; ocasionalmente se le ha asociado con metritis, endometritis, mastitis, epididimitis, dermatitis, enteritis y encefalomiелitis. Esta extraordinaria variedad de manifestaciones clínicas estaría señalando la alta potencialidad patogénica de los virus Herpes, definiendo en particular al VHB1 como un peligroso agente infeccioso de los bovinos, situación que es amplificada por su capacidad de desarrollar infecciones latentes que pueden ser reactivadas en determinadas circunstancias.

La RIB es también conocida como rinotraqueítis infecciosa necrótica bovina, rinitis necrótica, enfermedad de la nariz roja, vulvovaginitis pustular infecciosa y exantema coital; en la literatura de habla inglesa se la denomina con la sigla IBR o IPV (Infectious Bovine Rhinotracheitis, Infectious Pustular Vulvovaginitis) (Berrios, 1982).

## 2.2.2. Enfermedades Bacterianas

- **Brucelosis**

Es una enfermedad infectocontagiosa de origen bacteriano y curso crónico. Ocasiona grandes pérdidas por ser una de las principales causas problemas reproductivos, esto debido a que causa abortos e infertilidad, es un problema de hato. Es considerada como Zoonosis.

Etiología: Producida por una bacteria del género *Brucella* (*abortus*, *melitensis*, *suis*, *canis*, *ovis*, etc.), es un cocobacilo intracelular, gramnegativo, no móvil, sin cápsula, aerobio. Se han identificado 4 biotipos de este agente: 1, 2, 3 y 4, siendo el biotipo 1 el responsable del 85% de la infecciones. La *Brucella abortus* es la que afecta principalmente al ganado bovino. La Brucelosis está ampliamente distribuida en el mundo y representa gran importancia económica debido a las pérdidas productivas y reproductivas que produce, sobre todo en el ganado lechero lo que nos lleva obligadamente a pasteurizar toda la leche que se destine para consumo humano. Su puede ser mediante vía oral, conjuntival, aérea, cutánea, venérea, alimentos y potreros contaminados, agua contaminada, secreciones, fetos abortados, neonatos infectados, etc. (Celada, 2010).

Patogenia: *Brucella abortus* tiene predilección por el útero grávido, ubre, testículos, glándulas accesorias, linfonodos y cápsulas articulares; así como por diferentes tipos celulares (fagocitos, polimorfo nucleares y mononucleares), de esta manera se establece la infección en tracto reproductor, glándula mamaria y sistema retículo-endotelial. Después de la infección el agente se localiza inicialmente en linfonodos regionales donde produce hiperplasia linfoide y respuesta inflamatoria aguda, después se propaga a otros tejidos linfoides, hígado y pulmones, y en animales gestantes a útero y glándula mamaria. La infección congénita en becerros recién nacidos se da como resultado de la infección en útero. Durante la diseminación en el organismo, las bacterias que se localizan extracelularmente están expuestas a los mecanismos normales de defensa antibacterianos del hospedero donde quedan

atrapados y mueren dentro del sistema retículo-endotelial. La acción bactericida se divide en dos partes: prefagocítica y postfagocítica. (Celada, 2010).

**Fase prefagocítica:** donde la bacteria se expone a factores séricos (anticuerpos específicos, proteínas no inmunoglobulinas brucélicas), que son encontradas en suero bovino normal. En individuos inmunizados los anticuerpos juegan un papel importante en la expulsión de la *Brucella abortus*.

**Fase postfagocítica:** donde los microorganismos pueden quedar expuestos a la acción bactericida intracelular como la formación de peróxido, superóxido de hidrógeno, halogenación por el sistema mieloperoxidasa - peróxido de hidrógeno haluro, catiónicas y enzimas digestivas

Los signos clínicos dependerán del estado inmunológico del hato. Hembras gestantes no vacunadas son altamente susceptibles de presentar aborto después del quinto mes de gestación, son secuelas frecuentes del aborto la retención placentaria y la metritis fibrinosa purulenta. Las infecciones mixtas pueden producir metritis aguda con septicemia y muerte consecutiva o bien crónica seguida de esterilidad. (Celada, 2010).

Los machos presentan orquitis unilateral con disminución en la producción espermática. Pueden estar afectados uno o ambos sacos escrotales presentando tumefacción aguda y dolorosa, con aumento de hasta dos veces su tamaño normal, aunque los testículos no se encuentren aumentados de tamaño. La tumefacción es persistente y los testículos experimentan necrosis por licuefacción quedando finalmente destruidos. Los toros afectados pueden quedar estériles cuando la orquitis es aguda, pero pueden seguir siendo fértiles si solo se ve afectado un testículo. Pero siguen siendo propagadores de la enfermedad. En ambos sexos se debe considerar la inflamación de las articulaciones, especialmente en rodillas y corvejones.

**Diagnóstico diferencial:** en caso de que solo se presente aborto como signo clínico se puede sospechar de Campilobacteriosis, Listeriosis, Leptospirosis, Ureaplasmosis, Tricomonirosis, Haemophilosis, IBR o DVB. Depende de la información que se tenga del hato y de cada uno de los animales. El objetivo del diagnóstico de laboratorio es



identificar a los animales infectados así como a los diseminadores de la enfermedad. El análisis de laboratorio se realiza a través del aislamiento del agente así como de algunas pruebas serológicas, con el fin de detectar la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus*.

El tratamiento: *Brucella abortus* es una bacteria intracelular facultativa, lo que le confiere cierta protección ante la presencia de antibióticos dentro del hospedador, por lo que se considera una enfermedad incurable. (Celada, 2010).

- **Leptospirosis**

La Leptospirosis es una enfermedad generalizada, de curso agudo y de distribución mundial, producida por diversas serovariedades de la bacteria *Leptospira sp.* Muchas especies de mamíferos son susceptibles entre ellas, el hombre; los reservorios más comunes son el perro y los roedores. En los bovinos se caracterizan por provocar aborto, infertilidad, agalactia, nefritis anemia hemolítica y mastitis entre otros signos. La *Leptospira* es una bacteria helicoidal de la familia de las espiroquetáceas. Todas las *Leptospiras* patógenas se encuentran clasificadas bajo una sola especie. *Leptospira interrogans* de las cuales e distinguen 212 serovariedades que se encuentran en 23 serogrupos (FMVZ-UNAM, 2000).

La presentación de la enfermedad puede ser aguda subaguda o crónica

Después de penetrar por la piel o por la mucosa, el microorganismo tiene un periodo de incubación de 4-10 días, en el cual se multiplica rápidamente y se disemina en ciertos órganos: hígado, riñones, pulmones, tracto reproductor. Seis días después de iniciada la leptospiremia, se observa anticuerpos en el torrente sanguíneo y a la bacteria en la orina. Los signos clínicos en al *Leptospira* son muy parecidos en todas las especies animales (no varían mucho, independientemente de la especie de *Leptospira* que se trate) salvo que la infección por *L. interrogans*. Además, algunos serotipos también tienen la capacidad de producir hemolisis (FMVZ-UNAM, 2000).

Son más susceptibles a contraer la enfermedad los terneros de un mes o menos. Esta enfermedad se caracteriza por septicemia, fiebre de 40.5 a 41.5°C, anorexia, congestión pulmonar, petequias en mucosa, depresión y anemia hemolítica con hemoglobinuria, ictericia y palidez de la mucosa; ocasionalmente, meningitis, en el cual el animal muestra incoordinación, sialorrea, conjuntivitis y rigidez muscular (FMVZ-UNAM, 2000).

En lo que se refiere al diagnóstico diferencial; En las formas agudas y subagudas de la Leptospirosis en el ganado bovino deberán ser diferenciadas de babesiosis, anaplasmosis, intoxicaciones por nabo silvestre, hematuria enzoótica. Cuando el aborto es el único signo debe tenerse en cuenta un diferencial con brucelosis, Campilobacteriosis I.B.R. (FMVZ-UNAM, 2000).

- **Campilobacteriosis**

Los miembros del género *Campylobacter* son bacterias Gram negativas, microaerófilas con forma curva o espiral de la familia *Campylobacteriaceae*. *Campylobacter jejuni* (anteriormente conocida como *C. fetus* subespecie *jejuni*) y *C. coli* se asocian con la enteritis en los animales domésticos y los humanos. Algunas cepas de *C. jejuni*, *C. fetus* subespecie *venerealis*, y *C. fetus* subespecie *fetus* (también conocida como *C. fetus* subespecie *intestinalis* y *Vibrio fetus varintestinalis*) causan infertilidad y abortos en el ganado ovino y bovino. Ocasionalmente, se puede aislar *C. fetus* subespecie *fetus* de humanos con septicemia. Otras especies de *Campylobacter*, entre ellas *C. lari*, *C. hyointestinalis* y *C. upsaliensis*, pueden causar enfermedades pero parecen ser de poca importancia en los animales domésticos. (Perez-Perez, 2005).

En el ganado bovino, ovino y caprino, *Campylobacter fetus* subespecie *fetus* se transmite por ingestión. Los animales se pueden infectar después del contacto con las heces, las descargas vaginales, los fetos abortados y las membranas fetales. Este microorganismo y *C. fetus* subespecie *venerealis* también se transmiten por vía venérea en el ganado bovino. Las infecciones genitales por *C. fetus* se pueden diseminar a través de fómites, entre ellos el semen instrumental quirúrgico y las camas

contaminadas. Los toros pueden transmitir *C. fetus* durante varias horas, después de aparearse con una vaca infectada; algunos toros se pueden convertir en portadores permanentes. Las vacas también pueden ser portadoras durante varios años.

En el ganado ovino, *C. fetus* subespecie *venerealis* y *C. fetus* subespecie *fetus* pueden causar campilobacteriosis genital bovina; esta enfermedad se caracteriza por la infertilidad, la muerte embrionaria temprana y una temporada de servicios prolongada. Los abortos asociados con *Campylobacter* son poco comunes pero se pueden observar en ocasiones. Las vacas infectadas pueden desarrollar endometritis mucopurulenta pero no suelen presentar otros síntomas sistémicos. Además, se considera a *Campylobacter* como causa posible de mastitis en las vacas. Los toros son asintomáticos. En las ovejas, *C. fetus* subespecie *fetus* y *C. jejuni* pueden causar abortos en la última fase de la gestación, muertes fetales y nacimiento de corderos débiles. Algunas veces las infecciones en las ovejas van seguidas de metritis y ocasionalmente muerte. Por lo general, se recuperan y desarrollan inmunidad contra nuevas infecciones. Las ovejas se pueden infectar de manera permanente y continúan excretando bacterias en las heces. (Perez-Perez, 2005).

### 2.2.3. Enfermedades Micóticas

- **Candidiasis**

Es una infección primaria o secundaria, causada por levaduras del género *Candida*, con manifestaciones clínicas extremadamente variables de evolución aguda, subaguda, crónica o episódica, en las cuales el hongo puede causar lesiones cutáneas, muco cutáneo, profundo o diseminado. El principal agente es *Candida albicans*, pero pueden estar implicadas otras especies de *Candida*, como, *Candida glabrata*, *Candida famata*, *Candida krusei*; *C. lusitaniae*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, etc. (Biasoli, 2013).

Levaduras de otros géneros distintos de *Candida* como *Saccharomyces*, *Pichia*, *Rhodotorula* pueden dar cuadros clínicos similares a la Candidiasis.

#### 2.2.4. Bacterias Aisladas del Tracto Reproductor

Entrando al tema de bacterias aisladas del tracto reproductor se han encontrado:

- **Streptococcus spp.** Se han relacionado con diversos problemas reproductivos en bovinos, entre los que se encuentran: cervicitis, metritis y abortos; las enfermedades reproductivas postparto causadas por esta bacterias comprometen a la eficiencia reproductiva (Sanchez, 2011).
- **Staphylococcus spp.** Existen especies de esta bacteria que se encuentran de manera normal en la piel y mucosas, tal es el caso del *S. epidermis* que es integrante de la flora normal de piel pero produce infecciones crecientes de piel y anexos, colonizando cuerpos extraños y también es causa de infecciones profundas en hospedadores inmunocomprometidos, por su parte el *S. aureus* es el responsable de una amplia gama de infecciones agudas y crónicas. El primer caso de las infecciones por *S. aureus*, es la adherencias a la superficie y colonización de tejidos de organismos infectados (Cucarella, 2010).
- ***Proteus spp.*** Es ampliamente distribuido en el medio ambiente y ha sido aislado del intestino de mamíferos, aves y reptiles; también puede colonizar el tracto urinario bajo ciertas circunstancias, donde es considerado como un patógeno oportunista (Manos, 2013).
- ***Histophilus sommi.*** Causa inflamación en el aparato genital de las vacas, asociadas con un complejo de enfermedades de los bovinos como la meningoencefalitis, tromboembólica, bronconeumonía, infertilidad, endometritis, aborto, nacimientos de crías débiles, reabsorciones embrionarias, cervicitis y

vaginitis, aunque también pueden colonizar la mucosa genital sin causar daño (Aguilar, 2012).

- **E. Coli.** Esta bacteria coloniza el intestino pocas horas después del nacimiento y se le considera un microorganismo de flora normal, pero hay cepas que pueden ser patógenas y causar daño produciendo distintos cuadros clínicos. Se pueden aislar unos días después del parto, con un porcentaje del 36% el cual está relacionado con contaminación de los machos. En Argentina, se presentaron problemas del tracto reproductivo como metritis y descargas uterinas con olor fétido (Sánchez, 2011).

La microbiología normal de la vagina está compuesta en su mayoría por bacterias y en una menor proporción por hongos entre los aislamientos más frecuentes se encuentran **Aspergillus, Candida y Penicillium**. Es difícil realizar un diagnóstico que sugiera que el problema sea de tipo micótico, debido sobre todo a que la toma de muestras en estos procesos presentan dificultades, impidiendo corroborar que el suceso sea de tipo micótico, en el caso de un aborto, por ejemplo, la posibilidad de contaminación fúngica del feto.

Además de los genes infecciosos ya mencionados hay anomalías en el desarrollo animal que producen fallas reproductivas, estas pueden ser de origen anatómico tal es el caso del freemartinismo que resultan en hembras estériles por una causa física, estas hembras pueden presentar un útero con endometrio más pequeño de lo normal, ausencia de tejido ovárico funcional y exteriormente presentar genitales de apariencia normal (Meza-cruz, 2013).

### 2.3. MICRORGANISMOS EN VACAS CON INFECCIONES CLÍNICAS

En los exudados y biopsias realizadas en las vacas con metritis, se confirma que en su etiología participan siempre más de un agente microbiano. Los gérmenes aislados de casos de endometritis bovina constituyen una amplia gama de contaminantes ambientales, pero los más consistentemente asociados con las lesiones inflamatorias del endometrio han sido *A. pyogenes*, *E. coli*, *Streptococcus α hemolítico* y *Pasteurella hemolítica*. Se ha encontrado que algunas especies anaerobias como *Bacteroides sp.* Y *Fusobacterium sp.* Se asocian con *A. pyogenes* para producir las lesiones inflamatorias (Fernández, 2006).

Según Vanden, entre las bacterias anaerobias aisladas en el útero de la vaca con infección uterina se encuentran *A. pyogenes*, *Porphyromonas melaninogenicus*, *Bacteroides (fragilis, levii, oralis y melaninogenicus)* y *Clostridium (perfringes y esporogenes)*, sin embargo para Youngquist y Shore son: *Streptococcus (α hemolítico y pyogenes)*; *Staphylococcus (aureus y epidermidis)*, *Escherichia coli (no hemolítica y β hemolítica)*, *Lactobacillus sp*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *P. hemolítica* y *enterobacterias sp.* En algunos casos se pueden aislar *Mycoplasma sp*, *Clamidia sp*, *C. albicans*, *A. fumigatus*, *Mucor sp*, *T. foetus* y los virus IBR e IPV (Fernández, 2006).

El *A. pyogenes* es una bacteria incapaz de dañar el epitelio del útero intacto y para hacerlo necesita previamente la acción sinérgica de otras bacterias anaerobias Gram negativas obligadas como *Fusobacterium necrophorum*, causando entonces severas endometritis con marcada destrucción celular. Para convertirse en patógeno y burlar el mecanismo de defensa uterino el *A. pyogenes* produce un factor de crecimiento que favorece el desarrollo de *F. necrophorum*; más tarde este agente sintetiza y libera una toxina (leucotoxina) con propiedades leucocidas que favorecen la difusión de *A. pyogenes* a través del tejido y lo protege de ser fagocitados. Con frecuencia, la asociación de *A. pyogenes* y *F. necrophorum* persiste por un tiempo mayor que el resto de otras especies (Fernández, 2006).

