



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“Efectos de la suplementación de zeolita en la salud e involución uterina y el retorno de la ciclicidad ovárica postparto en vacas lecheras del cantón Cuenca-Ecuador”

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista

Autores:

Franklin Israel Sinchi Merchán

CI: 0105323133

Correo electrónico: franklin.sinchi.merchan@gmail.com

Jenny Fernanda Zuin Jarro

CI: 0105729164

Correo electrónico: fernanda.zuinj@gmail.com

Director:

Dr. Diego Fernando Rodríguez Saldaña Mg.

CI: 0103839308

Cuenca - Ecuador

03-enero-2020

Resumen

La clinoptilolita en la dieta bovina actúa como sustancia antioxidante y alcalinizante a nivel ruminal, estudios demuestran que funciona como secuestrante de aflatoxinas y ayuda a fortalecer el sistema inmune de forma indirecta. El objetivo del presente estudio fue evaluar la acción de zeolita en las vacas lecheras en la etapa postparto, y su efecto sobre los polimorfonucleares endometriales, intervalo parto-primer servicio, intervalo parto-concepción, ciclicidad ovárica, involución uterina y producción acumulada. Se emplearon en total 60 vacas mestizas (Holstein-friesian), multíparas, condición corporal entre 2,5 – 3,5, clínicamente sanas (haciendas: La Europea, Cumbe S.A. e Irquis); la dieta ofrecida fue a base de pastos más balanceado; mediante la distribución aleatorizada se conformaron dos grupos de 30 animales cada uno: control (GC) y tratamiento (GZ); GZ, consumió 50 y 200 g de zeolita, empleados desde 15 y hasta 60 días pre y postparto, respectivamente; se evaluaron, a los 34 a 47 días post-parto con citología endometrial; además, se valoró la involución uterina (IU), reinicio de la ciclicidad ovárica (RCO), intervalo parto primer servicio (IPPS), intervalo parto-concepción (IPC) y la producción acumulada (PA) a los 100 días. El porcentaje de polimorfonucleares fue menor ($P<0,0001$) en el GZ (2,89%). Mientras que, la IU, IPPS, RCO, IPC y la PA no variaron ($P>0,05$) entre tratamientos. En conclusión, la inclusión de zeolita en la dieta bovina mejoró la salud uterina. Por lo cual puede adoptarse como estrategia de manejo nutricional.

Palabras clave: Salud uterina. Parámetros reproductivos. Ciclicidad ovárica. Polimorfonucleares. Endometritis.

Abstract

The clinoptilolite in the bovine diet acts as an antioxidant and alkalizing substance at the ruminal level, studies show that it works as an abductor of aflatoxins and helps strengthen the immune system indirectly. The objective of this study was to evaluate the action of zeolite in dairy cows in the postpartum period, and its effect on endometrial polymorphonuclear, calving-first service interval, calving-conception interval, ovarian cyclicity, uterine involution and accumulated production. A total of 60 mestizo cows (Holstein-friesian), multiparous, body condition between 2.5 - 3.5, clinically healthy; the diet offered was based in pastures more balanced; through randomized distribution two groups of 30 animals each were formed: control (GC) and treatment (GZ); GZ, consumed 50 and 200 g of zeolite, used from 15 to 60 days before and after delivery, respectively; were evaluated, at 34 to 47 days postpartum with endometrial cytology; In addition, the uterine involution (UI), ovarian cyclic reboot (OCR), interval calving first service (ICFS), calving-conception interval (CCI) and cumulative production (CP) at 100 days were assessed. The percentage of polymorphonuclear was lower ($P <0.0001$) in the GZ (2.89%). Meanwhile, the UI, OCR, ICFS, CCI and CP did not vary ($P > 0.05$) between treatments. In conclusion, the inclusion of zeolite in the bovine diet improved uterine health. Therefore, it can be adopted as a nutritional management strategy.

Keywords: Uterine health. Reproductive parameters. Ovarian cyclicity. Polymorphonuclear. Endometritis.



Tabla de contenido

1. INTRODUCCIÓN	17
1.1 Objetivos	19
1.1.1 General.....	19
1.1.2 Específicos	19
1.2 Hipótesis	19
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	20
2.1 Aspectos Fisiológicos de la reproducción	20
2.1.1 Factores que inciden en la reproducción	20
2.1.1.1 Factor genético o congénito	20
2.1.1.2 Factores alimenticios y nutricionales.....	20
2.1.1.3 Factor manejo	21
2.1.1.4 Factor ambiental	21
2.1.1.5 Factor salud	21
2.1.2 Eje Hipotálamo – Hipófisis – Gonadal	21
2.1.3 Fisiología de la reproducción.....	22
2.1.3.1 Funciones de FSH en el ovario	22
2.1.3.2 Funciones de LH sobre el ovario.....	22
2.2 Involución y Salud Uterina	22
2.3 Formas de evaluar la eficiencia reproductiva.....	24
2.3.1 Intervalos posparto	24
2.3.1.1 Intervalo parto – primer servicio (IPPS)	24
2.3.1.2 Intervalo parto concepción (IPC).....	25
2.4 Endometritis	25
2.4.1 Generalidades	25

2.4.2 Tipos	26
2.4.2.1 Endometritis Clínica	26
2.4.2.2 Endometritis Subclínica (ESC)	27
2.4.2.2.1 Problemática	27
2.4.2.2.2 Consecuencias reproductivas y económicas.....	27
2.4.2.2.3 Técnicas de diagnóstico	28
2.5 Zeolita	29
2.5.1 Definición y Generalidades	29
2.5.2 Mecanismos de acción de la zeolita	30
2.5.3 Evidencias experimentales de los beneficios de adición de zeolita a la dieta en vacas	31
3. MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1 Materiales	33
3.1.1 Recursos Materiales Disponibles:.....	33
3.1.2 Recursos Materiales Requeridos:.....	33
3.1.2.1 Materiales Físicos:	33
3.1.2.2 Materiales Biológicos:	33
3.1.2.3 Materiales Químicos:	33
3.1.2.4 Materiales de Laboratorio:.....	34
3.1.2.5 Materiales de Oficina:	34
3.2 Métodos	34
3.2.1 Área de estudio.....	34
3.2.2 Animales y tratamientos	36
3.2.2.1 Adición de silicatos a la dieta	36
3.2.2.2 Evaluación de la salud uterina	37



3.2.2.3	Evaluación de la involución uterina	37
3.2.2.4	Evaluación de la ciclicidad ovárica	38
3.2.2.5	Evaluación del intervalo parto primer servicio y parto concepción	38
3.3	Diseño Experimental	38
4.	RESULTADOS	39
4.1	Salud Uterina (SU)	39
4.2	Involución uterina (IU)	40
4.3	Reinicio de la ciclicidad ovárica (RCO)	41
4.4	Comportamiento reproductivo	41
4.5	Producción acumulada	42
5.	DISCUSIÓN	43
5.1	Salud Uterina	43
5.2	Involución uterina	43
5.3	Reinicio de la ciclicidad ovárica	44
5.4	Comportamiento reproductivo	45
6.	CONCLUSION	47
7.	RECOMENDACIONES	48
8.	BIBLIOGRAFÍA	49
9.	ANEXOS	65