Numerosos investigadores han relacionado los casos de infertilidad en hembras con la presencia de *A. pyogenes* aislado a partir de mucus cérvico vaginal de vacas con endometritis y como causa primaria de agentes no específicos asociados a lesiones endometriales. El *A. pyogenes* es el principal provocador de los procesos inflamatorios crónicos del cérvix y el útero incluyendo la piómetra, metritis puerperal así como los abortos embrionarios, lo que significa que el mismo juega un importante papel en la génesis de la repetición de servicios en las vacas.

En la hembra, generalmente se lo aísla en vacas cuyo intervalo parto/concepción se encuentra aumentado. *A. pyogenes* invade el útero de la mayoría de las vacas pos parto, ocasionando una metritis puerperal la cual se resuelve en pocos días si el animal no tiene problemas de fertilidad o no ha sufrido distocia o retención de membranas fetales. Si las defensas uterinas no pueden eliminar la infección, se desarrolla una piómetra generalmente a los 10 días de la primera ovulación pos parto con secuelas para la futura eficiencia reproductiva. También *A. pyogenes* es causante esporádico de aborto, aunque su incidencia suele oscilar entre 1,5-3%. El aborto ocurre en el último tercio de la gestación dejando generalmente como secuela metritis purulenta y retención de las membranas fetales (Fernández, 2006).

En las novillas vírgenes no expuestas a toro se observó que en 25 (23,1%) no hubo aislamiento, las dos bacterias prevalentes fueron *Klebsiella spp* y *E. coli* con un 32.4% y 22.2% respectivamente (González, 2007).

Principales bacterias aisladas de secreciones cervicales de hembras vacunas con antecedentes de infertilidad y de novillas cebú vírgenes no expuestas a toro

**Cuadro 3.** Bacterias aisladas en secreciones cervicales de vacas con infecciones clínicas

GERMEN AISLADO	ANIMAL PROBLEMA	NOVILLAS VIRGENES
<i>Echerichia coli</i>	55 (19.6%)	24 (22.2%)
BGN O + ( <i>Acinetobacter spp, Burkholdelia</i> )	49 (17.4%)	15 (13.9%)
<i>Klebsiella</i>	46 (16.4%)	35 (32.4%)
<i>Pseudomonas spp</i>	44 (15.6%)	4 (4.7%)
Cocos Gram Positivos ( <i>Enterobacter spp, S aureus</i> )	30 (10.7%)	5 (4.7%)
Sin aislamiento	11 (3.9%)	25 (23.1%)
BGN O-	9 (3.2%)	0
<i>Campilobacter spp</i>	5 (1.8%)	0
Otros	32(11.4%)	0
TOTAL	281 (100)%	108 (100%)
BGN O+ :Bacilos Gram Negativos Oxidantes; BGN O - : Bacilos Gram Negativos no Oxidantes		

Fuente: González T., (2007)

## 2.4. TINCIONES

### 2.4.1. Tinción de Gram

La tinción de Gram es uno de los métodos de tinción más importantes en el laboratorio bacteriológico y con el que el estudiante debe estar perfectamente familiarizado. Su utilidad práctica es indiscutible y en el trabajo microscópico de rutina del Laboratorio de Microbiología las referencias a la morfología celular bacteriana (cocos, bacilos, positivos, negativos, etc) se basan justamente en la tinción de GRAM.



**Figura 1.** Tinción de Gram.



Descrita en forma breve, la secuencia de la tinción es la siguiente: el Frotis fijado con calor se tiñe 1 min con Violeta Cristal, se lava con agua, se cubre con solución Yodada durante 1 min y se lava de nuevo con agua, decolorar con mezcla alcohol etílico/acetona. Escurrir y cubrir con Safranina (color de contraste) durante 20 segundos Lavar y secar. (Gamazo, 2005).

Las bacterias gram-positivas y gram-negativas tiñen de forma distinta debido a las diferencias constitutivas en la estructura de sus paredes celulares. La pared de la célula bacteriana sirve para dar su tamaño y forma al organismo así como para prevenir la lisis osmótica. El material de la pared celular bacteriana que confiere rigidez es el peptidoglicano. La pared de la célula gram-positiva es gruesa y consiste en varias capas interconectadas de peptidoglicano así como algo de ácido teicoico. Generalmente, 80%-90% de la pared de la célula gram-positiva es peptidoglicano. La pared de la célula gram-negativa, por otro lado, contiene una capa mucho más delgada, únicamente de peptidoglicano y está rodeada por una membrana exterior compuesta de fosfolípidos, lipopolisacáridos, y lipoproteínas. Sólo 10% - 20% de la pared de la célula Gram -negativa es peptidoglicano. (Gamazo, 2005).

#### **2.4.2. Tinción de Ziehl Neelsen**

La propiedad que presentan algunas bacterias de resistir la decoloración con ácidos fuertes después de ser coloreadas con solución de fucsina caliente, permite reunir las bajo la denominación general de bacterias “ácido-resistentes” o “ácido-alcohol resistentes”. La ácido-alcohol resistencia es la capacidad de incorporar ciertos colorantes y retenerlos después de someterlos a la acción de ácidos y alcohol y está determinada por la presencia en la pared celular de los ácidos micólicos que son ácidos grasos de cadenas ramificadas de alto peso molecular (60 a 70 átomos de carbono). Las micobacterias son bacilos ácido-alcohol resistente, corto, ligeramente curvo. (Isenberg, 1992).

El género *Mycobacterium*, incluido en esta clasificación, comprende especies patógenas para el hombre, animales y especies saprófitas. El grado de “ácido-alcohol resistencia” es variable entre las especies de este género y está relacionado muchas veces con las condiciones culturales, no pudiendo utilizarse esta diferencia para distinguirlos entre sí. Los bacilos “ácido-alcohol resistentes” (BAAR) se observan de color rojo al ser coloreados con los colorantes para Ziehl Neelsen, mientras que otros gérmenes y células toman distintos tonos de azul debido al azul de metileno que se utiliza como colorante de contraste. La coloración de Ziehl Neelsen constituye una técnica sencilla rápida y económica, de baja sensibilidad pero es una valiosa herramienta para detectar los casos de tuberculosis pulmonar. (Isenberg, 1992)

#### **2.4.2.1. Preparación de los reactivos para la baciloscopia**

a) Fucsina fenicada: Para preparar un litro de fucsina fenicada utilizamos 3 g. de fucsina básica y 100 ml. de alcohol de 95°, diluimos por agitación y agregamos 55 ml. de fenol acuoso. Lo agitamos y agregamos agua destilada hasta completar un litro. Dejamos reposar por 24 horas y luego se filtró (el fenol acuoso se prepara agregando a 100 g. de fenol cristalizado 10 ml. de agua destilada. Se calentó a baño maría hasta la completa disolución y se dejó enfriar.

b) Azul de metileno: Para preparar un litro de azul de metileno necesitamos 1 g. de azul de metileno y 100 ml. de alcohol de 95°, diluimos por agitación y se agrega agua destilada hasta completar un litro. Dejamos reposar por 24 horas y se filtra antes de usarlo.

c) Solución decolorante: Para preparar un litro de solución decolorante requerimos 30ml. de ácido clorhídrico para análisis y 970 ml. de alcohol de 95°. Con la pipeta escurrimos el ácido clorhídrico por las paredes del matraz, que contiene el alcohol, y se agito suavemente.

e) Conservación: Los reactivos los conservamos en frascos de color ámbar y preparamos una cantidad para consumirlo en un tiempo no mayor de un mes. (Suquilanda, 2015)

#### **2.4.2.2. Protocolo de tinción de Ziehl Neelsen**

- 1.- El soporte es el adecuado para que quepan las placas y del largo del lavabo en el cual reposara durante la coloración
- 2.- Filtramos la cantidad de fucsina necesaria para realizar las tinciones según la cantidad de muestras procesadas.
- 3.- Se colocaron sobre el soporte las láminas fijadas conservando el orden numérico con el frotis hacia arriba y manteniendo una separación de al menos 1cm entre ellas o equis distantes.
- 4.- Cubrimos las extensiones con papel filtro, para evitar que alguna partícula cristalizada se pose en el frotis.
- 5.- Cubrimos totalmente la superficie de la placa con fucsina básica fenicada recién filtrada dispersando con suavidad el colorante, sin salpicar y sin tocar con el gotero o con el embudo los extendidos.
- 6.- Con la llama del hisopo empapado en alcohol industrial se calentó suavemente por debajo de las placas, con movimientos de vaivén, hasta que se desprendieron los primeros vapores blancos (3 vapores).
- 7.- Se repuso la fucsina cada vez que se derramaba fuera de la placa.
- 8.- Se calentó por 5 minutos tres veces hasta la emisión de vapores; según las indicaciones del fabricante este tiempo es suficiente para que las paredes del bacilo se abran y la fucsina penetre adecuadamente y se fije a sus lípidos.
- 9.- Se tuvo cuidado al momento de calentar las placas evitando que hierva la fucsina, porque la pared de los bacilos pueden destruirse y colorearse mal.
- 10.- Con una pinza, se levantó cuidadosamente la placa portaobjetos desde el extremo más cercano.
- 11.- Se enjuago con abundante agua a baja presión.

12.- El lavado se lo realizó cuidadosamente por delante y por detrás de la placa eliminando totalmente la solución de fucsina.

13.- Inclina el portaobjetos para eliminar el exceso de agua. (Suquilanda, 2015)

#### **b) Decoloración**

1.- El decolorante se aplicó por toda la superficie del frotis ya teñido con la fucsina y se lo dejó actuar por 3 minutos.

2.- Seguidamente enjuagamos con abundante agua a baja presión.

3.- Verificamos el frotis decolorado, se observa que generalmente las partes más gruesas del extendido conservan un leve tinte rosado.

4.- Si se ha observado cúmulos rojos o coloración rosada intensa, se volvió a aplicar solución decolorante, dejando actuar entre 1 y 3 minutos y enjuagar nuevamente.

5.- Eliminamos el exceso de agua inclinando el portaobjetos. (Suquilanda, 2015)

#### **2.4.3. Lugol**

1. Procedemos a limpiar con agua destilada la zona donde vamos a trabajar para evitar posibles contaminaciones
2. Limpiamos, tanto el cubre como el porta objetos
3. Colocamos la muestra de moco cervical en el porta objetos
4. Agregamos dos gotas de lugol a la muestra, mezclamos la muestra
5. Colocamos el cubre objetos sobre la preparación
6. Examinamos al microscopio con objetivo de 40x

#### **2.4.4. Hidróxido de Potasio**

El hidróxido de potasio, conocido comúnmente como potasa cáustica se produce en los Estados Unidos mediante la electrólisis de la salmuera de cloruro de potasio en celdas electrolíticas. Cuando la salmuera de cloruro de potasio es introducida en la celda electrolítica, el proceso resulta en una solución de hidróxido de potasio y productos conjuntos de cloro e hidrógeno. ERCO Worldwide produce una solución de hidróxido de potasio de gran pureza con un porcentaje de peso de 45-50 en Port Edwards, Wisconsin

##### **2.4.4.1. Procedimiento mediante hidróxido de sodio**

1. Procedemos a limpiar con agua destilada la zona donde vamos a trabajar para evitar posibles contaminaciones
2. Encendemos el mechero
3. Limpiamos, tanto el cubre como el porta objetos
4. Colocamos la muestra de moco cervical en el porta objetos
5. Agregamos tres gotas de hidróxido de potasio a la muestra, mezclamos.
6. Pasamos sobre el mechero el porta objetos hasta q comience a hervir.
7. Dejamos reposar unos segundos.
8. Colocamos el cubre objetos sobre la preparación
9. Examinamos al microscopio con objetivo de 40x

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. MATERIALES**

Para el presente trabajo de investigación, se emplearon los siguientes materiales.

##### **3.1.1. Materiales de Campo**

- Overol
- Botas
- Guantes quirúrgicos
- Mascarillas desechables
- Gradillas
- Cámara fotográfica
- Desinfectantes
- Recipientes desechables
- Hisopos
- Peachimetro
- Vaginoscopio
- Linterna
- Hisopos y torunda SI estéril con medio de transporte Stuard

##### **3.1.2. Materiales de Oficina**

- Calculadora
- Computadora
- Esferográficos
- Hojas de papel
- Libreta
- Internet
- USB

- Impresora

### **3.1.3. Materiales de Laboratorio**

- Tinción de Ziehl-Neelsen
- Tinción Gram
- Lugol
- Hidróxido de potasio
- Mechero de bunsen
- Cubre objetos
- Porta objetos
- Lápiz dermatográfico
- Pipetas
- Gasas
- Papel filtro
- Algodón humedecido en alcohol
- Microscopio óptico
- Equipo de tinción (barras paralelas)
- Agua destilada
- Cristal violeta
- Solución lugol
- Alcohol acetona
- Safranina
- Aceite de inmersión
- Fucsina fenicada básica
- Alcohol ácido 3,0 %
- Azul de metileno
- Aceite de inmersión

### 3.2. MÉTODOS

#### 3.2.1. Ubicación del Área de Estudio

El presente trabajo de investigación se realizó, en las fincas ganaderas de la Hoya de Loja al sur del Ecuador; tiene un clima templado sub-andino y tropical sub-andino, temperatura media anual de 18 °C, precipitación de 900 mm/año y humedad relativa del 77 % (Estación Meteorológica de La Argelia.)

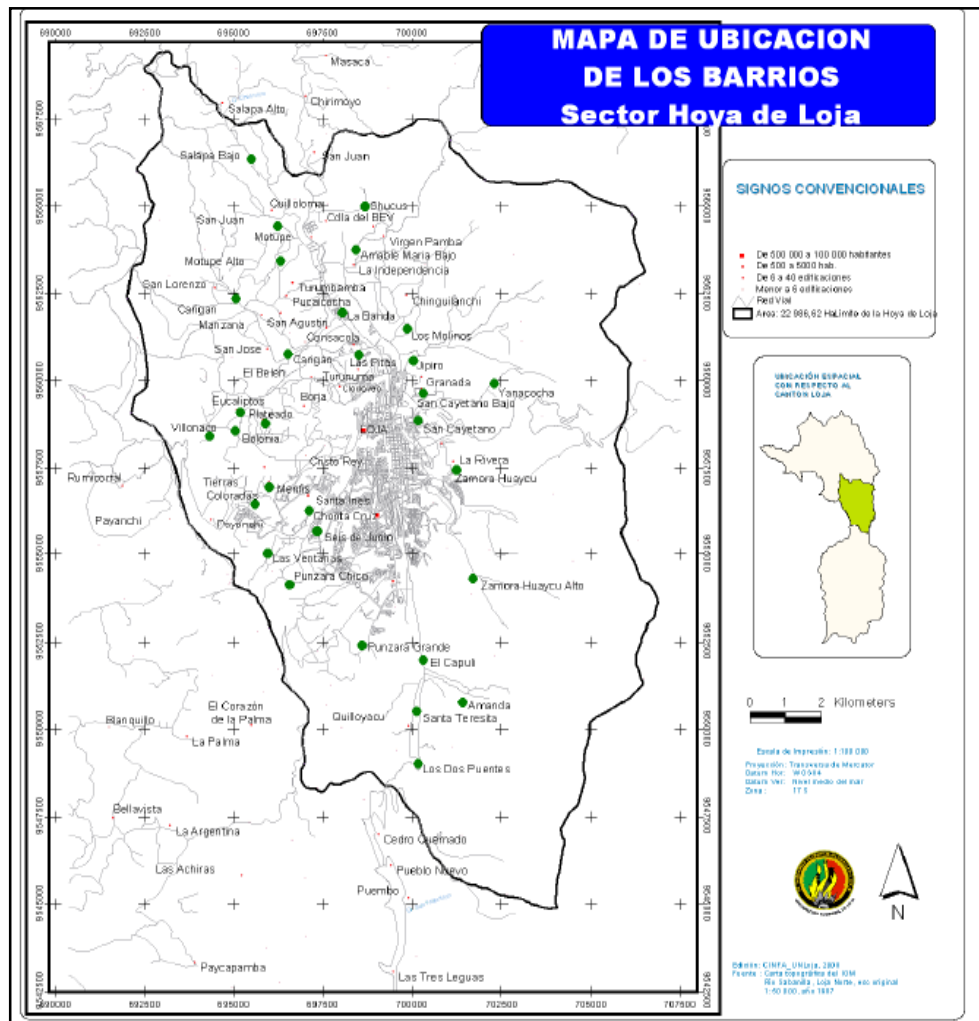


Figura 1. Representación gráfica de la zona de estudio (Lojan, 2011).



### 3.2.2. Delimitación del Área de Estudio

Para la presente investigación se procedió a zonificar la hoya de Loja de la siguiente manera:

- **Zona Norte:** comprende los sectores de Amable María, Zalapa Alto, Zalapa Bajo, Motupe, y Sauces norte
- **Zona sur :** comprende; Dos puentes, Namanda, Capulí, La Argelia y Punzara bajo
- **Zona este :** comprende Zamora huayco alto y bajo
- **Zona oeste :** comprende Villonaco , Chonta Cruz, Payanchi , Eucaliptos, Menfis y La Victoria

### 3.2.3. Tamaño y Selección de la Muestra

La hoya de Loja cuenta con alrededor de 42 fincas ganaderas, con aproximadamente 4006 hembras bovinas en edad reproductiva (mayores de 30 meses de edad), distribuidas en las 4 zonas antes señaladas, cuya proporción de distribución de fincas por sector es la siguiente

- **ZONA NORTE:**

Lugar/barrios	Nº de hembras > 2 años
Zalapa	718
Jipiro	299
Zhucos	286
Carigán	225
Tenería	214
Amable María	200
Yanacocha	125
Virgen Pamba	107
La banda	84
Calvario	51
Las Pitas	31
Motupe	28
La Paz	22
San Cayetano	11
Los Molinos	6
Total	<b>2407</b>

(Paccha, 2012)

- **ZONA SUR:**

Lugar/barrios	Nº de hembras > 2 años
El Capulí	197
Punzara	186
Quilloyacu	126
Santa Teresita	123
Zamora Huayco	71
Argelia	57
Pueblo Nuevo	28
Dos Puentes	25
Las Minas	20
San Isidro	11
<b>Total</b>	<b>844</b>

(Paccha, 2012)

- **ZONA ESTE:**

Lugar/barrios	Nº de hembras > 2 años
El Churo	20
El Rincón	10
Sagrario	9
<b>Total</b>	<b>39</b>

(Paccha, 2012)

- **ZONA OESTE:**

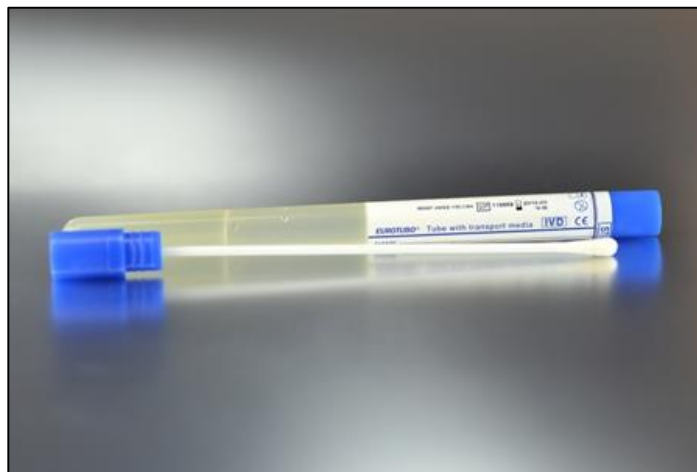
Lugar/barrios	Nº de hembras > 2 años
Eucaliptos	162
Belén	79
Menfis	73
Tierras Coloradas	73
Bolonia	61
Payanchi	56
Las Palmas	46
Plateado	37
La Victoria	35
Las Palmeras	32
Obrapía	24
Miraflores	21
San Francisco	11
Colinas Lojanas	6
<b>Total</b>	<b>716</b>

### 3.2.4. Toma de la Muestra

Se tomó las muestras únicamente de vacas que tuvieron entre 1 y 30 días post parto, incluyendo datos tanto del propietario de la finca como de los animales; para ello se realizó una encuesta con los ítems requeridos.

Para la toma de muestra, se procedió a hacer un lavado perianal con agua destilada luego se introdujo el vaginoscopio para a través de un hisopo, hacer un raspado en la parte interna logrando, así la toma del moco cervical; Esta muestra fue colocada en un tubo de ensayo con el medio de la fábrica (Stuard); Se identificó la muestra y se llevó al laboratorio con las respectivas normas de bioseguridad.

Estas muestras fueron analizadas en los Laboratorios de Microbiología Animal del Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja



**Figura 2.** Hisopo con medio de Stuard

### **3.2.5. Análisis de Laboratorio**

Las muestras se sometieron a tinción, para la identificación de los microorganismos como Ziehl Neelsen, Gram, Lugol e Hidróxido de potasio, para diferenciar bacterias, hongos, protozoarios

#### **3.2.5.1. Coloración de Ziehl Neelsen**

##### **a) Fijación**

- 1) Se coló sobre el soporte las láminas fijadas conservando el orden numérico con el frotis hacia arriba y manteniendo una separación de al menos 1cm entre ellas o equis distantes.
- 2) Se Cubrió las extensiones con papel filtro, para evitar que alguna partícula cristalizada se pose en el frotis.
- 3) Se aplicó sobre el frotis con fucsina básica fenicada recién filtrada dispersando con suavidad el colorante, sin salpicar y sin tocar con el gotero o con el embudo el extendido.
- 4) Se calentó suavemente las placas con movimientos de vaivén, hasta que se desprendieron los primeros vapores blancos (3 vapores).
- 5) Se repuso la fucsina cada vez que se derramaba fuera de la placa.
- 6) Se calentó por 5 minutos tres veces hasta la emisión de vapores; según las indicaciones del fabricante este tiempo es suficiente para que las paredes del bacilo se abran y la fucsina penetre adecuadamente y se fije a sus lípidos.
- 7) Se tuvo cuidado al momento de calentar las placas evitando que hierva la fucsina, porque la pared de los bacilos pueden destruirse y colorearse mal.
- 8) Con una pinza, se levantó cuidadosamente la placa portaobjetos desde el extremo más cercano.
- 9) Se enjuagó con abundante agua a baja presión.
- 10)El lavó cuidadosamente por delante y por detrás de la placa eliminando totalmente la solución de fucsina.
- 11)Se eliminó el exceso de agua.

**b) Decoloración**

- 1) Se aplicó decolorante por toda la superficie del frotis ya teñido con la fucsina y se lo dejó actuar por 3 minutos.
- 2) Se enjuagó con abundante agua a baja presión.
- 3) Se verificó que el frotis quede decolorado, se observando que generalmente las partes más gruesas del extendido conservan un leve tinte rosado.
- 4) Se eliminó el exceso de agua inclinando el portaobjetos.
- 5) Se secó y se observó al microscopio

**3.2.5.2. Tinción de Gram**

- 1) Se fijó el frotis mediante calor se tiñó durante 1 minuto con cristal de violeta
- 2) Se lavó con agua, y se cubrió con solución de lugol durante 1 minuto
- 3) Se lava de nuevo con agua
- 4) Decoloró con mezcla alcohol etílico/acetona.
- 5) Se escurrió y cubrió con safranina (color de contraste) durante 20 segundos
- 6) Se Lavó y secó.
- 7) Observó al microscopio con lente de inmersión

**3.2.5.3. Lugol**

- 1) Se procedió a limpiar con agua destilada la zona para evitar posibles contaminaciones
- 2) Se limpió, tanto el cubre como el porta objetos
- 3) Se coló la muestra de moco cervical en el porta objetos
- 4) Se agregó dos gotas de lugol a la muestra y se mezcló
- 5) Se colocamos el cubre objetos sobre la preparación
- 6) Se examinó al microscopio con objetivo de 40x.

#### **3.2.5.4. Hidróxido de potasio**

- 1) Se procedió a limpiar con agua destilada la zona para evitar posibles contaminaciones
- 2) Se encendió el mechero
- 3) Se Limpió , tanto el cubre como el porta objetos
- 4) Se Colocó la muestra de moco cervical en el porta objetos
- 5) Se agregó tres gotas de hidróxido de potasio a la muestra y se mezcló.
- 6) Se pasamos sobre el mechero la porta objetos hasta hervir.
- 7) Se dejó reposar unos segundos.
- 8) Se colocó el cubre objetos sobre la preparación
- 9) Se examinó al microscopio con objetivo de 40x

#### **3.2.6. Análisis Estadístico**

Los datos obtenidos se analizaron mediante estadística descriptiva.

#### **3.2.7. Variables a Evaluar**

- Aspecto físico del moco cervical en vacas post-parto
  - ✓ color
  - ✓ olor
  - ✓ densidad
    - tipo: catarral purulenta
- PH vaginal
- Infecciones cervico uterinas
- Tipos de microorganismos presentes en el moco cervical de vacas post- parto

Las variables se midieron tomando en consideración la edad, número de partos, raza, puerperio (días) y condición corporal de las vacas en estudio.

## **4. RESULTADOS**

En base al análisis realizado con los datos en la investigación se presentan los siguientes resultados

### **4.1. ASPECTO FÍSICO DEL MOCO CERVICAL EN VACAS POST-PARTO**

Los animales seleccionados fueron vacas Holstein y mestizas, comprendidas entre la edad de 3 a 8 años, de 1 a 6 partos, con un periodo post parto entre 1<sup>a</sup> 30 días y una condición corporal entre 2 a 4 en la escala de 5.

Los animales con las características anteriormente descritas y aplicando las medidas de asepsia se sometieron a la toma de muestras de moco cervical; Para ello se utilizó un vaginoscopio que permitió tener una mejor visualización de la parte interna del aparato reproductivo de la vaca.

#### **4.1.1. Color**

De la totalidad de las muestras estudiadas en la presente investigación, se obtuvieron resultados similares, observándose mucosa normal (rosada) en todos los casos. En lo referente al color de las secreciones cervicales, 8 se notó un moco transparente sin presencia de loquios.

#### **4.1.2. Olor**

En esta variable, se pudo constatar que no existió ningún olor anormal, presumiendo así que los animales se encontraban en buenas condiciones reproductivas.

#### **4.1.3. Densidad del Moco Cervical**

La presencia de mucosidad en las vacas post parto de la hoya de Loja se determinó mediante observación directa; todas las vacas incluidas en la muestra ya sea por la raza, edad, número de partos, días post parto y condición corporal, presentaron una mucosidad de tipo acuosa transparente.

## 4.2. pH VAGINAL

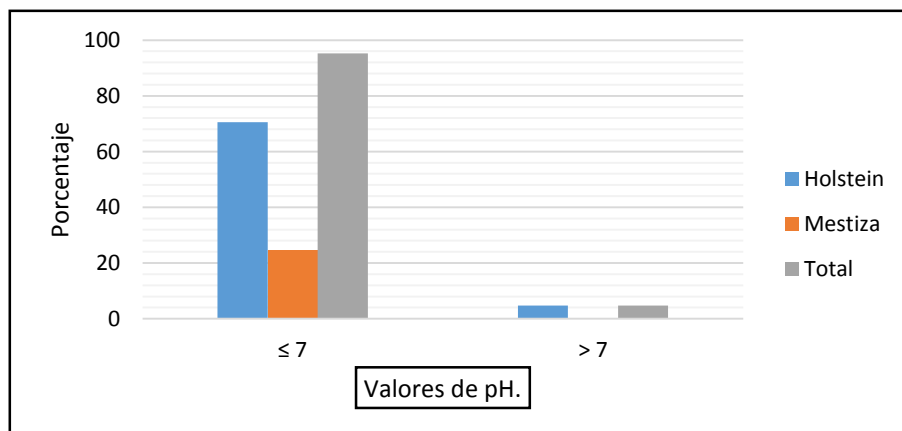
Para la toma de muestra, se sujetaron las vacas tanto de las extremidades posteriores como de los cuernos para restringir sus movimientos, en la toma del Ph vaginal. Se procedió al lavado de la región perineal y la base de la cola con abundante agua destilada, seguido a esto secamos el excedente con papel absorbente. Una vez desinfectada procedemos con guantes desechables se abrieron los labios vulvares con el fin de introducir la tira de Ph. se dejó actuar por el lapso de 1 minuto para la posterior lectura constatando el resultado en el patrón

### 4.2.1. Según la Raza

**Cuadro 4.** pH vaginal en vacas post parto según la raza en las ganaderías de la Hoya de Loja (%)

Valores de pH	Raza				Total	
	Holstein		Mestiza			
	f	%	f	%	f	%
≤ 7	60	70,59	21	24,71	81,00	95,29
> 7	4	4,71	0	0,00	4	4,71

En la muestra de estudio el 95,29 % de animales tuvieron un pH vaginal de  $\leq 7$ ; mientras que un 4,71 % tuvieron un pH vaginal mayor o igual a 7. Dentro del grupo de animales que tuvieron un pH  $\leq 7$  el 70.59 % perteneció a la raza Holstein, mientras que el 24.71 % perteneció a la raza mestiza.



**Figura 3.** pH Vaginal en vacas post parto según la raza.

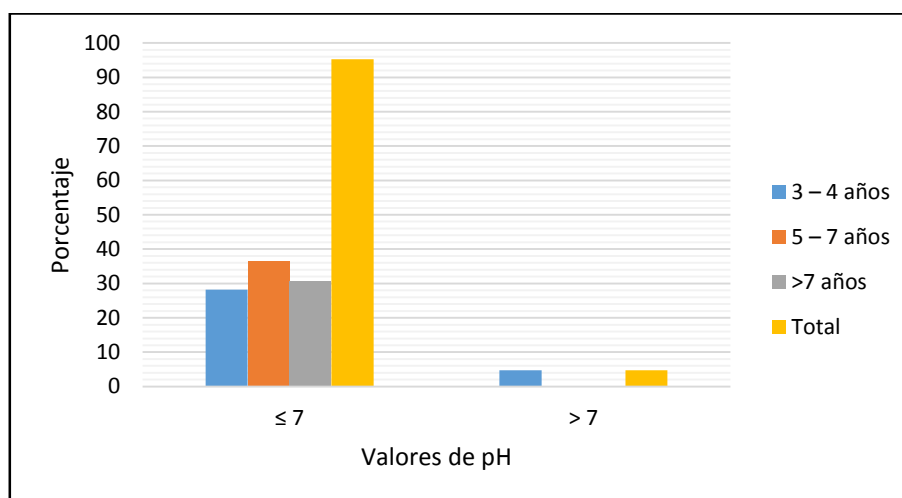


#### 4.2.2. Según la Edad de los Animales

**Cuadro 5.** pH Vaginal según la edad en vacas post parto de la Hoya de Loja (%)

Valores de pH	Edad (años)						Total	
	3 – 4		5 – 7		>7		f	%
	f	%	f	%	f	%		
≤ 7	24	28,24	31	36,47	26	30,59	81,00	95,29
> 7	4	4,71	0	0,00	0	0,00	4	4,71

Con relación a la edad, el 36,47 % de los animales comprendidos entre 5 y 7 años, el 29,41 % de los mayores a 7 años; y el 27,06 %, de los comprendidos entre 3 y 4 años, presentaron un pH ≤ 7; mientras que apenas el 4,71 % de los animales comprendidos entre 3 y 4 años, tuvieron un pH vaginal > a 7.



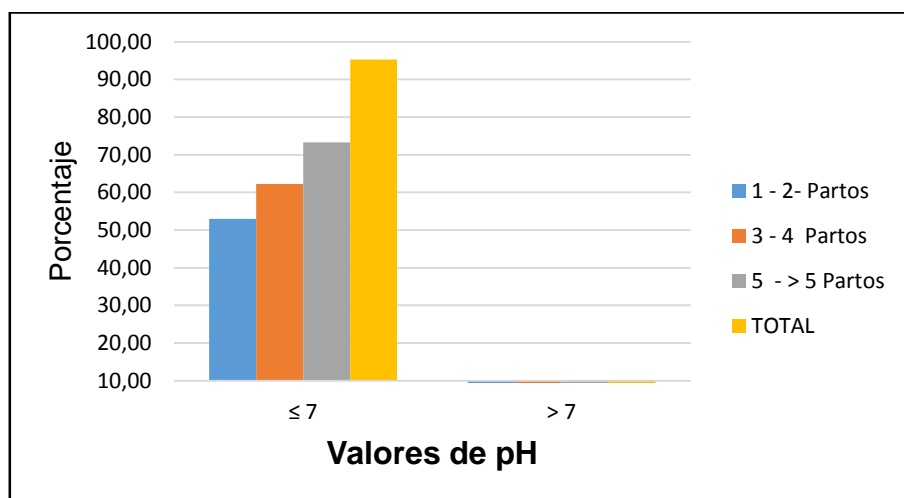
**Figura 4.** pH Vaginal según la edad en vacas post parto.