Índice de Gráficos

Figura 1: Ubicación de la granja de Irquis	35
Figura 2: Ubicación de la granja de La Europea	35
Figura 3: Ubicación de la hacienda Cumbe S.A.	36
Figura 4: Condición corporal desde el parto hasta el 3er chequeo en vacas lecheras suplementadas y no con zeolita.	39

Índice de Tablas

Tabla 1: Número y porcentaje de PMN en vacas lecheras suplementadas o no con zeolita ($P<0,0001$).	40
Tabla 2: Progresión del diámetro del cuello uterino, luego del parto en vacas lecheras suplementadas o no con zeolita.	40
Tabla 3: Diámetro y día de detección del cuerpo lúteo en vacas lecheras suplementadas o no con zeolita.	41
Tabla 4. Intervalo parto primer-servicio, días abiertos en vacas lecheras suplementadas o no con zeolita.	41
Tabla 5: Producción de leche acumulada a los 100 días en vacas.....	42



Tabla de Anexos

Anexo 1: Alimentación de los animales, pastos y balanceado.....	65
Anexo 2: Realización de la ecografía postparto.	65
Anexo 3: Preparación para la toma de la muestra citológica - Cytobrush: Lavado de la región perianal y preparación de la pistola acoplada con citocepillo.	66
Anexo 4: Frotis de la muestra citológica intrauterina.....	66
Anexo 5: Ecografía del ovario, en su cuarta semana postparto, se observa presencia de CL (35 x 30 cm).	66
Anexo 6: Ecografía del ovario izquierdo en su cuarta semana posparto, se localiza folículos de 12 cm de diámetro,.....	66
Anexo 7: Ecografía a la tercera semana postparto: Ovario derecho presenta quiste y ovario izquierdo presenta CL (25 x 22 cm).....	67
Anexo 8: Ecografía a la tercera semana postparto, se observa un cérvix con una longitud de 4,0 x 2,5 cm.	67
Anexo 9: Ecografía a la cuarta semana postparto, se observa disminución en el diámetro del cérvix (3,8 x 2,5 cm)	67
Anexo 10: Citología: Presencia de células epiteliales del endometrio teñidas con Wright, vistas al microscopio con aumento de 100x.....	68
Anexo 11: Localización de células polimorfonucleares, muestra citológica teñida con Wright, día 45 postparto.	68
Anexo 12: Base de datos utilizada para la evaluación de variables.	75



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Yo, Sinchi Merchán Franklin Israel en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación “Efectos de la suplementación de zeolita en la salud e involución uterina y el retorno de la ciclicidad ovárica postparto en vacas lecheras del cantón Cuenca-Ecuador”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 3 de enero de 2020.

Sinchi Merchán Franklin Israel

C.I.: 0105323133



Cláusula de Propiedad Intelectual

Yo, Sinchi Merchán Franklin Israel autor del trabajo de titulación “Efectos de la suplementación de zeolita en la salud e involución uterina y el retorno de la ciclicidad ovárica postparto en vacas lecheras del cantón Cuenca-Ecuador”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 3 de enero de 2020.

Sinchi Merchán Franklin Israel

C.I: 0105323133

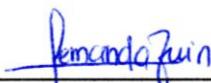


Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Yo, Zuin Jarro Jenny Fernanda en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación “Efectos de la suplementación de zeolita en la salud e involución uterina y el retorno de la ciclicidad ovárica postparto en vacas lecheras del cantón Cuenca-Ecuador”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 3 de enero de 2020



Zuin Jarro Jenny Fernanda

C.I.: 0105729164



Cláusula de Propiedad Intelectual

Yo, Zuin Jarro Jenny Fernanda autora del trabajo de titulación “Efectos de la suplementación de zeolita en la salud e involución uterina y el retorno de la ciclicidad ovárica postparto en vacas lecheras del cantón Cuenca-Ecuador”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 3 de enero de 2020.

fernandazuin

Zuin Jarro Jenny Fernanda

C.I.: 0105729164

Agradecimientos

Franklin Israel Sinchi Merchán
Jenny Fernanda Zuin Jarro

Página 12



Queremos expresar nuestra gratitud a Dios, quien con su bendición llena siempre nuestras vidas.

A empresa La Colina, nuestras gracias infinitas, quienes han contribuido significativamente en la consecución de este proyecto.

Un agradecimiento especial a Dr. Fernando Perea PhD, quien con sus acertados conocimientos y su gran don de gentes ha contribuido en la elaboración y culminación de esta investigación.

A Dr. Fernando Quito, Dr., Juan Pablo Garzón, y Dr. Guido Calle, por brindarnos su tiempo, quienes con su gran experiencia y sabios consejos han contribuido grandemente a la realización de este trabajo de titulación.

A los propietarios y administradores de las haciendas: La Europea S.A., Cumbe S.A. e Irquis, quienes nos dieron apertura, en donde fue posible la realización del proyecto.

A Dr. Diego Rodríguez, nuestro director del proyecto.

Fernanda y Franklin



Dedicatoria

Al concluir este trabajo investigativo quiero dedicarlo a todas las personas que estuvieron conmigo durante este periodo, amigos y familiares, principalmente a mis padres, Carlos y Narcisa, quienes me apoyaron a alcanzar una meta más en mi vida.

A Emilio Sebastián Sinchi Zuin, mi hijo amado, quien, a tan corta edad, se ha convertido en el pilar fundamental de mi vida y quien me da fortaleza.

El agradecimiento eterno no será suficiente a la persona que fue mi pilar fundamental, quien me apoyó incondicionalmente, quien cuando pensaba desistir me dio aliento, fuerza y esperanza, le dedico con todo el cariño y afecto a Franklin Israel Sinchi M.

Y finalmente pero no menos importante, agradezco a toda mi familia que estuvo conmigo, a mis tíos Piedad quien se convirtió en mi segunda madre, mi tía Julia, quien sin su apoyo no hubiera sido posible lograr esta meta importante.

Fernanda



Dedicatoria

A mis padres, Lola y Octavio, por ser el pilar fundamental en mi vida, por todo el apoyo brindado, por sus palabras de aliento incondicional y por siempre ser ejemplo de paciencia y perseverancia.

A mi hijo, Emilio Sebastián, porque llegó para ser el motor y fortaleza de mi vida, quien con sus travesuras y risas me dio la inspiración para finalizar ésta etapa de mi vida.

A Jenny Fernanda, por ser mi amiga y compañera de vida, quien a pesar de todas las adversidades siempre ha permanecido junto a mí acompañándome y dándome ánimos.

A mi abuelita Julia, por todo su cariño y consejos llenos de sabiduría y a Vicente, Rosa, José, Mario, Pedro, Narcisa, Luis, David, Maribel, Mayra, Jessica, Henry, Alexander y demás familiares y amigos quienes de una u otra manera me han apoyado y alentado en éste proceso.

Con amor Franklin



Abreviatura y simbología

CC: Condición corporal.

CL: Cuerpo lúteo.

DPP: Días postparto.

EC: Endometritis Clínica.

ESC: Endometritis Subclínica.

FSH: Hormona Foliculoestimulante.

IA: Inseminación Artificial.

IPC: Intervalo parto-concepción.

IPPS: Intervalo parto primer servicio.

LH: Hormona Luteinizante.

NPMN: Número de polimorfonucleares.

PA: Producción Acumulada.

PLS: Lipopolisacáridos.

PMN: Polimorfonucleares.

PPMN: Porcentaje de polimorfonucleares.

RCO: Reinicio de la ciclicidad ovárica.

SU: Salud Uterina.



1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades del útero son prevalentes en las vacas productoras de leche, se relacionan negativamente con el rendimiento reproductivo y afectan directamente la rentabilidad del hato (1). Luego del parto y antes de la próxima preñez se deben completar con éxito cuatro eventos concomitantes: involución uterina, regeneración del endometrio, reinicio de ciclicidad ovárica y eliminación de contaminación bacteriana. Comprender las interacciones útero y ovario posparto, así como reducir el impacto de la infección uterina es uno de los desafíos reproductivos que enfrentan las ganaderías en la actualidad (2).

Durante el coito y el parto, el útero está contaminado por microorganismos ambientales y perianales lo que predispone al desarrollo de enfermedades reproductivas. (3). Los signos clínicos de la enfermedad uterina, como el pus que sale del útero hacia la vagina se detectan con facilidad, pero el papel de la endometritis subclínica esta menos caracterizado y es un problema emergente. Hasta un 50% de las vacas entre 40-60 días posparto presentan neutrófilos en la luz uterina, este problema reduce significativamente la tasa de preñez (4).

Aunque la respuesta inmune uterina a los microorganismos permite la afluencia de polimorfonucleares desde la circulación periférica hasta el endometrio y la luz uterina, estos pueden sobrepasar su capacidad de respuesta desarrollando patologías (5). La obtención de muestras uterinas mediante la técnica de Cytobrush ha sido sugerida como método de predilección para diagnosticar endometritis subclínica mediante el conteo de PMN, por ser un método consistente y confiable (6).

Las zeolitas comprenden un grupo de aluminosilicatos, cuya característica principal es la ordenación tridimensional donde principalmente existe una estructura abierta; debido a esto tienen una serie de importantes propiedades prácticas, tales como alta capacidad de absorber selectivamente, capacidad de intercambio catiónico además de incorporar y ceder agua sin cambios importantes en su estructura (7–9), son catalizadores de un gran número de reacciones (10) y mejoradores de detergentes (11).

Existen estudios científicos que detallan los efectos positivos que tiene la zeolita, en el 2015 Laurino y Palmieri, realizaron una búsqueda en la base de datos Pubmed/Medline sobre investigaciones en las que se utilizó la zeolita, y en el campo veterinario encontraron una diversidad de efectos: "... mejora la condición física de las mascotas, secuestra elementos radiactivos y venenos. También tienen propiedades antioxidantes, blanqueadoras, homeostáticas y antidiarreicas...". En el campo de la nutrición, producción y reproducción animal también se han demostrado importantes hallazgos.(12).

Actualmente la clinoptilolita (zeolita natural) se está usado en la dieta de muchos animales con diferentes propósitos, por ejemplo, mejora la calidad de cascara y el rendimiento de huevos (13), además mejora el peso corporal y la tasa de conversión (14), ayuda en los problemas diarreicos, controla la humedad de camas y mejora el rendimiento reproductivo en cerdas (15,16).

En vacas lecheras, la gestación y lactancia representan estados fisiológicos que inducen estrés metabólico (estrés oxidativo) (17,18), que puede estar relacionado con enfermedades metabólicas en el periodo de transición (19), la alta afinidad de las zeolitas por el agua y los cationes osmóticamente activos facilitan la fermentación ruminal y la actividad osmótica, puede regular el pH en el rumen al amortiguar los iones de hidrógeno de los ácidos orgánico (20).

Wu QJ et al., en 2015, demostraron que la clinoptilolita tiene propiedades alcalinas altas, cumpliendo acción de amortiguación, y que en la actualidad ya se usa en medicina para regular adecuadamente el pH del cuerpo (21), también existe evidencia que sugiere que las zeolitas pueden afectar significativamente la regulación del sistema inmunológico (22).

En un estudio realizado por Ueki se informó que los aluminosilicatos pueden afectar como inmunoestimulantes no específicos de una manera similar a los superantígenos, una clase de toxinas virales y bacterianas inmunoestimuladores.(23) en otro estudio revisado se documentó que su adición en la dieta redujo significativamente el número de células somáticas en la leche (24), y el porcentaje de PMN en el útero a los 35 días postparto en vacas lecheras (25).



1.1 Objetivos

1.1.1 General

Evaluar el efecto de la administración de zeolita durante el preparto y postparto sobre la salud e involución uterina y algunos parámetros reproductivos postparto en vacas lecheras del cantón Cuenca de la provincia del Azuay, Ecuador.

1.1.2 Específicos

- Determinar el efecto de la administración de zeolita sobre la salud uterina, mediante la determinación del porcentaje de polimorfomononucleares en el útero entre los días 34 y 47 postparto en vacas lecheras.
- Evaluar el efecto de la administración de zeolita sobre la involución uterina en vacas lecheras.
- Evaluar el efecto de la administración de zeolita sobre el retorno a la ciclicidad ovárica y performance reproductiva

1.2 Hipótesis

La suplementación con zeolita en vacas lecheras durante el preparto y postparto temprano mejora la salud e involución uterina, y anticipa la ciclicidad ovárica en vacas lecheras.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Aspectos Fisiológicos de la reproducción

El proceso reproductivo se basa en una secuencia de eventos que inicia en la vida embrionaria con el desarrollo del sistema reproductivo (26). Después del nacimiento, el animal debe crecer y alcanzar la pubertad para tener la capacidad de producir gametos fértils, este proceso está controlado por dos sistemas reguladores: endocrino y nervioso, los cuales cumplen una función determinada al relacionarse sutilmente para un éxito reproductivo (27).

2.1.1 Factores que inciden en la reproducción

Un exitoso desempeño reproductivo depende la capacidad de cada animal para adaptarse a las condiciones climáticas, el manejo, la alimentación, entre otras (28), a continuación se detallan los factores que intervienen en la reproducción.