### 4.2.3. Según el Número de Partos

**Cuadro 6.** pH vaginal según el número de partos en vacas post parto en la Hoya de Loja (%)

Valores de pH	Número de Partos						Total	
	1 - 2 Partos		3 - 4 Partos		> 5 Partos			
	f	%	f	%	f	%	f	%
≤ 7	45	52,94	20	23,53	16	18,82	81,00	95,29
> 7	2	2,35	1	1,18	1	1,18	4	4,71

De acuerdo al número de partos, el 52,94 % de los animales que han tenido entre 1 y 2 partos, el 23,53 % de los que han tenido entre 3 y 4 partos, y el 18,82 %, de los que han tenido más de cinco partos, presentaron un pH ≤ 7; mientras que el 2,35 % de los animales comprendidos entre 1 y 2 partos y el 1,18 % de los comprendidos entre 3 y 4 partos y más de 5 partos, tuvieron un pH vaginal > a 7.



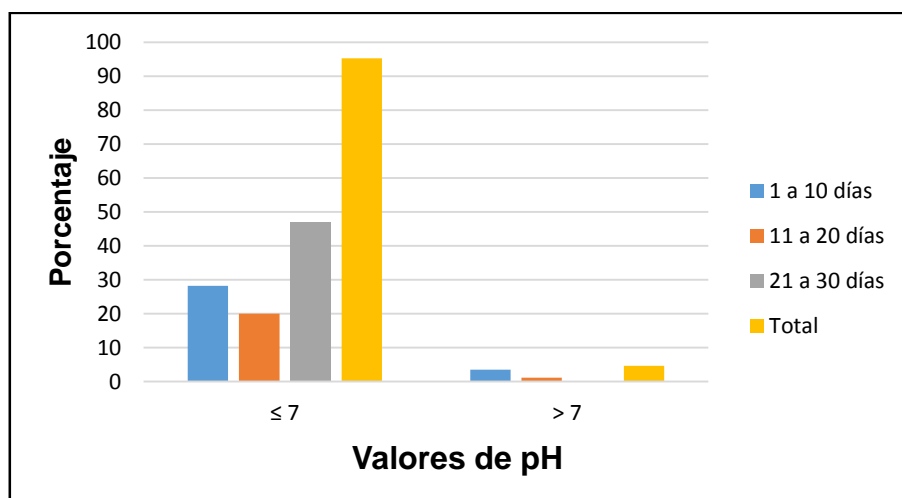
**Figura 5.** pH según el número de partos en vacas post parto de la Hoya de Loja (%)

#### 4.2.4. Según el Puerperio

**Cuadro 7.** pH vaginal según el puerperio en vacas post parto en la Hoya de Loja (%)

Valores de pH	Días post parto						Total	
	1 a 10 días		11 a 20 días		21 a 30 días			
	f	%	f	%	f	%	f	%
≤ 7	24	28,24	17	20,00	40	47,06	81,00	95,29
> 7	3	3,53	1	1,18	0	0,00	4	4,71

De acuerdo a los días post parto, el 47,06 % de los animales que han tenido entre 21 a 30 días post parto, el 28,24 % de los animales que han estado entre el primero al décimo día, y 20 % de los que han estado dentro de 11 a 20 días, presentaron un pH de ≤ 7; mientras que el 3.53 % de los animales comprendidos entre el 1 al 10 días y el 1.18 % de los comprendidos entre los 11 a 20 días, tuvieron un pH vaginal > a 7.



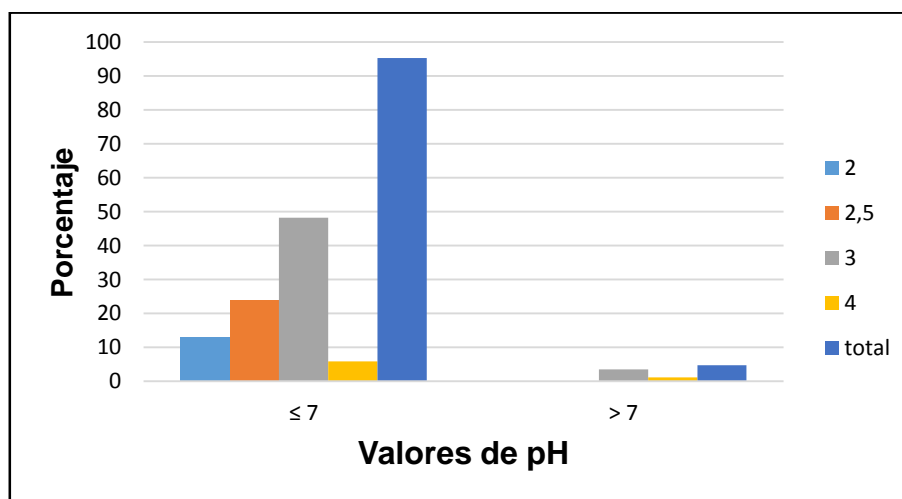
**Figura 6.** pH vaginal de acuerdo al puerperio en vacas post parto

#### 4.2.5. pH Vaginal Según la Condición Corporal

**Cuadro 8 .** pH vaginal según la condición corporal de las vacas estudiadas en la Hoya de Loja (%)

Valores de pH	Condición Corporal								Total	
	2		2,5		3		4			
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%
≤ 7	11	12,94	24	28,24	41	48,24	5	5,88	81	95,29
> 7	0	0,00	0	0,00	3	3,53	1	1,18	4	4,71

En el cuadro que antecede se aprecia el pH vaginal según la condición corporal, pudiendo constatar que el 48,24 % tuvieron una condición corporal de 3, el 28,24 % que tienen una condición corporal de 2,5; el 12,94 % corresponde a la condición corporal 2, y el 5,88 % del tienen una condición corporal de 4, presentaron un pH de  $\leq 7$ ; de también podemos decir que el 3,53 % tuvieron una condición corporal de 3 y un 1.18 % de condición corporal 4 presentaron un pH vaginal  $> 7$



**Figura 7.** pH vaginal según la condición corporal en vacas post parto

### **4.3. INFECCIONES CÉRVICO-UTERINAS**

La inspección de infecciones cérvico - uterinas se realizó de mediante observación directa, para ello se introdujo el vaginoscopio en el canal vaginal hasta el cérvix; una vez dentro, con una lámpara se enfocó para poder observar la coloración de la mucosa y olor de las secreciones, que ayudarían a reconocer la existencia de posibles infecciones.

Del total de vacas analizadas en las ganaderías de la hoya de Loja podemos decir que ninguna presentó alteraciones compatibles con infecciones cérvico-uterinas; determinándose en los animales estudiados, la inexistencia de patologías a ese nivel.

### **4.4. TIPO DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL MOCO CERVICAL DE VACAS POST- PARTO**

Para analizar esta variable, mediante el uso de un hisopo con medio de Stuard y a nivel de cérvix, se procedió a tomar la muestra de moco cervical, para luego en el laboratorio de Microbiología Animal del Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja, proceder a realizar las diferentes coloraciones, que permitieron identificar morfológicamente a los microorganismos presentes.

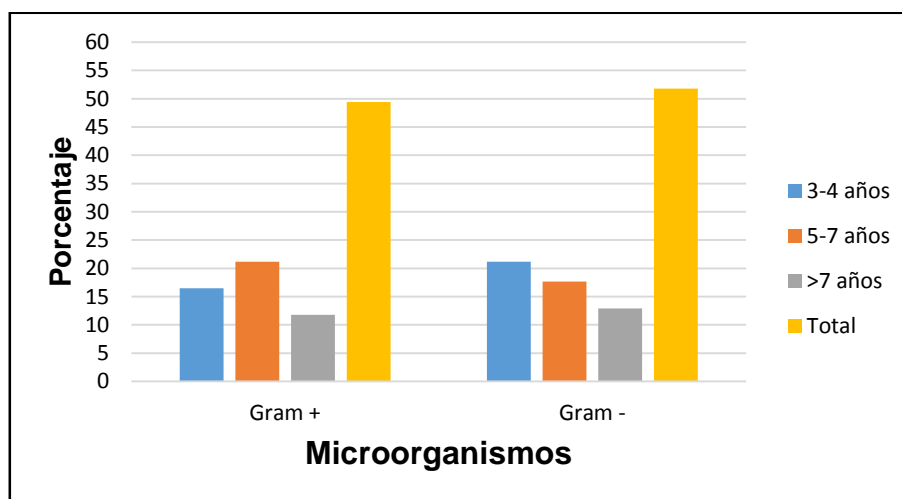
En cuanto a esta variable, únicamente mediante la coloración de Gram, fue posible observar formas microbianas compatibles con bacterias cuyos resultados se describen a continuación en los siguientes cuadros y figuras, de acuerdo a la raza, edad, condición corporal y puerperio de las vacas consideradas en la muestra

#### 4.4.1. Microorganismos Encontrados Mediante la Coloración de Gram y Según la Edad de los Animales

**Cuadro 9.** Tipo de microorganismos de acuerdo a la coloración de Gram y a la edad de las vacas post parto, encontrados en secreciones cervico vaginales en la Hoya de Loja (%).

Microorganismos	Edad (años)						Total	
	3 - 4		5 - 7		> 7			
	f	%	f	%	F	%	f	%
Gram +	14	16,47	18	21,18	10	11,76	42	49,41
Gram -	18	21,18	15	17,65	11	12,94	44	51,76

Como puede observarse en el cuadro y figura cinco, el 21,18 % de los animales comprendidos entre 5 -7 años, el 16,47 % de los animales entre 3 - 4 años, y el 11,76 % de los mayores de 7 años mostraron la presencia de bacterias Gram +; mientras que el 21,18 % de los animales comprendidos entre 3-4 años; el 17,65 % de los animales entre 5–7 años; y el 12,94 %, correspondiente a animales mayores a 7 años, presentaron bacterias Gram -



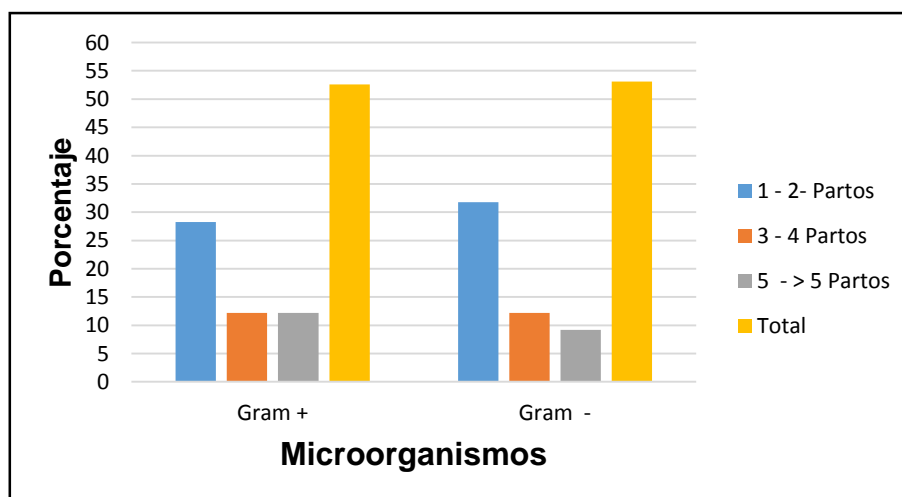
**Figura 8.** Microorganismos presentes en secreciones vaginales de vacas posparto según la edad en la Hoya de Loja (%)

#### 4.4.2. Microorganismos Encontrados Mediante la Coloración de Gram Según el Número de partos

**Cuadro 10.**Microorganismos Gram + y Gram - encontrados en vacas post parto según el número de partos en la Hoya de Loja (%).

Microorganismos	Número de Partos						Total	
	1 – 2 Partos		3 - 4 Partos		> 5 Partos		f	%
	f	%	f	%	f	%		
Gram +	24	28,24	11	12,18	11	12,18	46,00	52,59
Gram -	27	31,76	11	12,18	8	9,18	46	53,12

De acuerdo al número de partos podemos verificar que el 28,24 % de los animales que han tendio entre 1 y 2 partos; el 12.18 % de los animales entre 3 y 4 partos más de cinco más de 5 partos, mostraron la existencia de microorganismos Gram + en las secreciones cérvico- vaginales; mientras que, el 31,76 % de los animales comprendidos entre 1 y 2 partos; el 12,18 % a los animales entre 3 y 4 partos; y el 9,18 % con más de 5 partos, presentaron microorganismos Gram – en sus secreciones cérvico- vaginales.



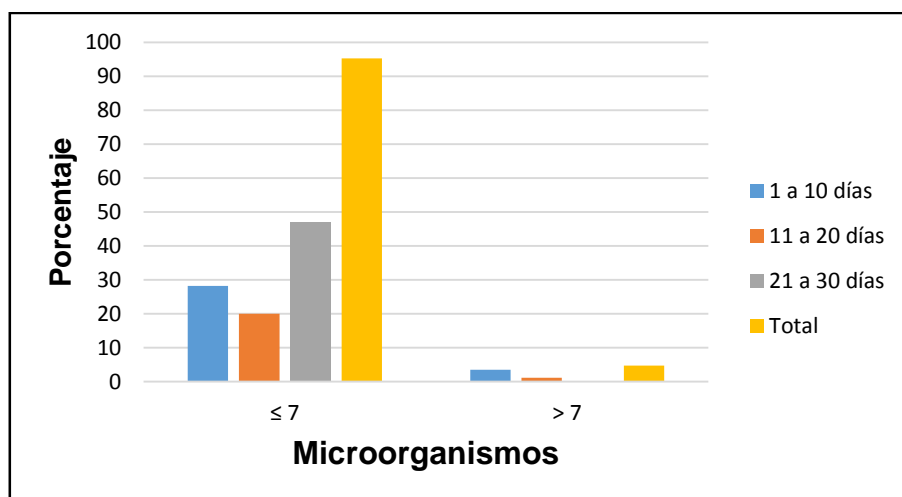
**Figura 9.**Microorganismos presentes en secreciones vaginales de vacas posparto en la Hoya de Loja (%) según el número de partos.

#### 4.4.3. Microorganismos Encontrados Mediante la Coloración de Gram Según los Días Post Parto

**Cuadro 11.** Microorganismos encontrados mediante la coloración de Gram y según el puerperio en vacas post parto en la Hoya de Loja (%).

Microorganismos	Días postparto						Total	
	1 – 10 días		11 – 20 días		21 - 30 días			
	f	%	f	%	f	%	f	%
Gram +	35	28,24	12	12,18	10	12,18	57,00	52,59
Gram -	27	31,76	11	12,18	9	9,18	47	53,12

En el cuadro que antecede se aprecia que, en lo relacionado a la presencia de microorganismos Gram +, estos estuvieron presentes en el 28,24 % de vacas comprendidas entre 1 a 10 días postparto; en el 12,18 % de vacas comprendidas entre 11 a 20 días y de 21 a 30 días postparto. En lo relacionado a los microorganismos Gram –, tenemos que estos estuvieron presentes en el 31,76 % de vacas con 1 a 10 días de puerperio, en el 12,18% de vacas comprendidas entre 11 a 20 días postparto; y, en el 9,18% de vacas entre 21 a 30 días de puerperio.