2.1.1.1 Factor genético o congénito

Los genes determinan muchas de las características deseables en cualquier animal, existen sistemas de cruzamiento genético que propicien la obtención de los genotipos imperantes en las zonas de reproducción, existen ciertas razas de animales que han sido seleccionadas, pues tienen la información genética necesaria para presentar la pubertad antes que otras (29).

2.1.1.2 Factores alimenticios y nutricionales

Los efectos del nivel nutricional han sido estudiados ampliamente, en especial en lo referido a restricciones en el consumo de energía, en el momento que la dieta de las hembras peripartirrientas es escasa de energía, el organismo moviliza grasas corporales, lo que afecta el control hormonal de la reproducción conllevando a la inhibición de la función ovárica, como resultado de la disminución en la secreción hipotalámica de LH; un bajo contenido de proteína puede producir atrofia ovárica, anestros prolongados y retardo en la madurez sexual o pubertad (30).

Por otro lado la deficiencia de fibra se asocia con acidosis ruminal, catarros vaginal postparto, anestros frecuentes y celos silenciosos (31).

2.1.1.3 *Factor manejo*

El manejo adecuado de un lista del hato bovino ocupa un papel preponderante en la reproducción bovina: calidad y cantidad de agua y alimento, infraestructura, registros reproductivos del hato, detección del momento de celo y servicio, manejo del material seminal para IA o sementales, manejo en el puerperio (32).

2.1.1.4 *Factor ambiental*

Los aspectos medioambientales relacionados con la reproducción que deben ser tomados en cuenta de acuerdo a la raza y el tipo de sistema productivo son: estacionalidad de lluvia o sequía, altura sobre el nivel de mar, humedad relativa y radiación solar (33).

2.1.1.5 *Factor salud*

El estado de salud desempeña un papel definitivo en el correcto funcionamiento reproductivo, un adecuado manejo de planes preventivos y curativos, garantizaran un normal funcionamiento reproductivo del hato (34).

2.1.2 Eje Hipotálamo – Hipófisis – Gonadal

La regulación de la función reproductiva de la vaca implica numerosas interacciones entre el hipotálamo, la hipófisis y el ovario (31,35). El hipotálamo es el encargado de transformar las señales neurológicas originadas de estímulos externos e internos en descargas hormonales (36), dentro de este órgano existen ciertos núcleos que liberan GnRh dentro de un patrón pulsátil, siendo estos pulsos infrecuentes e irregulares, estos están altamente controlados por la retroalimentación de la gonadotropinas. Vía sanguínea, la GnRh, llega a la hipófisis anterior y actúa sobre la población de células gonadotropinas las que liberan donadotorpinas (LH y FSH), la liberación pulsátil rápida de GnRh estimula a la LH mientras que la lenta favorece la secreción de FSH (37).

En el ovario la FSH y LH se unen a las células de la granulosa y la teca para estimular la foliculogénesis y la producción de diversos esteroides sexuales (esteroides, progesterona y andrógenos), péptidos gonadales (activina, inhibina y folistatina) y factores de crecimiento (38). La retroalimentación al hipotálamo e

hipófisis para estimular o inhibir la secreción de GnRh y gonadotropinas, es una de las numerosas funciones que cumplen; siendo que éstos esteroides ováricos sean indispensables para la implantación del embrión (39).

El ovario tiene tres zonas con la función de producir hormonas: 1) el folículo secreta mayoritariamente estradiol y en menor cantidad progesterona y andrógenos, 2) el cuerpo lúteo produce progesterona en mayor cantidad y estrógenos, 3) el estroma segregá andrógenos mayoritariamente, estrógenos y progesterona. También segregan activina e inhibina que actúan sobre la hipófisis activando o inhibiendo respectivamente la producción de FSH (40).

2.1.3 Fisiología de la reproducción

2.1.3.1 Funciones de FSH en el ovario

- Estimular el crecimiento y maduración de los folículos en el ovario.
- Está involucrada en el aumento de la vascularización del folículo dominante.
- Favorece la mitosis de las células de la granulosa y formación de la teca (41).
- Estimula la formación de nuevos receptores, a la propia FSH y luego a receptores para la LH en las células de la granulosa del folículo preovulatorio, junto con el estradiol estimula la formación de la cavidad antral (36).

2.1.3.2 Funciones de LH sobre el ovario.

- Reinicia la meiosis en el folículo preovulatorio, el pico en la sangre provoca la ruptura del folículo por ende la ovulación.
- Induce la formación y mantenimiento del cuerpo lúteo, es la responsable de la secreción de estrógenos y progesterona de este.
- En la fase folicular, junto con la FSH, estimula el desarrollo folicular y es responsables de la secreción de estrógenos en estas células (42).

2.2 Involución y Salud Uterina

Los eventos que deben completarse después del parto, antes de que una vaca pueda concebir nuevamente son: primeramente; la involución uterina, proceso que

conlleva la reducción del tamaño uterino, la regeneración del endometrio, la eliminación de la contaminación bacteriana y la reanudación de la ciclicidad ovárica, a la vez implica la contracción física, necrosis y desprendimiento de carúnculas (43,44).

La lisis de la pared celular de las bacterias Gram negativas provoca la eliminación de endotoxinas, induciendo una contaminación bacteriana severa desde el lumen uterino hacia la circulación sistémica y periférica, dicho proceso afecta en la involución uterina ya que altera las funciones hipotalámicas y pituitarias (45), lo cual genera una inhibición de la secreción de la GnRH hipotalámica, interfiriendo en la secreción de LH desde la pituitaria (46,47), la PGF2alfa en el primer mes postparto es encargada de inducir la contractibilidad uterina siendo una función clave que conlleva a la involución uterina (48).

La actividad lútea temprana, 21 días después del parto, puede afectar negativamente la involución del útero, también se asoció con tasas de concepción reducidas y mayor número de días abiertos (49), sin embargo; el inicio temprano de la actividad ovárica facilita la involución uterina pero, si la primera ovulación se produce en presencia de un útero pesado y contaminado, esto puede llevar al desarrollo de una piometra asociada con un cuerpo lúteo persistente (50). Thatcher *et al.*, en el 2006, sugirieron que la finalización de la involución física y la depuración del útero debe ocurrir en un corto período de tiempo postparto sin la aparición de ovulaciones; después de completar la involución uterina, las ovulaciones secuenciales serían un objetivo hacia la fertilidad normal (51).

La involución uterina puede verse afectada por la edad, la raza, la nutrición y otros factores, por lo que la involución uterina retardada no es un indicador específico de la enfermedad uterina (48), sin embargo; la aglomeración de PMN y la descarga visible se asocian con la involución uterina anormal, se puede utilizar éste parámetro para determinar el estado de salud uterina (52), ya que los neutrófilos constituyen la primera línea de defensa en contra de la invasión de los organismos patógenos, resultando en un incremento de PMN (53), que es el más significativo y predominante grupo celular reclutado durante la enfermedad uterina (54), los macrófagos también son importantes para la detección de los patrones moleculares como lipopolisacáridos y el inicio de la cascada inflamatoria (55).



Los tiempos informados para la involución grave del útero y el cuello uterino varían considerablemente, de 25 a 47 días después del parto (56), sin embargo, en vacas Holstein el tiempo requerido para completar la involución uterina es de 29.6 a 35.8 días, un retraso en el número de días implica, retraso en los procesos que ocurren durante el crecimiento folicular, suspendiéndose éste momentáneamente después del parto (46).

2.3 Formas de evaluar la eficiencia reproductiva

La eficiencia reproductiva de cada hato ganadero puede ser medida, teniendo en cuenta cada uno de los parámetros reproductivos (57). En las vacas lecheras de alto rendimiento se evalúan los intervalos posparto, la involución uterina, la primera ovulación, la primera IA y la concepción (48).

Los índices productivos y reproductivos en una explotación ganadera nos indican el desempeño del hato, son fáciles de calcular siempre que los eventos productivos y reproductivos hayan sido registrados correctamente (58), tener una alta eficiencia reproductiva es indispensable en el éxito económico de cualquier ganadería, mientras que una baja eficiencia reproductiva se ve reflejada con baja producción láctea y cantidad de terneros por año (59).

Un retraso en la primera ovulación y consecuentemente en el inicio de los ciclos estrales, es asociado directamente con la baja eficiencia reproductiva, debido a que la vaca tiene menos cantidad de ciclos estrales de duración normal antes del servicio, por lo que está ligado con la baja fertilidad al primer servicio y menor tasa de concepción (60).

2.3.1 Intervalos posparto

2.3.1.1 *Intervalo parto – primer servicio (IPPS)*

Está representado por el tiempo promedio entre el último parto y el primer servicio natural o artificial, normalmente para la realización de este servicio deberá existir una combinación de varios factores, como: la condición corporal adecuada, aparición de celo, y la decisión de manejo reproductivo, se acepta como ideal a un IPPS de 55 – 65 días (61).

Este parámetro está afectado por: el reinicio de la ciclicidad ovárica, los celos no detectados y el tiempo de espera voluntario de cada hacienda (62). Un IPPS prolongado se debe a un anestro prolongado, el cual puede ser causado por un problema nutricional y problema en el balance energético negativo (63).

2.3.1.2 *Intervalo parto concepción (IPC)*

Es uno de los parámetros mayormente usado para evaluar la eficiencia reproductiva del hato, se basa en los días vacíos y corresponde al tiempo transcurrido desde el parto más reciente hasta la fecha de servicio que consigue la preñez confirmada (61,64). Las variaciones de este parámetro puede deberse a varios factores, entre estos tenemos la reanudación de la ciclicidad ovárica después del parto y el manejo del hato (65).

Las vacas deben quedar preñadas hasta el día 85 para poder lograr la meta de un ternero por año en las ganaderías, para ello el primer servicio debe realizarse entre los 45 y 70 días del parto, tanto la concepción como la detección de celo deben ser alrededor del 50% de efectividad (63).

2.4 Endometritis

2.4.1 Generalidades

Le Blanc *et al.*, en el 2008 describieron a la endometritis como una inflamación del endometrio que se asocia con una involución uterina retardada. Histológicamente, se caracteriza por la alteración del epitelio endometrial, la infiltración de células inflamatorias y la conglomeración la primera línea de defensa, la congestión vascular y el edema estromal (56).

La presencia de una enfermedad uterina clínica depende del equilibrio entre factores como: el sistema de defensa que posee el animal, el ambiente uterino, el número y la patogenicidad de los microorganismos en el periodo de transición (43,66,67), más específicamente los efectos de grado y duración del balance energético negativo (68).

Para mantener una adecuada homeostasis en el sistema reproductivo después del parto y al momento del coito produce una respuesta inflamatoria rápida, robusta y



efectiva, que al ser fisiológica se mantiene restringida en lugar de proceder a un inflamación grave y prolongada, la perdida de esta continuidad parece ser fundamental para la patogenia de la endometritis (55).

El sistema de defensa uterino, se mantienen de diversas maneras: anatómicamente; por la vulva, la vagina, el cérvix, el epitelio cilíndrico simple o seudoestratificado que cubre el endometrio, también por las secreciones de moco de las glándulas endometriales; inmunológicamente, a través de la acción de células inflamatorias PMN y anticuerpos humorales (47,69). La interrupción de estos mecanismos permite que los patógenos oportunistas, en su mayoría microorganismos que se encuentran en el tracto gastrointestinal posterior y alrededor del área perineal, colonicen el endometrio y causen una endometritis (70), perturben el desarrollo del folículo ovárico y suprimen la actividad endocrina del hipotálamo y la pituitaria (47).

Pérez en el 2002 determinó que un 90 a 95% de las hembras bovinas sufren contaminación del tracto reproductivo después del parto, por patógenos presentes en el ambiente y en sus genitales externos (71). Aunque más del 70% de las vacas eliminan las bacterias uterinas a través de las respuestas inmunes innatas (72), la tasa de incidencia reportada en la lactancia varía de 7.8 a 61.6% (4).

2.4.2 Tipos

2.4.2.1 *Endometritis Clínica*

La endometritis es una inflamación localizada del revestimiento del útero, normalmente se encuentra asociada con bacterias patógenas principalmente *Arcanobacterium pyogenes*, provocando una infección crónica posparto del útero (73).

La endometritis clínica se caracteriza por la descarga de secreción uterina purulenta (> 50% de pus) detectable en la vagina entre 20 y 33 días después del parto, o secreción mucopurulenta (aproximadamente 50% de pus, 50% de moco) detectable en la vagina después de 26 días hasta 33 DPP (43,74), entre el 17 y el 37% desarrolla endometritis clínica con una prevalencia que oscila entre el 5% y >30% en algunos rebaños (66).

2.4.2.2 *Endometritis Subclínica (ESC)*

Se puede definir como una inflamación endometrial uterina, caracterizado principalmente por la ausencia de signos clínicos, especialmente descargas de material purulento a través de la vagina (75), dicha inflamación probablemente se ve relacionada con la recuperación de tejido endometrial luego de una patología más amplia, como endometritis clínica, un traumatismo o enfermedades causadas por agentes no microbianos (76).

2.4.2.2.1 *Problemática*

Algunos de los problemas más importantes producidos por en ESC son: una ovulación retardada o inhibida (77), retención placentaria, los trastornos metabólicos (78,79). Las vacas que desarrollaron endometritis mostraron un aumento en las concentraciones de progesterona y una disminución en las concentraciones PGFM en los días 0 a 14 después del parto, posiblemente contribuya a la reducción en la función de los neutrófilos, (51), comprometiendo la capacidad del tejido uterino para prevenir y/o controlar posibles infecciones, ya que estos constituyen la primera línea de defensa contra los microorganismos patógenos presentes después del parto, lo que resulta un incremento de la población de células PMN en el endometrio (4).