**Figura 10.** Microorganismos Gram + y Gram encontrados mediante la coloración de Gram según los días postparto.

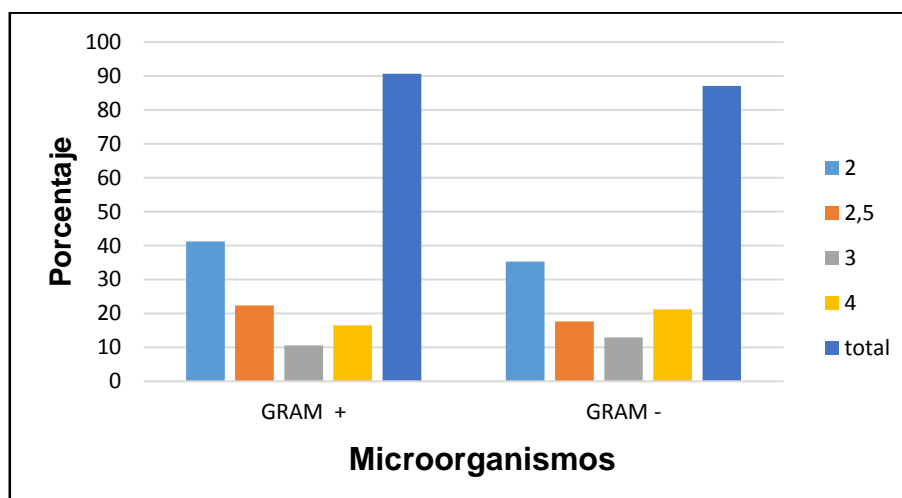


#### 4.4.4. Microorganismos Encontrados con la Coloración de Gram según la Condición Corporal

**Cuadro 12.** Microorganismos Gram + y Gram - encontrados con la coloración de Gram según la condición corporal .

Microorganismos	Condición Corporal								Total	
	2		2,5		3		4			
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%
GRAM +	35	41,18	19	22,35	9	10,59	14	16,47	77	90,59
GRAM -	30	35,29	15	17,65	11	12,94	18	21,18	74	87,06

En el cuadro y figura 12, se puede evidenciar que el 41,18 % de vacas con condición corporal 2; el 22,35 % con condición corporal 2,5; el 10,59 % de condición corporal 3; y, el 16,47 % de condición corporal de 4, presentaron microorganismos Gram+; mientras que el 35,29 % de animales con condición corporal 2; el 21,18 % con condición corporal 4; el 17,65 % con condición corporal 2,5; y, el 12,94 % con una condición corporal de 3, presentaron en sus secreciones microorganismos Gram -.



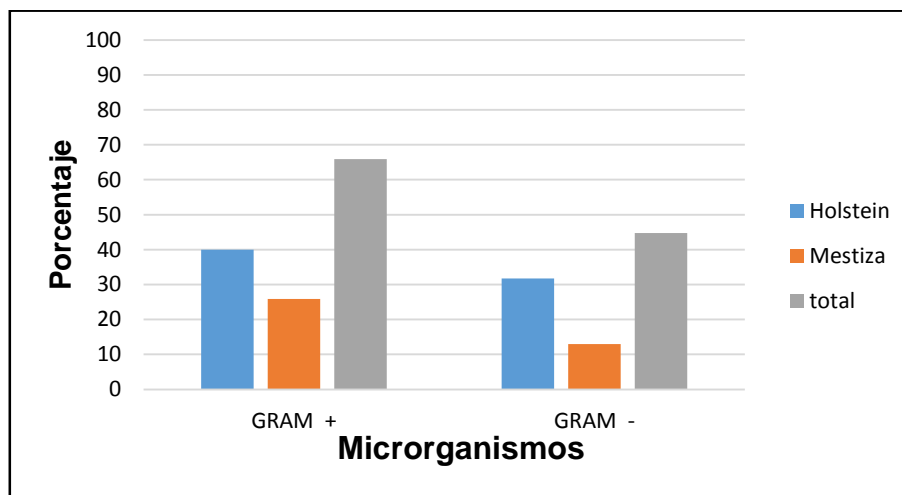
**Figura 11.** Microorganismos encontrados mediante la coloración de Gram y según la condición corporal en vacas posparto (%)

#### 4.4.5. Microorganismos Encontrados Mediante la Coloración de Gram Según la Raza

**Cuadro 13.** Microorganismos encontrados mediante la coloración de Gram y según la raza en vacas postparto en la Hoya de Loja (%).

Microorganismos	Raza				Total	
	Holstein		Mestiza			
	f	%	f	%	f	%
Gram +	34	40,00	22	25,88	56	65,88
Gram -	27	31,76	11	12,94	38	44,71

El cuadro 13 nos evidencia que en el 40 % de vacas pertenecientes a la raza Holstein, y en el 25 % de vacas mestizas, se presentaron gérmenes Gram +; mientras que en un 27 % de vacas Holstein y en un 12,94 % de vacas mestizas, hubo la presencia de gérmenes Gram -



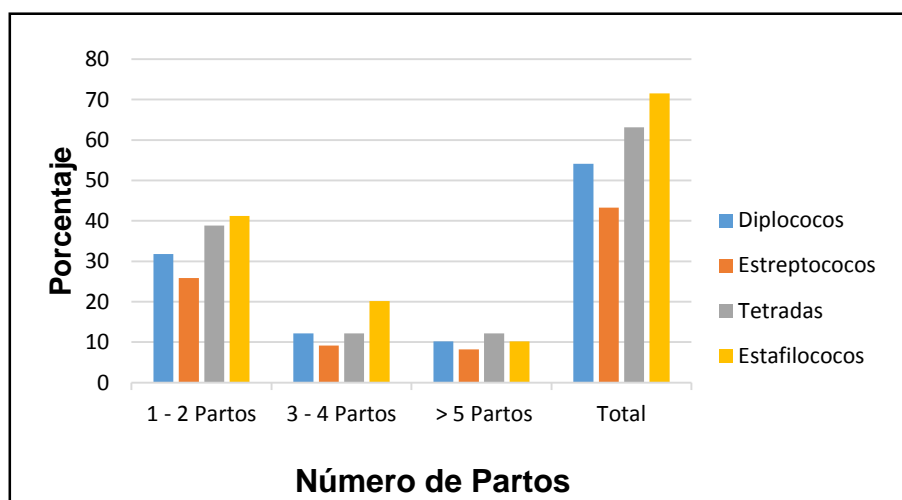
**Figura 12.** Microorganismos presentes en vacas posparto según la raza (%).

#### 4.4.6. Formas de Bacterias Cocoides Encontradas Mediante la Coloración de Gram y Según el Número de Partos

**Cuadro 14.** Formas de bacterias cocoides encontradas según el número de partos en vacas de puerperio en la Hoya de Loja (%).

Formas Cocoides	Número de Partos							
	1 – 2 Partos		3 - 4 Partos		> 5 Partos		Total	
	f	%	f	%	f	%	f	%
Diplococos	27	31,76	11	12,18	9	10,18	47,00	54,12
Estreptococos	22	25,88	8	9,18	7	8,18	37,00	43,24
Tétradas	33	38,82	11	12,18	11	12,18	55,00	63,18
Estafilococos	35	41,18	19	20,18	9	10,18	63,00	71,53

Conforme se presenta en el cuadro 13, el 31,76 % de vacas entre uno y dos partos, el 12,18 % de vacas entre tres y cuatro partos y, el 10,18 % de vacas con más de cinco partos, tuvieron diplococos en sus secreciones; el 25,88 % de vacas entre uno y dos partos, el 9,18 % de vacas entre tres y cuatro partos y, el 8,18 % de vacas con más de cinco partos, presentaron estreptococos; mientras que el 38,82 % de vacas entre uno y dos partos; el 12,18 % entre 3 y cuatro partos y, el 12,18 % de vacas con más de cinco partos presentaron tétradas; y finalmente, el 41,18 % de vacas entre uno y dos partos, el 20,18 % entre tres y cuatro partos y, 63 % de vacas con más de cinco partos, tuvieron formas estafilocócicas en su secreciones.



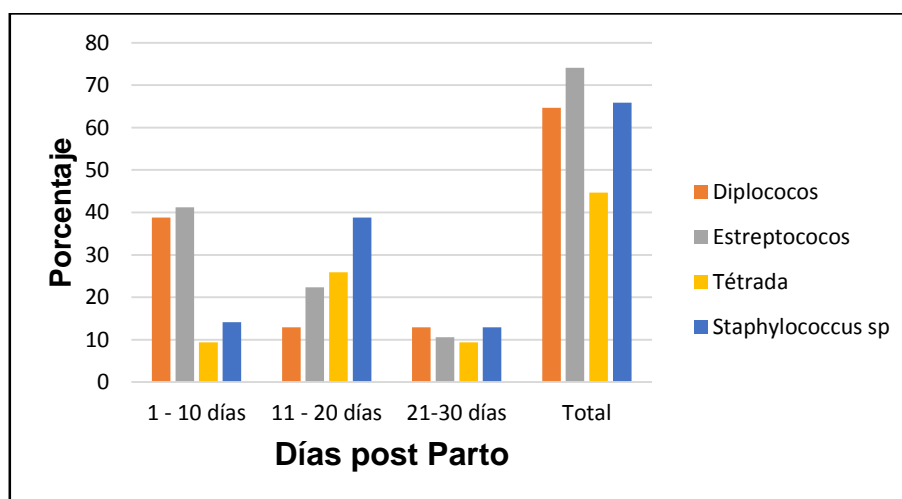
**Figura 13.** Formas cocoides encontradas en vacas según los días post parto

#### 4.4.7. Formas de Bacterias Cocoides Encontradas Mediante la coloración de Gram y Según el Puerperio.

**Cuadro 15.** Formas de bacterias cocoides encontradas según los días post parto en vacas de la Hoya de Loja (%).

Formas Cocoides	Días Post Parto							
	1 - 10 días		11 - 20 días		21 - 30 días		Total	
	f	%	f	%	f	%	f	%
Diplococos	33	38,82	11	12,94	11	12,94	55,00	64,71
Estreptococos	35	41,18	19	22,35	9	10,59	63,00	74,12
Tétrada	8	9,41	22	25,88	8	9,41	38,00	44,71
<b>Estafilococos</b>	12	14,12	33	38,82	11	12,94	56,00	65,88

Conforme se evidencia en el cuadro 15, el 38,82 % de vacas entre uno a 10 días post parto, el 12,94 % entre 11 a 20 días, y de igual manera las vacas con 21 a 30 días, presentaron diplococos en sus secreciones; el 41,18 % de vacas entre 1 a 10 días post parto, el 22,35 % de vacas entre 11 a 20 días post parto, 10,59 % de vacas entre 21 a 30 días post parto presentaron estreptococos; mientras que el 25,88 % de vacas entre 11 a 20 días post parto, el 9,41 % de vacas entre 1 a 10 y 21 a 30 días post parto presentaron tétradas; y finalmente el 38,82 % de vacas entre 11 a 20 días, 14,12 % de vacas entre 1 a 10 días post parto, y 12,94 % de vacas entre 21 a 30 días hubo presencia de estafilococos en la secreciones



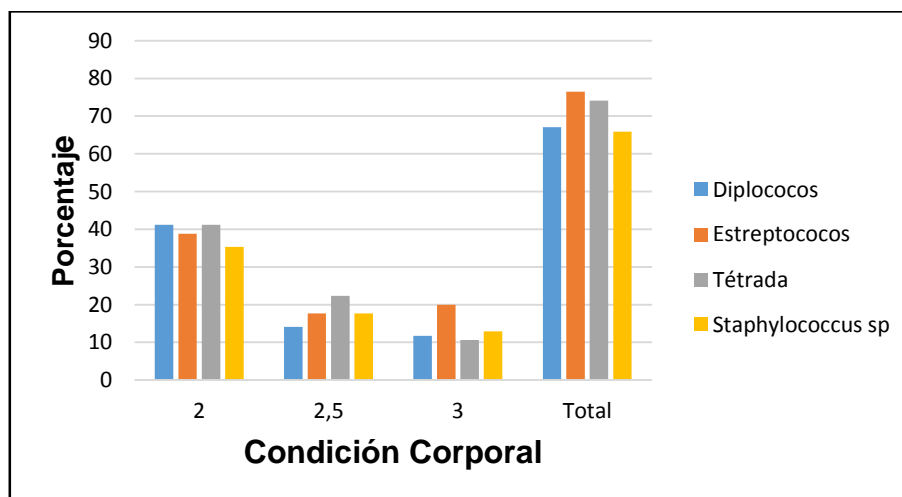
**Figura 14.** Formas cocoides encontradas en la coloración de Gram según los días post parto

#### 4.4.8. Formas de Bacterias Cocoides Encontradas en la Coloración de Gram Según la Condición Corporal

**Cuadro 16.** Bacterias de forma cocoides encontradas en la coloración de Gram según la condición corporal

Formas Cocoides	Condición Corporal							
	2		2,5		3		Total	
	f	%	f	%	f	%	f	%
Diplococos	35	41,18	12	14,12	10	11,76	57,00	67,06
Estreptococos	33	38,82	15	17,65	17	20,00	65,00	76,47
Tétrada	35	41,18	19	22,35	9	10,59	63,00	74,12
Estafilococos	30	35,29	15	17,65	11	12,94	56,00	65,88

En el presente cuadro podemos observar que el 41,18 % de vacas con condición corporal 2, el 14,12 % de vacas con condición corporal 2,5 y, el 11,76 % con de vacas condición corporal 3 tuvieron diplococos en sus secreciones; mientras que el 38,82 % con condición corporal 2, el 20 % con condición corporal 3, el 17,65 % con condición corporal 2,5 presentaron estreptococos en las secreciones; el 41,18 % con condición corporal 2, el 22,35 % de vacas con condición corporal 2,5 %, y el 10,59 % de condición corporal 3, presentaron tétradas en la observación al microscopio; mientras tanto el 35,29 % con condición corporal 2, el 17,65 % con condición corporal 2,5, y el 12,94 % con condición corporal 3 presentaron estafilococos



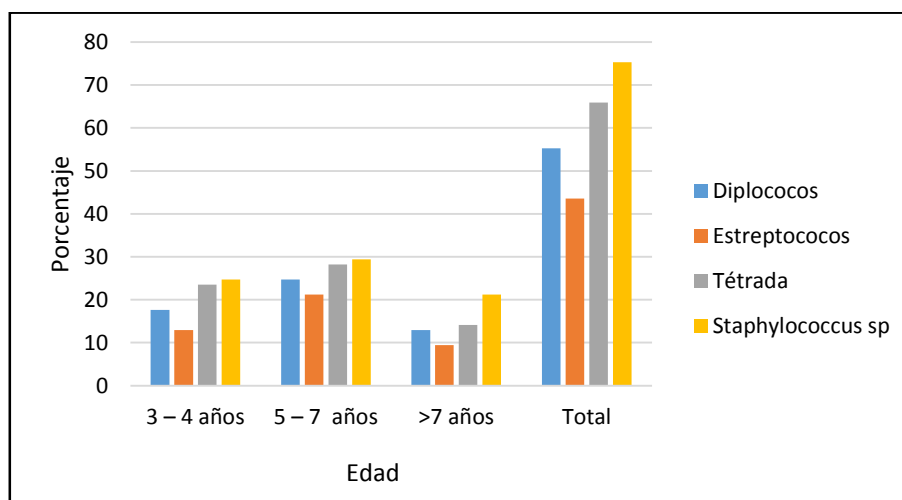
**Figura 15.** Bacterias cocoides encontradas en la coloración de Gram según la condición corporal

#### 4.4.9. Forma de Bacterias Cocoides Encontradas en la Coloración de Gram Según la Edad

**Cuadro 17.** Bacterias cocoides encontradas a través de la coloración de Gram según la Edad en vacas post parto (%)

Formas Cocoides	Edad							
	3 – 4 años		5 – 7 años		>7 años		Total	
	f	%	f	%	f	%	f	%
Diplococos	15	17,65	21	24,71	11	12,94	47,00	55,29
Estreptococos	11	12,94	18	21,18	8	9,41	37,00	43,53
Tétrada	20	23,53	24	28,24	12	14,12	56,00	65,88
Estafilococos	21	24,71	25	29,41	18	21,18	64,00	75,29

De acuerdo a lo que se evidencia en el cuadro 17, el 24,71 % de vacas comprendidas entre cinco y siete años, el 17,65 % de vacas comprendidas entre tres y cuatro años, y el 12,94 % de vacas mayores a siete años, presentaron diplococos; mientras que el 21,18 % de animales entre cinco y siete años, el 12,94 % de animales entre tres y cuatro años, y el 9,41 % de animales mayores a siete años, presentaron estreptococos; el 28,24 % de vacas entre cinco y siete años, el 23,53 % de vacas entre tres y cuatro años, el 14,12 % mayores a siete años tuvieron tétradas; y finalmente, el 29,41 % de animales entre tres y cuatro años, el 24,71 % de vacas entre de cinco y siete años, y un 21,18 % de vacas mayores a siete años, presentaron estafilococos en la tinción de Gram