2.4.2.2.2 *Consecuencias reproductivas y económicas*

La endometritis es una enfermedad uterina importante del postparto que ocasiona graves pérdidas económicas debido al deterioro significativo del rendimiento reproductivo (80), la disminución en la producción; incrementos de costos por los tratamientos empleados (81), y un aumento de un 3% en el total de vacas sacrificadas, por no concebir (47,75); Kim y Kang, en el 2003, señalaron que existe un incremento de 106 dólares en el costo de producción por lactancia en vacas con endometritis (78).

El ganado lechero de alta producción con endometritis presenta problemas reproductivos graves, comúnmente muestran: reducción de la tasa de gestación al primer servicio, disminución de la tasa de gestación acumulada en el día 121 post parto (25), mayor número de servicios por concepción (78), un retraso del inicio de

la actividad cíclica ovárica después del parto, fases lúteas extendidas después de la primera ovulación (48,76), reducción de la tasa de crecimiento del folículo dominante, un cuerpo lúteo más pequeño (54), baja tasa de concepción en un 20%, como consecuencia de una mala calidad de ovocitos debido a las bajas concentraciones de esteroides ováricos, y el incremento de 30 días más en el intervalo parto-concepción (48).

2.4.2.2.3 Técnicas de diagnóstico

Existen diferentes técnicas de diagnóstico de la endometritis, como: la palpación uterina transrectal, examen vaginoscópico, cultivo de fluidos uterinos, biopsia uterina, ultrasonido y citología uterina (4). El rendimiento de las pruebas de diagnóstico deberían ser analizadas adecuadamente y optar por un método que produzca resultados correctos, algunas pruebas producen un resultado con mayor o menor grados de distorsión, otras pruebas producirán un resultado ordinal o continuo (82).

Las técnicas más comunes para obtener las citologías uterinas endometriales son el método de Cytobrush y el lavado uterino con bajos volúmenes de líquido para recoger las células endometriales (83,84). El método de Cytobrush ha demostrado ser la mejor técnica (85), es más confiable que el método de lavado, ya que este resulta mayor grado de distorsión y más demorado (81), la muestra con Cytobrush producen *in situ* menor grado de distorsión, proporciona resultados más rápidos (86) y es una técnica menos invasiva (6).

El método de Cytobrush se usa en la medicina humana para detectar cáncer cervical (83), Kasimanickam *et al.*(4) modificó el método para usarlo en ginecología bovina, atornillando el citocepillo a una barra de metal, la cual está protegida por un catéter, el cual se introduce vía transrectal pasando al cuello uterino, el citocepillo se empuja hacia adelante y se enrolla suavemente a lo largo del endometrio, ya sea del cuerpo uterino o de uno de los cuernos, luego de retirar el instrumento del tracto genital, el citocepillo se enrolla en un portaobjetos, se fija y se tiñe con una tinción de Wright-Giemsa, Papanicolau u otros.

Los frotis citológicos se evalúan determinando la proporción de células PMN en relación con el número total de células endometriales presentes en una muestra. El

punto de corte de una prueba diagnóstica consiste en la determinación del valor mínimo por encima del cual se puede diagnosticar un individuo como enfermo (87).

El diagnóstico de la endometritis subclínica mediante Cytobrush, se basa en la realización de pruebas de conteo de PMN de las muestras citológicas uterinas recolectadas entre los días 21 a 33 después del parto con un porcentaje de más del 18%, o más del 10% de PMN entre los días 34 a 47 días, entre el 14 y el 53% los rebaños desarrollan endometritis subclínica, con una prevalencia que oscila entre el 11% y > 70% (6,66).

2.5 Zeolita

2.5.1 Definición y Generalidades

Las zeolitas son cristales microporos, pueden ser naturales o sintéticas, los cuales están hidratados con estructuras bien definidas que contiene tetraedros unidos a través de los átomos de oxígeno.(88).

Laurino y Palmieri en el 2015, realizaron una búsqueda en la base de datos Pubmed/Medline sobre investigaciones en las que se utilizó la zeolita, y en el campo veterinario encontraron una diversidad de efectos: "... mejora la condición física de las mascotas, elimina elementos radiactivos, aflatoxinas y venenos. También tienen propiedades antioxidantes, blanqueadoras, homeostáticas y antidiarreicas...". En el campo de la nutrición, producción y reproducción animal también se han demostrado importantes hallazgos.(12).

Estudios han demostrado que la clinoptilolita tiene propiedades alcalinas altas (acción de amortiguación) y ya se utilizan en medicina para regular adecuadamente el equilibrio de pH del cuerpo y estimular el sistema inmunológico (21,89).

Así mismo Zarkovic *et. al*, (90) concluyeron que las zeolitas desempeñan un papel importante en la modulación del sistema inmunológico, luego de observar que los linfocitos de los ganglios linfáticos de ratones sanos alimentados con clinoptilolita microlizada durante 28 días provocaron una reacción alogénica, frente al huésped significativamente mayor que las células de los ratones de control.

Rodríguez *et. al*, (91) afirman que el uso de medicamentos basados en clinoptilolita natural como tratamiento de las enfermedades diarreicas agudas obtuvieron un tiempo de evolución de 24 horas durante la terapia, a su vez atribuye a la zeolita la propiedad de absorbente de ácidos biliares (un causante endógeno de diarrea), Aflatoxinas B (micotóxico), y glucosa (cuyo alto contenido en el fluido intestinal actúa como factor irritante y cuyo transporte a través de las células se invierte durante la diarrea).

En un estudio realizado por Concepción *et. al*, (92) en donde se determinó la capacidad de absorción de glucosa, mostró que zeolita tuvo mayor capacidad de absorción.

2.5.2 Mecanismos de acción de la zeolita

La adición de la clinoptilolita en la ración balanceada de vacas lecheras tiene influencia sobre el ambiente y la fisiología ruminal (93), lo que se relaciona con sus efectos sobre el balance energético, la ocurrencia de algunas enfermedades metabólicas durante el periodo de transición y sobre sistema inmunológico (94).

Los ácidos grados son precursores en la síntesis o inhibición de prostaglandinas (95). Thatcher mencionó que el aumento de las prostaglandinas posiblemente sería un medio para mejorar la inmunocompetencia general y la función de los neutrófilos, siendo un medio atractivo para manejar posibles infecciones uterinas (51). Existe evidencia que sugiere que las zeolitas pueden afectar significativamente la regulación del sistema inmunológico (PMN) y la producción láctea (22).

Existen evidencia que la microflora intestinal, tiene interacción con la regulación de la inflamación y el metabolismo extra intestinal, ya que la acidosis ruminal, puede aumentar la producción y la captación de endotoxinas como lipopolisacáridos del gramnegativo los cuales son los principales patógenos de las enfermedades uterinas y los lipoteícoico del grampositivo (55), la alta afinidad de las zeolitas por el agua y los cationes osmóticamente activos facilitan la fermentación ruminal y la actividad osmótica, puede regular el pH en el rumen al amortiguar los iones de hidrógeno de los ácidos orgánico (20).

Otro de los mecanismos que podría explicar sus efectos en la fisiología ruminal, y por ende en el estado metabólico de los rumiantes, se basa en la capacidad de la clinoptilolita de reducir los iones de amonio del rumen mediante la asimilación en el interior de su estructura molecular por varias horas, hasta su lenta liberación por la acción regenerativa del sodio que entra al rumen con la saliva durante la fermentación ruminal (94).

De esta manera la liberación progresiva de NH₄ permite que los microorganismos del rumen puedan sintetizar proteínas en forma continua para ser aprovechadas por el animal, tanto con el nitrógeno producido por la dieta como el agregado a la misma (16). En este último caso la zeolita prevendría el efecto tóxico del nitrógeno sobre la flora ruminal.

Asimismo, se demostrado que la clinoptilolita puede neutralizar las aflatoxinas presentes en el fluido ruminal (96), y estas micotoxinas tienen la propiedad de deprimir el sistema inmunológico y origina un sinnúmero de efectos nocivos en el animal (97); además, el efecto antioxidante de la clinoptilolita ha sido demostrado (23,98), con el antecedente que el estrés oxidativo ha sido asociado con supresión de la respuesta inmunológica (99).

Los autores del trabajo anterior especularon que la clinoptilolita mejoró el estado energético de las vacas suplementadas debido al aumento de la producción ruminal de ácido propiónico o a través del incremento de la digestión postruminal de almidón del alimento balanceado. Un balance energético positivo está asociado con un incremento de la actividad del sistema inmune (100) y una mejora la eficiencia reproductiva del rebaño (101).

2.5.3 Evidencias experimentales de los beneficios de adición de zeolita a la dieta en vacas

Según Dschaak *et al.* (102) al complementar las dietas con zeolita se mejora la utilización de nitrógeno ya que ésta libera gradualmente el exceso de amoniaco en el rumen y permite que los microorganismos transformen el amoniaco en proteína microbiana para su asimilación en los sistemas digestivos de los animales.



Karatsia, demostró que al incorporar 200 g de zeolita natural a la dieta basal diaria de vacas primíparas durante los dos últimos meses de preñez, en la lactancia subsiguiente mejora el estado de energía y comportamiento reproductivo, como son los intervalos de parto al primer celo, de parto al primer servicio y el parto hasta la concepción, así como el intervalo de parto, numero de servicios por concepción fueron significativamente más bajos (103).

Andronikashvili *et al.* (99) , demostraron que la adición de zeolita en la dieta de vaquillas, ejerció algún efecto beneficioso sobre el desarrollo fetal, ya que se demostró que hubo 2 veces menos muertes fetales y 1.5 veces menos morbilidad en las crías, así como también una frecuencia reducida a la mitad del diagnóstico de endometritis, prolapo uterino y enfermedades de las extremidades.

Katsoulos *et. al.* (104) , determinaron que la administración de clinoptilolita en una proporción de 2,5% de la ración de alimento balanceado en vacas en las cuales se observaron casos de cetosis clínica en el primer mes de lactancia, redujo a 5,9% la incidencia de cetosis comparado con el grupo de vacas que recibieron 1,5% o ninguna adición de aditivo en la ración, y el rendimiento total de leche fue significativamente más alto.



3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1 Recursos Materiales Disponibles:

- Computadora
- Impresora
- Vehículo
- Botas
- Overol
- Mandil
- Cámara fotográfica
- Equipo de ultrasonido (i Scan – DRAMINSKI)

3.1.2 Recursos Materiales Requeridos:

3.1.2.1 *Materiales Físicos:*

- Guantes para exploración
- Guantes de chequeo ginecológico
- Sogas
- Baldes
- Toallas desechables-papel secante
- Sustancias Jabonosas
- Pistola de inseminación artificial
- Cito cepillos para citologías endometriales
- Camisa de nailon

3.1.2.2 *Materiales Biológicos:*

- 60 vacas Holstein Friesian mestizas

3.1.2.3 *Materiales Químicos:*

- Zeolita
- Gel lubricante (carboximetilcelulosa)



- Alcohol 70%
- Solución bidestilada estéril
- Tinción Wright.
- Solución tampón pH 7,4.
- Aceite de inmersión

3.1.2.4 *Materiales de Laboratorio:*

- Pipetas
- Microscopio
- Porta objetos
- Gradilla para tinción.

3.1.2.5 *Materiales de Oficina:*

- Cuaderno de campo
- Esferos
- Medios Extraíbles (Memoria USB)
- Marcadores.
- Carpetas.

3.2 Métodos

3.2.1 Área de estudio

La investigación se llevó en las granjas: La Europea, Cumbe S.A. e Irquis, ubicadas en el cantón Cuenca, provincia del Azuay. Se localizan a una altitud sobre los 2500 msnm, una precipitación promedio de 1.080 m/año, temperatura promedio de 12 °C.