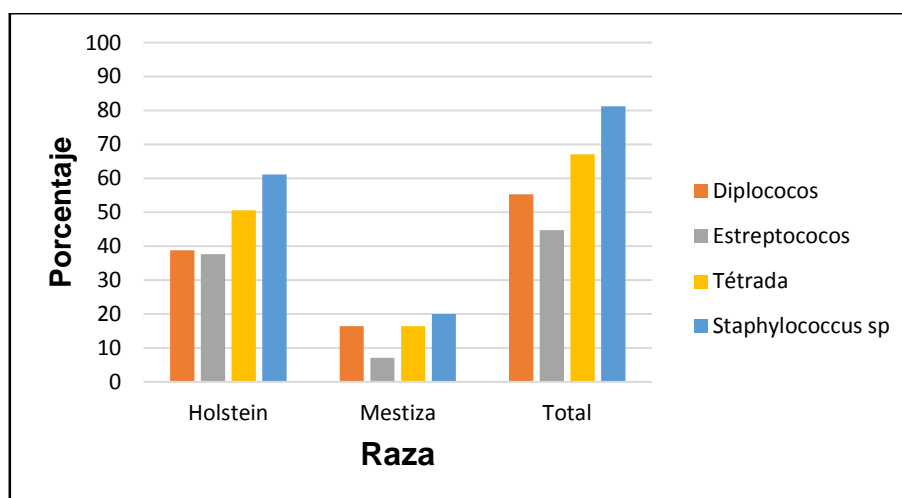
**Figura 16.** Bacterias cocoides encontradas en la coloración de Gram según la Edad

#### 4.4.10. Forma de Bacterias Cocoides Encontradas Mediante la Coloración de Gram Según la Raza

**Cuadro 18 .** Bacterias cocoides encontradas en secreciones de vacas post parto según la Raza (%).

Formas Cocoides	Raza				Total	
	Holstein		Mestiza			
	f	%	f	%	f	%
Diplococos	33	38,82	14	16,47	47	55,29
Estreptococos	32	37,65	6	7,06	38	44,71
Tétrada	43	50,59	14	16,47	57	67,06
Estafilococos	52	61,18	17	20,00	69	81,18

En el cuadro 18 se puede evidenciar que el 38,82 % de vacas pertenecientes a la raza Holstein, y el 16,47 % pertenecientes a la raza mestiza, presentaron diplococos; el 37,65 % de vacas de raza Holstein, y el 7,06 % de vacas de la raza mestiza tuvieron estreptococos; mientras que el 50,59 % de vacas de raza Holstein, el 16,47 % de vacas mestizas presentaron tétradas; el 61,18 % de vacas de raza Holstein y el 20 % de raza mestiza, se tuvieron la presencia de estafilococos en la tinción de Gram.



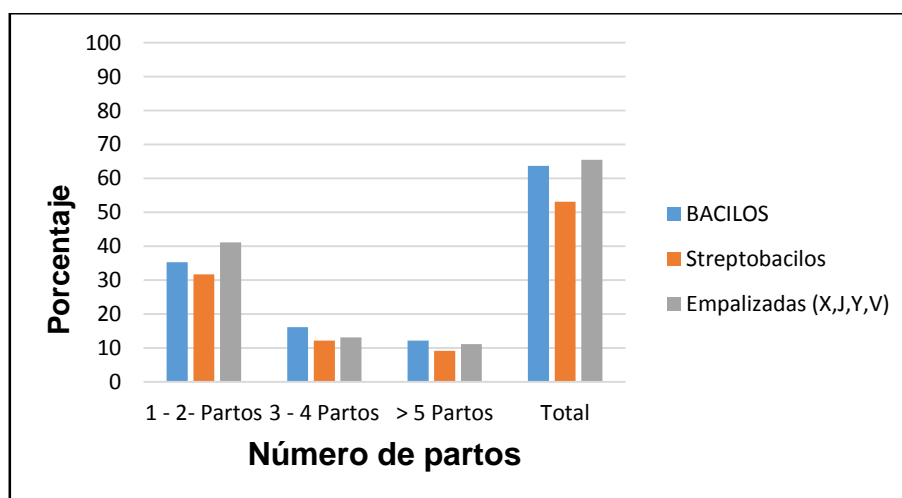
**Figura 17.** Bacterias encontradas en la coloración de Gram según la Raza.

#### 4.4.11. Formas Bacilares Encontrados en la Coloración de Gram Según el Número de Partos

**Cuadro 19.** Formas Bacilares encontradas en vacas post parto, de acuerdo al número de partos en la Hoya de Loja (%).

Formas Bacilares	Número de Partos						Total	
	1 - 2- Partos		3 - 4 Partos		> 5 Partos		f	%
	f	%	f	%	f	%		
<b>Bacilos</b>	30	35,29	15	16,18	11	12,18	56,00	63,65
<b>Estreptobacilos</b>	27	31,76	11	12,18	8	9,18	46,00	53,12
<b>Empalizadas (x, j, y,v)</b>	35	41,18	12	13,18	10	11,18	57,00	65,53

En el cuadro 19 se observa que el 35,29 % de vacas entre uno y dos partos, el 16,18 % entre tres y cuatro partos, y el 12,18 % de más de cinco partos tuvieron la presencia de bacilos; el 31,76 % de vacas entre uno y dos partos, el 12,18 % entre tres y cuatro partos, el 9,18 % de vacas con más de cinco partos tuvieron presencia de estreptobacilos ; mientras que el 41,18 % de vacas entre uno y dos partos, el 13,18 % de vacas entre tres y cuatro partos, y el 11,18 % de vacas de más de cinco partos presentaron bacilos en forma de empalizadas.



**Figura 18.** Forma Bacilares encontrados en la coloración de Gram en secreciones de vacas post parto según el número de partos.

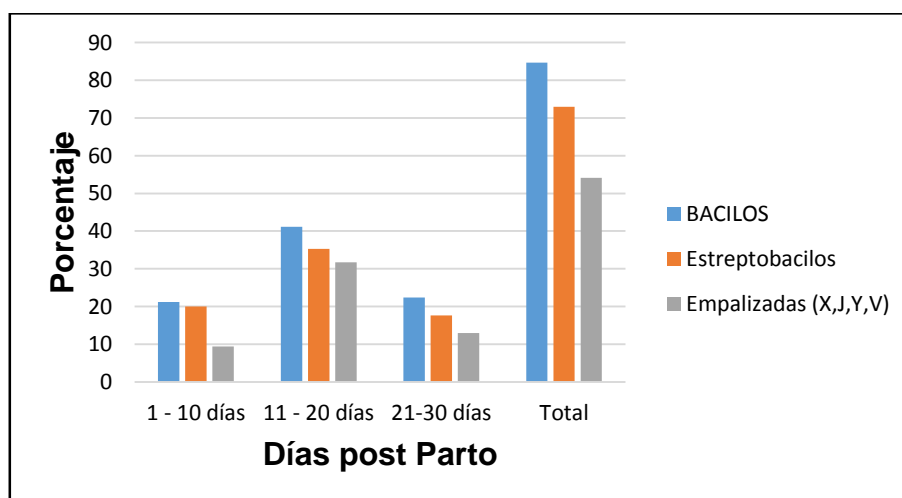


#### 4.4.12. Bacilos Encontrados en la Coloración de Gram Según los Días Post Parto

**Cuadro 20.** Formas Bacilares encontradas en secreciones de vacas pos parto, de acuerdo al puerperio en la Hoya de Loja (%).

Formas Bacilares	Días post parto						Total	
	1 - 10 días		11 - 20 días		21-30 días			
	f	%	f	%	f	%	f	%
<b>Bacilos</b>	18	21,18	35	41,18	19	22,35	72,00	84,71
<b>Estreptobacilos</b>	17	20,00	30	35,29	15	17,65	62,00	72,94
<b>Empalizadas (x, j, y, v)</b>	8	9,41	27	31,76	11	12,94	46,00	54,12

De acuerdo a los días post partos podemos verificar que el 41,18 % de vacas entre 11 a 20 días post parto, el 21,18 % entre uno a 10 días, el 22,35 % de vacas con 21 a 30 días presentaron Bacilos en sus secreciones; el 35,29 % de vacas entre 11 a 20 días post parto, el 20 % de vacas entre uno a 10 días post parto, y el 17,65 % de vacas entre 21 a 30 días post parto presentaron estreptobacilos; mientras que el 31,76 % de vacas entre 11 a 20 días post parto, el 12,94 % de vacas entre 21 a 30 y el 9,41 % de vacas entre uno a diez días post parto presentaron bacilos de forma empalizadas.



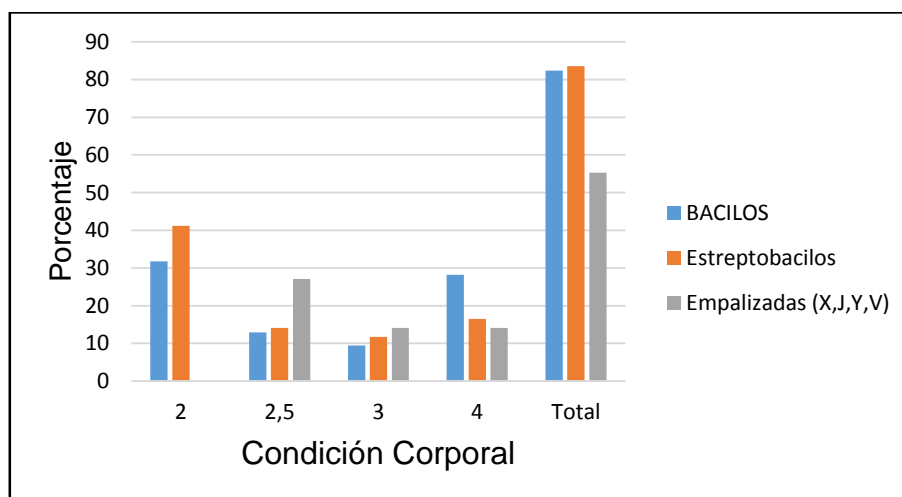
**Figura 19.** Bacilos encontrados en la coloración de Gram según los días post parto

#### 4.4.13. Bacilos Encontrados en la Coloración de Gram Según la Condición Corporal

**Cuadro 21.** Bacilos encontrados mediante la coloración de Gram en vacas post parto según su condición corporal (%)

Formas Bacilares	Condición Corporal								Total	
	2		2,5		3		4			
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%
<b>Bacilos</b>	27	31,76		12,94	8	9,41	24	28,24	70,00	82,35
<b>Estreptobacilos</b>	35	41,18	12	14,12	10	11,76	14	16,47	71,00	83,53
<b>Empalizadas (x, j, y, v)</b>	0	0,00	23	27,06	12	14,12	12	14,12	47,00	55,29

Los bacterias registradas según la tinción de Gram en cuanto a la condición corporal encontramos que un 31,76 % de vacas con condición corporal 2, el 12,94 % con condición corporal 2,5; el 9,41 % con condición corporal 3 y el 28,24 % de vacas con condición corporal 4 tuvieron la presencia de Bacilos; mientras que el 41,18 % con condición corporal 2, el 16,47 % con condición corporal 4, el 11,76 % con condición corporal 3 y el 14,12 % de vacas con condición corporal 2,5 presentaron estreptobacilos en las secreciones; el 27,06 % con condición corporal 2,5 y , el 14,12 % de vacas con condición corporal 3 y 4, presentaron empalizadas



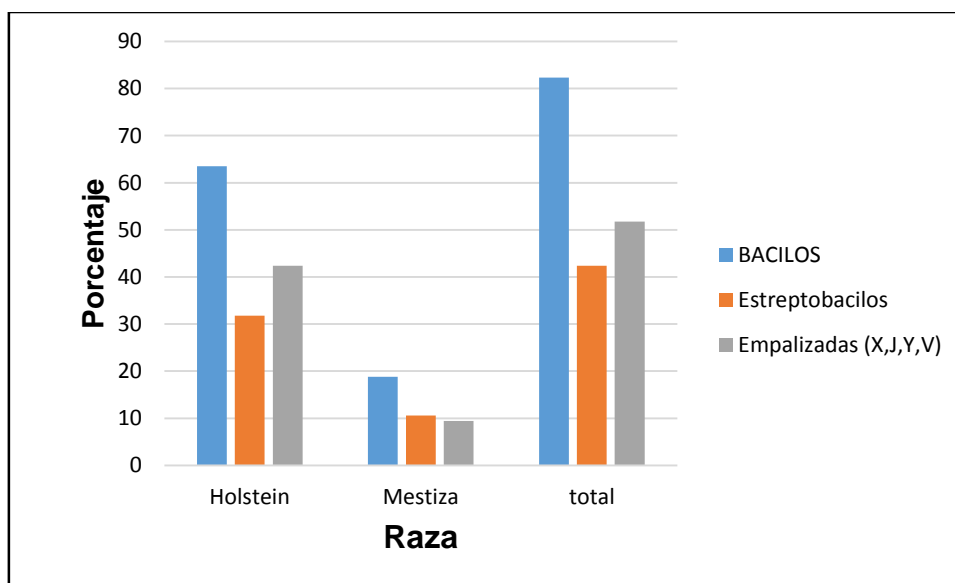
**Figura 20.** Bacilos encontrados en la coloración de Gram según la condición corporal

#### 4.4.14. Bacilos Encontrados en la Coloración de Gram Según la Raza

**Cuadro 22.** Bacilos encontrados en secreciones de vacas post parto según la raza en la hoya de Loja (%)

Formas bacilares	Raza				Total	
	Holstein		Mestiza			
	f	%	f	%	f	%
<b>Bacilos</b>	54	63,53	16	18,82	70	82,35
<b>Estreptobacilos</b>	27	31,76	9	10,59	36	42,35
<b>Empalizadas (x, j, y, v)</b>	36	42,35	8	9,41	44	51,76

En el cuadro 22 se puede evidenciar que el 63,53 % de vacas pertenecientes a la raza Holstein, y el 18,82 % de vacas de raza mestiza presentaron bacilos; el 31,76 % de vacas de raza Holstein, el 10,59 % de vacas de raza mestiza se tuvieron Estreptococos; mientras que el 42,35 % de vacas de raza Holstein, el 9,41 % de la raza mestiza se presentaron bacilos en forma de empalizadas a la tinción de Gram



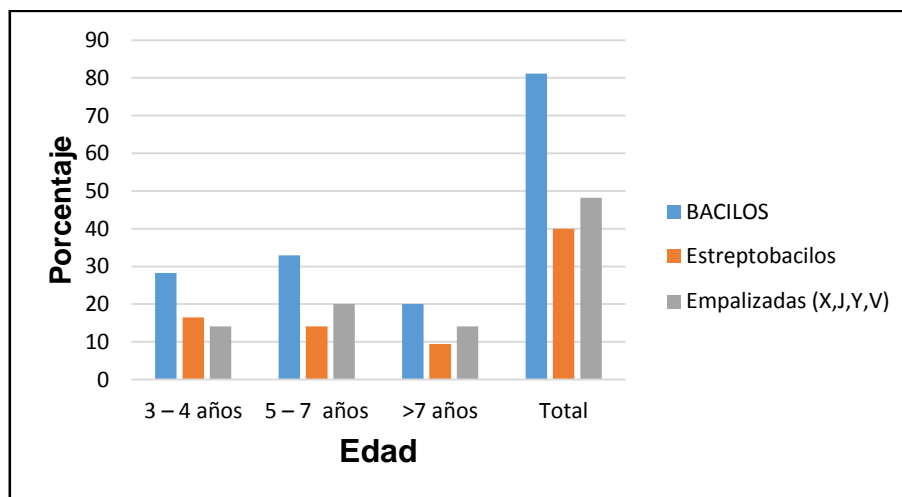
**Figura 21.** Bacilos encontrados en la coloración de Gram según la raza

#### 4.4.15. Bacilos Encontrados en la Coloración de Gram Según la Edad

**Cuadro 23.** Formas bacilares encontradas mediante la coloración de Gram en vacas post parto según la edad (%)

Formas Bacilares	Edad						Total	
	3 – 4 años		5 – 7 años		> 7 años			
	f	%	f	%	f	%	f	%
<b>Bacilos</b>	24	28,24	28	32,94	17	20,00	69,00	81,18
<b>Estreptobacilos</b>	14	16,47	12	14,12	8	9,41	34,00	40,00
<b>Empalizadas (x, j, y, v)</b>	12	14,12	17	20,00	12	14,12	41,00	48,24

En el presente cuadro se observa que el 32,94 % de vacas post parto comprendidas entre cinco y siete años, el 28,24 % de vacas entre tres y cuatro años y el 20 % de vacas mayores a siete años, presentaron bacilos en sus secreciones; El 16,47 % de vacas entre tres y cuatro años, el 14,12 % de vacas entre cinco y siete años y el 9,41 % de vacas mayores a 7 años, tuvieron la presencia de estreptobacilos; finalmente, el 20% de vacas entre cinco y siete años, y el 14,12 % tanto de vacas entre tres y cuatro años y mayores de siete años, presentaron formas bacilares empalizadas.



**Figura 22.** Formas Bacilares encontrados en la coloración de Gram según la edad

## 5. DISCUSIÓN

Según los datos obtenidos en la presente investigación, de la totalidad de vacas en post parto observadas en las ganaderías de la Hoya de Loja, se determinó la presencia de una mucosa normal, de color rosado; lo cual coincide con lo manifestado por Rizo (1980), quien en su investigación observó que las características presentadas por la mucosa vaginal de vacas en cuanto a su color, éste fue rosado o rosado pálido

Marek (1973), señala que el color de la mucosa es lo primero a tener en cuenta, ya que el aire que se introduce por la maniobra, crea ciertas modificaciones del mismo. También indica que el color está relacionado con el nivel de estrógenos en la sangre, ya que en proestro y estro, se halla hiperémica y en diestro, anémica.

En lo referente al color de las secreciones cervicales se notó un moco transparente sin presencia de loquios, lo cual fue determinado mediante observación directa. Todas las vacas incluidas en la muestra ya sean por raza, edad, número de partos, días post parto y condición corporal, no presentaron alteración alguna de esta secreción, asumiendo que las vacas estudiadas al momento de observar las características de su mucosa cervical, se encontraban aparentemente sanas.

Según Rutter (2009), la presencia de olor en el moco vaginal entre los días 21 y 28 post parto refleja una gran carga bacteriana intrauterina; material vaginal muco purulento o purulento y con olor fétido hay que asociarlo a un gran crecimiento de bacterias no oportunistas en el útero. *Arcanobacterium pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum* y *Proteus* se asocian a moco purulento, en cambio *Arcanobacterium pyogenes*, *Escherichia coli* y *M. haemolytica* se asocian a olores fétidos; en los dos casos hay infección uterina, con las consecuencias que deriva de la misma en el futuro fértil del animal; en nuestras ganaderías no existió ningún olor anormal, presumiendo así que los animales se encontraban en buenas condiciones reproductivas.

Las variaciones en los valores de pH, pueden depender de múltiples factores (entre otros, biológicos, nutricionales, patológicos, climáticos), pero sus efectos en la reducción de la fertilidad del hato, son ampliamente reconocidos (López *et al.* 2008).

En la muestra de estudio, el 95,29 % de animales tuvieron un pH vaginal menor o igual a 7; mientras que un 4,71 % tuvieron un pH vaginal mayor a 7. Dentro del grupo de animales que tuvieron un pH menor o igual a 7, el 70,59 % perteneció a la raza Holstein, mientras que el 24,71 % perteneció a la raza mestiza. Los valores de pH encontrados en este estudio coinciden con los reportados por Beckwith-Cohen *et al.*, (2012), quien encontró valores de pH promedio de 7,35 y 7,58 para novillas y vacas multíparas respectivamente; No obstante, otros autores mencionan que en estudios anteriores, han citado variaciones de pH vaginal entre 5,52 y 8,60. Esto podría deberse a las diferentes condiciones climáticas, genéticas y de manejo alimenticio, que marcan variaciones en el ganado en las diferentes regiones del planeta (*Kadokawa et al. 2012*).

De acuerdo a los reportes de pH vaginal encontrado en la presente investigación, se puede determinar que los animales estudiados, se encontraban con un tracto reproductivo dentro de los parámetros normales para vacas post parto.

Con relación a la edad, el 36,47 % de los animales comprendidos entre 5 y 7 años, el 29,41 % de los mayores a 7 años; y el 27,06 %, de los comprendidos entre 3 y 4 años, presentaron un  $\text{pH} \leq 7$ ; mientras que apenas el 4,71 % de los animales comprendidos entre 3 y 4 años, tuvieron un pH vaginal  $> 7$ . A pesar de no encontrar reportes al respecto, podemos decir que la gran mayoría de animales muestreados, presentaron un pH normal, capaz de poder ofrecer un medio adecuado para una correcta involución del tracto reproductivo de las vacas post parto.

De acuerdo al número de partos, el 52,94 % de los animales que han tenido entre 1 y 2 partos, el 23,53 % de los que han tenido entre 3 y 4 partos, y el 18,82 %, de los que han tenido más de cinco partos, presentaron un  $\text{pH} \leq 7$ ; mientras que el 2,35 % de los animales comprendidos entre 1 y 2 partos y el 1,18 % de los comprendidos entre 3 y 4 partos y más de 5 partos, tuvieron un pH vaginal  $> 7$ .

Los valores de pH encontrados en este estudio para vacas multíparas, coincide con quienes encontraron que los valores promedios de pH, se mantuvieron estables para las vacas multíparas antes y después del parto en alrededor de 7,50; en el grupo de

novillas de primer parto, el pH medio fue de 7,25 una semana antes del parto; incrementándose a 7,75 la semana posterior al parto y estabilizándose finalmente en alrededor de 7,50. Esto podría deberse tanto a razones genéticas como a las diferentes condiciones pre y post parto, en que se encuentran las vacas de más alta producción, lo cual afecta su desempeño en general e implica respuestas fisiológicas diferentes, ante condiciones de alta exigencia productiva (Collier et al., 2012).

De acuerdo a los días post parto, el 47,06 % de los animales que han tenido entre 21 a 30 días post parto, el 28,24 % de los animales que han estado entre el primero al décimo día, y 20 % de los que han estado dentro de 11 a 20 días, presentaron un pH de  $\leq 7$ ; mientras que el 3,53 % de los animales comprendidos entre el 1 al 10 días y el 1,18 % de los comprendidos entre los 11 a 20 días, tuvieron un pH vaginal  $> 7$ .

En términos generales, el rango de pH vaginal que se mantuvo en la mayoría de las vacas, fue entre de  $\leq 7$ . Las variaciones en los valores de pH, pueden depender de múltiples factores (entre otros, biológicos, nutricionales, patológicos, climáticos), pero sus efectos en la reducción de la fertilidad del hato son ampliamente reconocidos (López et al., 2008).

La gran mayoría de los animales con pH menor o igual a 7 tuvieron una condición corporal de 2,5 a 3 por lo que podemos deducir que la condición corporal de la vacas pota parto de la hoya de Loja es un factor importante en el mantenimiento de un pH adecuado para la recuperación del tracto genital reproductivo.

En lo que respecta a la presencia de microorganismos en el moco cervico vaginal de vacas post parto de la hoya de acuerdo con la edad, raza, condición corporal, puerperio y número de partos. Las bacterias encontradas en el moco cervical de vacas post parto de la hoya de Loja fueron formas cocoides como diplococos, estreptococos, tétrada, y formas bacilares estafilococos, bacilos, estreptobacilos, empalizadas (x, j, y, v).

Similares resultados han sido reportados por autores diversos, estas bacterias se han aislado en estudios anteriores según las referencias de Panangala y Barnum, (1978), Otero et al (2000), Rocha et al. (2004), Alba y Silveira (2006), Fernández et al (2006) Boscan et al. (2010), Sánchez et al (2011). Los microorganismos aislados en los hisopos vaginales de vacas post parto muestran una microflora vaginal saprofítica la cual se considera normal. Esta microflora, a pesar de no producir enfermedad en el animal, está representada por bacterias saprofitas y oportunistas (Alba y Silveira, 2006; Fernández et al 2006)

Además, según Alba y Silveira (2006), muchos de los gérmenes de la microbiota normal exacerban su virulencia cuando son acompañados por otros microorganismos del medio externo, dando origen a cuadros infecciosos.



## 6. CONCLUSIONES

Luego de haber realizado un análisis de los resultados se puede llegar a las siguientes conclusiones:

- La presencia de una mucosidad acuosa y sin alteraciones en cuanto a su color y olor, permite concluir que las vacas de la Hoya de Loja, poseen un tracto reproductivo sano.
- La mayoría de vacas que conformaron la muestra de la presente investigación considerando su edad, raza, condición corporal y puerperio, presentaron un pH vaginal  $\leq 7$ , lo cual indica que el medio vaginal es ideal para el desarrollo normal de actividad reproductiva, sin riesgos de infección.
- Los hallazgos permiten demostrar que en la mucosa cérvico-vaginal de vacas post parto en las fincas de la hoya de Loja, residen microorganismos bacterianos que bajo condiciones de estudio conforman la flora normal del postparto temprano; y que por lo tanto, no constituyen riesgo infeccioso que conlleve a complicaciones en cualquier etapa reproductiva del animal.
- Los resultados de este estudio sientan las bases para futuras investigaciones sobre patógenos potenciales que pudieran causar procesos infecciosos en las vacas reproductoras de la hoya de Loja; sirviendo además para la comparación con vacas en etapa reproductiva con problemas de fertilidad por causa de microorganismos, especialmente bacterianos.

## 7. RECOMENDACIONES

- Es imperativo continuar con estudios tendientes a la identificación y caracterización de la flora bacteriana del tracto reproductor de las vacas postparto, así como de otros microorganismos (hongos y parásitos) que pudiesen estar presentes en la vagina de las vacas en producción.
- Se recomienda implementar estudios con técnicas más sensibles y específicas para el diagnóstico bacteriano, como PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), lo cual permitirá construir una base de datos precisa sobre los microorganismos patógenos o no patógenos que puedan afectar el tracto reproductor de las hembras bovinas en la hoya de Loja.
- Recomendar a los ganaderos de la zona, la implementación de un control periódico del pH vaginal en las vacas, como complemento diagnóstico de enfermedades del aparato reproductor de toda ganadería lechera especializada, con el fin de identificar variaciones anormales y en base a ello establecer los tratamientos preventivos o correctivos necesarios.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- ✓ Aguilar, R. (2012). Histophilussomi. Mexico: revista mexicana de ciencias pecuaria.
- ✓ Berrios, P. (1982). Aislamiento del virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina en un brote de aborto en la zona sur de Chile. Chile.
- ✓ Biasoli, M. (2013). Centro de referencia micológica; materiales\_2013/teoricos\_2013/candidiasis\_2013-1.pdf . Disponible en: <http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/file.php/118/>.
- ✓ Celada, J. (2010). Brucelosis bovina.
- ✓ Collier, R; Hall, I.; Rungruang, S; Zimbleman, R. ( 2012). Quantifying heat stress and its Impact on metabolism and performance. Departament of animal sciences. University of Arizona.
- ✓ Cucarella, C. (2010). Expresion of the biofilm-associated protein interferes.
- ✓ Fernández, A. (2006). La leucorrea vaginal bovina de carácter no inflamatorio y. España: revista electrónica de veterinaria redvet.
- ✓ Fmvz-Unam. (2000). Leptospira.
- ✓ Gamazo, (2005). Tinción de gram manual práctico de microbiología. 3ra ed:. Barcelona España.
- ✓ Gómez, A. (2006). La leucorrea vaginal bovina de carácter no inflamatorio y su significación clínica. Revista electrónica de veterinaria redvetaguilar. .
- ✓ Isenberg, (1992). Clinical microbiology procedures handbook.
- ✓ Jm, R. (1980). Infecciones uterinas informe final del tema . La habana.

- ✓ Kadokawa, Sakatani. (2012). Perspectives on improvement of reproduction in cattle during heat stress in a future japana anim
- ✓ Lojan, C. (2011). Determinación de los niveles de calcio, fosforo,magnesio en e de producción de la hoya de loja. Loja: loja.
- ✓ López, C. (2008). Evaluación productiva y reproductiva de ganado bovino en la transición de su composición racial en la cooperativa astoria, departamento de la paz. Tesis ing. Agr. El salvador. Ues.
- ✓ Manos, J. (2013). Bacterias presentes en vacas con problemas de infertilidad.
- ✓ Marek, J. (1973). Tratado de diagnóstico clínico de las Enfermedades internas de los animales domésticos, editorial labor.
- ✓ Meza, J. ( 2013). Patología relacionadas con el tracto reproductivo en hervivoros , primates,.
- ✓ Ocando, J. (2010). Perfil de la flora bacteriana vaginal. Un riesgo potencial. Limonero: revista científica, fcv-luz / vol. Xx, nº 3, 227 - 234, 2010.
- ✓ Paccha, A. (2012). Diagnóstico de tuberculosis bovina,. Loja .
- ✓ Perez, (2005). Campilobacteriosis.
- ✓ Rizo, J,( 1983) Características clínicas de la endometritis de la vaca holstein en cuba. Rev salud anim
- ✓ Rondón, I. (2006). Diarrea viral bovina . Colombia : print version .
- ✓ Rutter, B, (1999). aislamientos bacterianos en hembras bovinas lecheras con partos normales y asistidos con distintos trastornos puerperales
- ✓ Sánchez, M. (2011). Evaluación citológica y microbiologic de lavados uterinos . Colombia .

- ✓ Sanchez, M. (2011). Evaluacion citologica y microbiologica de lavados uterinos en bovinos con problemas reproductivos
- ✓ Suquilanda, R. (2015). Prevalencia de tuberculosis bovina (tbb), en el cantón loja mediante inspección post mortem en el camal frigorífico de loja. Loja.
- ✓ Tellez, M. (1997). Flora microbiana y fisiologia reproductiva. Colombia: colombiano agropecuario.

## 9. ANEXOS

### Anexo 1

Registro de datos de identificación de las granjas.

Fecha de Recolección	# de ficha	Nombre de lugar	Propietario	Nombre de la vaca
10/06/2015	1	Hacienda Carigan	Militares	7 BI
10/06/2015	2	Hacienda Carigan	Militares	leonor
10/06/2015	3	Hacienda Carigan	Militares	MARISOL
10/06/2015	4	Manzano carrigan	Mercedez Maza	Cacha
11/06/2015	5	Argelia	..	negra buena
11/06/2015	6	nudo de cajanuma	Maria Sanchez	Bonita
11/06/2015	7	Zalapa Alto	Maria Poma	Rabiosa
11/06/2015	8	Zalapa Alto	Maria Poma	Maria Luisa
11/06/2015	9	Zalapa Alto	Morfilio Paccha	Mochita
24/06/2015	10	San Francisco	Nelson Songor	Pulga
24/06/2015	11	La paz	Hugo Rodrigez	negrita
24/06/2015	12	la delicia	Shubert Jaramillo	Lila
24/06/2015	13	la delicia	Shubert Jaramillo	Roxi
17/08/2015	14	las truchas	Luis Venavides	70
17/08/2015	15	Las truchas	Luis Venavides	Cielito
17/08/2015	16	jipiro alto	Olga Villamagua	Cuma
17/08/2015	17	hcd. Jipiro	Josefina Valdivieso	Choleta
17/08/2015	18	hcd. Jipiro	Josefina Valdivieso	Ceniza
17/08/2015	19	hcd. Jipiro	Josefina Valdivieso	Churona
17/08/2015	20	Zamora Huaico	Luis Gualan	Mochita
17/08/2015	21	Zamora Huaico	Luis Gualan	Cachito Roto
17/08/2015	22	Zamora Huaico	Luis Gualan	Pintada
23/07/2015	23	hcd. San Isidro	Mario Manzino	yeta
23/07/2015	24	hcd. San Isidro	Mario Manzino	Kuka
23/07/2015	25	Seminario	Seminario	..
23/07/2015	26	Seminario	Seminario	
30/07/2015	27	Los Alisos	Jose Paul Gutierrez	Intrusa 1
30/07/2015	28	Los Alisos	Jose Paul Gutierrez	vilma
30/07/2015	29	Los Alisos	Jose Paul Gutierrez	Adriana
30/07/2015	30	Los Alisos	Jose Paul Gutierrez	Violeta
30/07/2015	31	Los Alisos	Jose Paul Gutierrez	Tina
30/07/2015	32	La cruz	Jorge Paez	Dulce
30/07/2015	33	La cruz	Jorge Paez	carmita
31/07/2015	34	Hcd. Burneo	Ramon Burneo	

31/07/2015	35	Hcd. Burneo	Ramon Burneo	
31/07/2015	36	Hcd. Burneo	Ramon Burneo	
31/07/2015	37	Hcd. Burneo	Ramon Burneo	
31/07/2015	38	Zalapa	Ramiro Ludeña	Conchita
31/07/2015	39	Zalapa	Carmen Agredaa	Negra
31/07/2015	40	Motupe	Jose Nero	Rosarito
11/08/2015	41	Motupe	Flor Cueba	Pulga
11/08/2015	42	Motupe	Flor Cueba	negrita
11/08/2015	43	Motupe	Flor Cueba	Lila
11/08/2015	44	Motupe	Flor Cueba	Roxi
11/08/2015	45	Motupe	Manuela Gonzales	Conchita
11/08/2015	46	Motupe	Manuela Gonzales	negrita
11/08/2015	47	Motupe	Pedro Alvarado	Pintada
11/08/2015	48	Motupe	Pedro Alvarado	Chambita
11/08/2015	49	Motupe	Pedro Alvarado	rosmery
11/08/2015	50	Motupe	Maria Quito	julia
26/08/2015	51	Motupe	Diego Matailo	lenteja
26/08/2015	52	Zalapa	Rodrigo Montalven	MARISOL
26/08/2015	53	Zalapa bajo	Rodrigo Montalven	Cacha
02/09/2015	54	Zalapa bajo	Rodrigo Montalven	negra buena
02/09/2015	55	Zalapa bajo	Maria Gonzales	Bonita
02/09/2015	56	Zalapa bajo	Maria Gonzales	Rabiosa
02/09/2015	57	Zalapa bajo	Maria Gonzales	Maria Luisa
10/09/2015	58	Zalapa bajo	Maria Gonzales	Mochita
10/09/2015	59	Capuli	Beatriz Pinta	Pulga
10/09/2015	60	Capuli	Teodoro Pinta	negrita
10/09/2015	61	Capuli	Teodoro Pinta	Lila
10/09/2015	62	Capuli	Teodoro Pinta	Roxi
16/09/2015	63	Chonta Cruz	Cronelio Reyes	70
16/09/2015	64	Chonta Cruz	Cronelio Reyes	Cielito
16/09/2015	65	Chonta Cruz	Cronelio Reyes	Cuma
16/09/2015	66	Chonta Cruz	Cronelio Reyes	Choleta
16/09/2015	67	Chonta Cruz	Flor Cueva	Ceniza
17/09/2015	68	Chonta Cruz	Flor Cueva	Churona
17/09/2015	69	Ciudad Victoria	Flor Cueva	Mochita
17/09/2015	70	Ciudad Victoria	olga Cumbicos	Cachito Roto
17/09/2015	71	Ciudad Victoria	olga Cumbicos	Pintada
17/09/2015	72	Ciudad Victoria	olga Cumbicos	yeta

23/09/2015	73	Ciudad Victoria	Enma Paredes	Kuka
23/09/2015	74	Amable Maria	Enma Paredes	MARISOL
23/09/2015	75	Amable Maria	Enma Paredes	Cacha
23/09/2015	76	Amable Maria	Enma Paredes	negra buena
23/09/2015	77	Amable Maria	Guillermo Ordoñez	Bonita
23/09/2015	78	Amable Maria	Guillermo Ordoñez	Rabiosa
24/09/2015	79	Amable Maria	Guillermo Ordoñez	Maria Luisa
24/09/2015	80	Amable Maria	Guillermo Ordoñez	Mochita
24/09/2015	81	Amable Maria	Lucrecia Alejandro	Pulga
24/09/2015	82	Menfis	Claudio Granda	negrita
24/09/2015	83	Menfis	Claudio Granda	Lila
24/09/2015	84	Menfis	Jonathan Pardo	Roxi
24/09/2015	85	Menfis	Jonathan Pardo	70



## Anexo 2

Registro de datos reproductivos y estado de los animales.

# de ficha	Edad	Raza	C:C	# de Partos	Dias post parto	Ph	Color	Olor	Acuoso
1	10	Mestiza	3	5	21	7	rosado	ninguno	
2	8	Holstein	3	3	21	7	rosado	ninguno	p
3	5	Holstein	3	2	30	7	rosado	ninguno	p
4	3	Holstein	3	1	12	7	rosado	ninguno	
5	4	Mestiza	2,5	1	30	7	rosado	ninguno	
6	3	Holstein	2	1	30	7	rosado	ninguno	
7	10	Mestiza	2	2	7	7	rosado	ninguno	p
8	4	Holstein	4	2	7	8	rosado	ninguno	
9	5	Holstein	4	5	4	7	rosado	ninguno	
10	3	Holstein	3	1	10	7	rosado	ninguno	p
11	5	Holstein	2,5	3	30	7	rosado	ninguno	
12	4	Holstein	3	3	19	8	rosado	ninguno	
13	6	Holstein	3	3	9	7	rosado	ninguno	p
14	5	Holstein		2	8	7	rosado	ninguno	
15	3	Holstein	3	1	4	8	rosado	ninguno	
16	4	Holstein	3	5	3	8	rosado	ninguno	
17	5	Holstein	2,5	2	30	7	rosado	ninguno	p
18	6	Holstein	2	3	30	7	rosado	ninguno	
19	9	Holstein	2	7	20	7	rosado	ninguno	p
20	8	Holstein	2,5	5	30	7	rosado	ninguno	p
21	7	Holstein	2,5	5	22	7	rosado	ninguno	
22	4	Holstein	2,5	2	28	7	rosado	ninguno	p
23	5	Holstein	3	4	23	7	rosado	ninguno	
24	5	Holstein	3	2	30	7	rosado	ninguno	p
25	8	Holstein	3	6	26	7	rosado	ninguno	
26	10	Holstein	3	6	11	7	rosado	ninguno	p
27	6	Holstein	3	3	15	7	rosado	ninguno	p
28	3	Holstein	3	1	4	7	rosado	ninguno	p
29	3	Holstein	3	1	7	7	rosado	ninguno	p
30	5	Holstein	2,5	2	28	7	rosado	ninguno	
31	7	Holstein	3	4	19	7	rosado	ninguno	
32	9	Holstein	4	2	2	7	rosado	ninguno	
33	3	Holstein	2,5	2	30	7	rosado	ninguno	p
34	6	Holstein	2,5	2	3	7	rosado	ninguno	p

35	6	Holstein	3	1	10	7	rosado	ninguno	
36	4	Holstein	3	2	15	7	rosado	ninguno	
37	10	Holstein	3	6	8	7	rosado	ninguno	p
38	4	Mestiza	3	2	5	7	rosado	ninguno	
39	5	Holstein	3	3	15	7	rosado	ninguno	
40	3	Mestiza	3	2	25	7	rosado	ninguno	p
41	5	Mestiza	2,5	2	25	7	rosado	ninguno	
42	6	Mestiza	3	3	30	7	rosado	ninguno	
43	4	Mestiza	2,5	2	12	7	rosado	ninguno	
44	7	Mestiza	2,5	4	18	7	rosado	ninguno	
45	8	Mestiza	2,5	4	17	7	rosado	ninguno	
46	6	Mestiza	2,5	2	15	7	rosado	ninguno	p
47	2	Mestiza	3	1	30	7	rosado	ninguno	p
48	7	Mestiza	3	3	15	7	rosado	ninguno	p
49	5	Mestiza	3,5	2	22	7	rosado	ninguno	p
50	4	Mestiza	2	1	11	7	rosado	ninguno	p
51	4	Mestiza	2	2	16	7	rosado	ninguno	p
52	10	Mestiza	3	5	21	7	rosado	ninguno	
53	8	Holstein	3	3	21	7	rosado	ninguno	p
54	5	Holstein	3	2	30	7	rosado	ninguno	
55	3	Holstein	3	1	12	7	rosado	ninguno	p
56	4	Mestiza	2,5	1	30	7	rosado	ninguno	p
57	3	Holstein	2	1	30	7	rosado	ninguno	p
58	10	Mestiza	2	2	7	7	rosado	ninguno	
59	4	Holstein	4	2	7	7	rosado	ninguno	p
60	5	Holstein	4	5	4	7	rosado	ninguno	p
61	3	Holstein	3	1	10	7	rosado	ninguno	
62	5	Holstein	2,5	3	30	7	rosado	ninguno	
63	4	Holstein	3	3	19	7	rosado	ninguno	p
64	6	Holstein	3	3	9	7	rosado	ninguno	p
65	5	Holstein	2	2	8	7	rosado	ninguno	p
66	3	Holstein	3	1	4	7	rosado	ninguno	
67	4	Holstein	3	5	3	7	rosado	ninguno	p
68	5	Holstein	2,5	2	30	7	rosado	ninguno	
69	6	Holstein	2	3	30	7	rosado	ninguno	
70	9	Holstein	2	7	30	7	rosado	ninguno	p
71	8	Holstein	2,5	5	30	7	rosado	ninguno	p
72	7	Holstein	2,5	5	22	7	rosado	ninguno	
73	4	Holstein	2,5	2	28	7	rosado	ninguno	p
74	5	Holstein	3	4	23	7	rosado	ninguno	p

75	5	Holstein	3	2	30	7	rosado	ninguno	p
76	8	Holstein	3	6	26	7	rosado	ninguno	
77	10	Holstein	3	6	23	7	rosado	ninguno	
78	6	Holstein	3	3	30	7	rosado	ninguno	p
79	3	Holstein	3	1	24	7	rosado	ninguno	
80	4	Holstein	3	1	26	7	rosado	ninguno	p
81	5	Holstein	2,5	2	28	7	rosado	ninguno	
82	5	Holstein	3	4	19	7	rosado	ninguno	
83	8	Holstein	4	2	2	7	rosado	ninguno	
84	10	Holstein	2,5	2	30	7	rosado	ninguno	
85	6	Holstein	2,5	2	3	7	rosado	ninguno	

### Anexo 3.

#### Control de resultados microbiologicos

# de ficha	Gram +	Gram -	Cocos	Diplococos	Esteptococos	Tetra da	Staphylococcus	Bacilos	Estrepto bacilos	Empalizadas (X,J,Y,V)
1	P	P		P			P	P		
2		P	p		p			p		
3	P		P	P	P					
4	p		p					p		
5		p	p	p	p	p			p	
6		p	p	p	p	p		p	p	p
7		p	P							
8		p	p	p	p	p			p	p
9		p	p							
10		p	p							p
11		p	p	p		p	p			
12		p	p						p	
13		p	p	p	p	p		p		p
14		p	p				p			p
15		p	p	p						p
16	p		p		p	p		p	p	
17	p			p		p	p		p	
18	p			p		p		p		p
19	p		p	p		p	p	p	p	p
20		P		P			P	P		
21	p			p			p			p
22	P		P	P	P	p	p			
23	p									
24		p	p	p	p	p			p	p
25		p	p	p	p	p	p	p	p	p
26	p						p		p	p
27		p	p	p	p	p			p	
28		p	p							p
29	p		p			p		p	p	
30		p	p	p		p				
31		p	p				p		p	
32		p	p	p	p			p		p
33		p	p			p				p
34		p	p	p			p			p

35	p		p		p	p		p	p	p
36	p			p		p			p	p
37	p			p		p		p		p
38	p		p	p		p		p	p	p
39	p									
40		p	p	p	p			p		
41		p	p				p			
42		p	p	p						p
43	p		p		p	p		p	p	
44	p			p		p			p	
45	p			p		p		p		p
46	p		p	p		p		p	p	p
47		p		p						
48	p			p	p	p		p	p	p
49	p		p				p			
50	p			p	p					
51		p				p	p		p	
52	p		p		p		p		p	p
53		p		p				p		
54		p	p	p						
55		p	p		p	p		p	p	
56	p			p		p			p	p
57		p		p		p		p		
58	p		p	p		p		p	p	p
59		p		p						p
60	p			p	p	p		p	p	p
61		p	p				p			
62	p			p	p					p
63		p					p		p	
64	p		p		p					
65	p			p	p		p	p		
66	p		p		p			p	p	p
67		p	p		p		p			p
68		p	p		p		p	p	p	p
69	p		p							p
70	p		p	p	p		p	p	p	p
71		p				p			p	p
72		p	p							
73		p		p	p		p	p	p	
74	p		p		p		p	p		

75	p		p		p		p		p	p
76		p	p		p		p	p		p
77	p		p							p
78		p	p	p	p		p	p	p	p
79	p			p		p				p
80		p	p				p			p
81	p			p	p		p	p	p	
82		p	p		p			p		p
83	p		p		p		p		p	
84		p	p		p		p	p		
85		p	p	p	p		p		p	

**Anexo 4**

Imágenes sobre toma de muestras y análisis en el laboratorio.



**Foto1.** Sujecion e identificacion del animal.



**Foto 2.** Lavado de la zona perianal



**Foto 3.** Inspeccion de la vagina



**Foto 4.** Toma de la muestra de moco cervical.

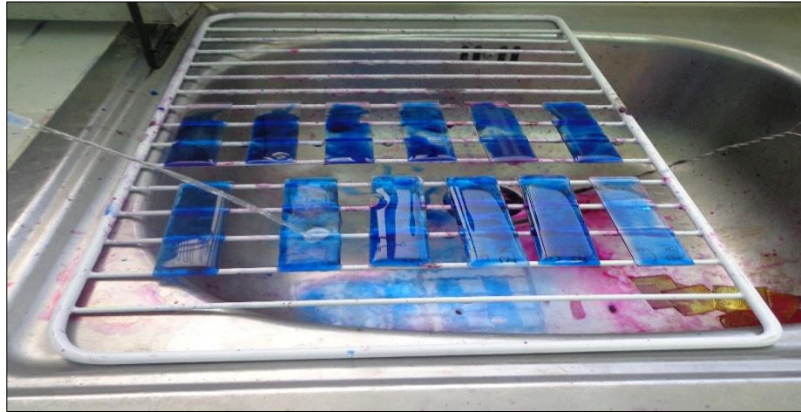


**Foto 5.** Muestras listas para ser analizadas en el laboratorio



**Foto 6.** Sustancias para las tinciones

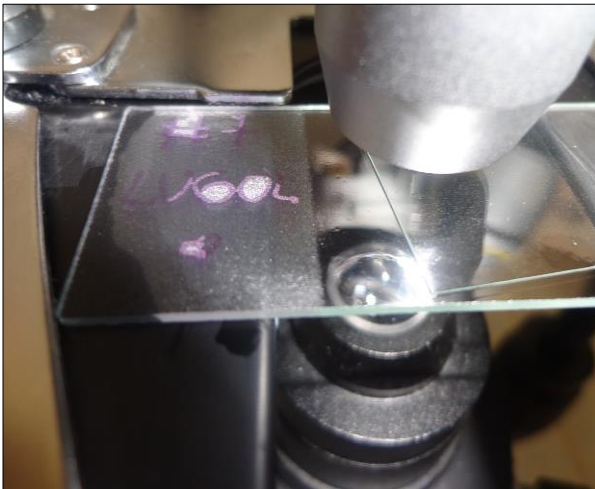




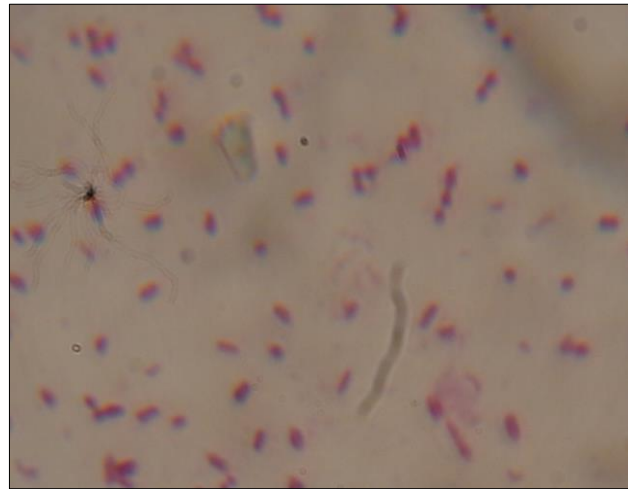
**Foto 7.** Tinción de las muestra



**Foto 8.** Placas listas para ser observadas al microscopio



**Foto 9.** Identificación al microscopio



**Foto 10.** Bacterias observadas al microscopio