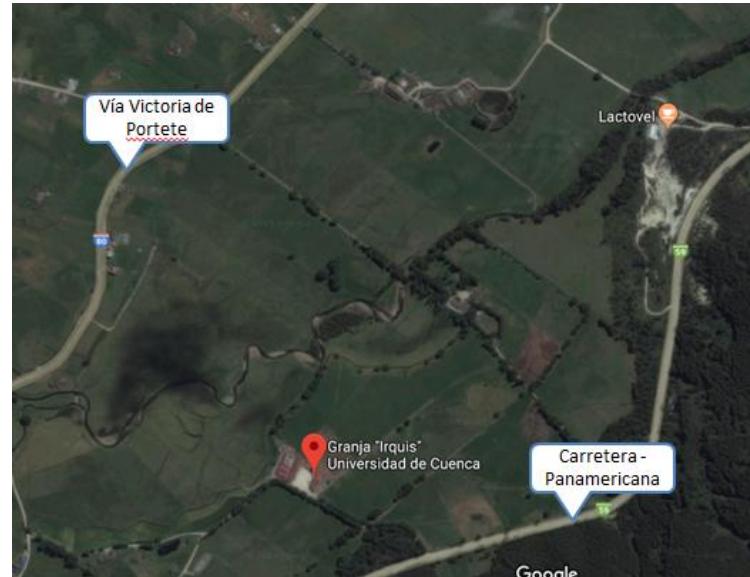


Figura 1: Ubicación de la granja de Irquis

Fuente: Adaptado por autores, Map dat 2018, Google

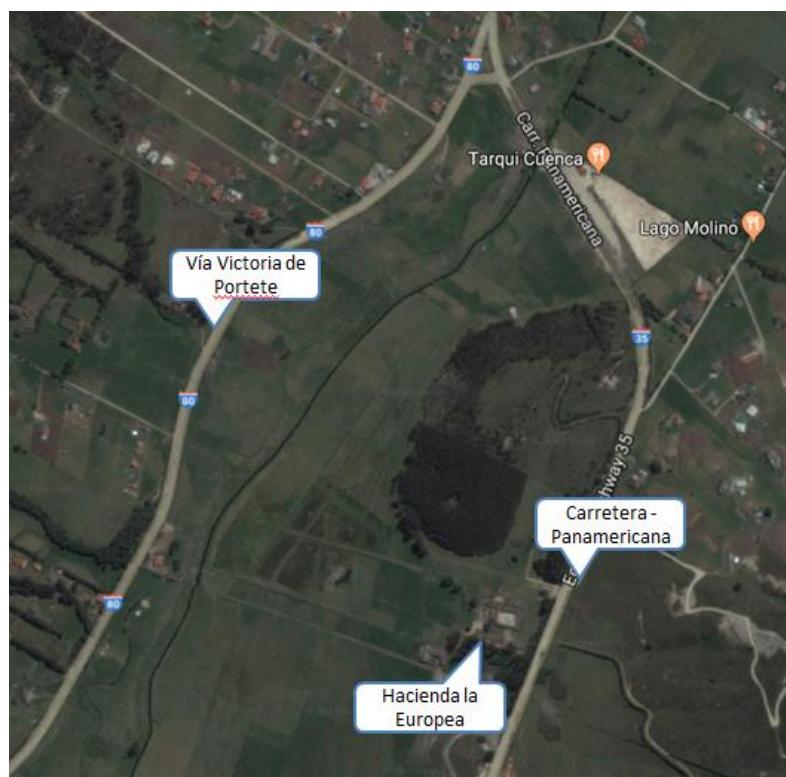


Figura 2: Ubicación de la granja de La Europea

Fuente: Adaptado por autores, Map dat 2018, Google



Figura 3: Ubicación de la hacienda Cumbe S.A.

Fuente: Adaptado por autores, Map dat 2018, Google

3.2.2 Animales y tratamientos

Se emplearon un total de 60 vacas mestizas (Holstein friesian), con una condición corporal (2,5 - 3,5) según la clasificación descrita por Edmoson *et al.* (105), multíparas, clínicamente sanas, las cuales fueron distribuidas aleatoriamente en dos grupos: GZ (n=30; La Europea=14, Cumbe.S.A.=14, e Irquis=2) las cuales se administró dieta basal más zeolita y GC (n=30, La Europea=14, Cumbe.S.A.=14, Irquis=2) únicamente dieta basal. Para ajustar la cuota de animales de cada grupo se tomó en cuenta los partos que se presentaron en cada hacienda.

3.2.2.1 Adición de silicatos a la dieta

que se encontraban en similares condiciones de pastoreos

A partir de los 15 días antes del parto se le administró 50 gr/vaca/día de zeolita para generar un estado de adaptación del ecosistema ruminal, y desde el parto hasta los 60 días post parto se le adicionó 200 gr/vaca/día de acuerdo a la recomendación de empresa distribuidora. La proporción de alimentación basal fue: 1) 90% pastoreo con una mezcla forrajera que incluía raigrás perenne (*Lolium perenne*) 40%, kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) 25%, raigrás anual (*Lolium multiflorum*) 15%, trébol blanco (*Trifolium repens*) 15%, trébol rojo (*Trifolium pratense*) 5% y 2) 10% concentrado comercial con las siguientes especificaciones: proteína mínima 18%,

grasa mínimo 4%, fibra máximo 15%, cenizas máximo 10% y humedad máximo 13%.

3.2.2.2 *Evaluación de la salud uterina*

El muestreo citológico del endometrio se realizó entre los días 34 a 47 posteriores al parto mediante la técnica del Cytobrush descrita por Kasimanickam *et al* (4). Para ello se usó un citocepillo adaptado a una pistola metálica de inseminación artificial. Previo a su introducción por vía vaginal se cubrió con una camisa sanitaria para I.A. para evitar contaminación del útero. Luego se avanzó hasta el cérvix, se retiró la camisa y se introdujo la punta de la pistola hasta el cuerpo uterino, donde se hizo girar el citocepillo en sentido a las manijas del reloj, se retrajo para cubrirlo con la pistola de IA al momento de sacarlo, y una vez retirado se hizo girar sobre dos portaobjetos, los cuales se dejaron secar como lo señala la técnica.

Las placas fueron teñidas con tinción de Wright y el conteo celular se realizó en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca. Las citologías se evaluaron contando doscientas células al azar en diferentes campos de la placa, utilizando un aumento de 100x; de esas 200 células se determinó la proporción de leucocitos polimorfonucleares (PMN) que se expresó en porcentaje. Debido a que se tomaron dos muestras, el análisis de cada vaca se realizó por duplicado y se promedió para proporcionar resultados más sólidos. Fueron consideradas vacas con endometritis subclínica a las que poseían $\geq 10\%$ de células polimorfonucleares, tal como lo indicó Kasimanickam *et al.*(4).

3.2.2.3 *Evaluación de la involución uterina*

La involución uterina se determinó mediante ultrasonografía a partir de la tercera semana postparto. Para ello se utilizó un ecógrafo Draminski, modelo iScan, provisto de un transductor lineal de 7,5 MHz. Las evaluaciones se realizaron semanalmente, y durante las mismas se midió y registró el diámetro horizontal y vertical del cuello uterino, el cual fue medido colocando la sonda del ecógrafo en forma transversal sobre el primer y segundo anillo cervical, tal como lo describió Perea *et al.* (106).

3.2.2.4 *Evaluación de la ciclicidad ovárica*

La evaluación de ciclicidad ovárica se evaluó con el ecógrafo Draminski, a partir de la tercera semana postparto, por tres semanas consecutivas como describe Perea *et al.* (106). Ayala *et al.* (107) sugiere la toma de dos medidas: el diámetro horizontal y vertical, así como su ubicación relativa. El reinicio de la ciclicidad ovárica se determinó por la presencia de cuerpo lúteo en uno de los ovarios.

3.2.2.5 *Evaluación del intervalo parto primer servicio y parto concepción*

Para determinar el intervalo parto-primer servicio y parto-concepción se tomó en cuenta los días transcurridos desde el parto hasta la primera monta o IA y hasta el servicio fecundo, respectivamente (61,64). De los registros reproductivos de cada finca se obtuvieron los datos necesarios para calcular dichos intervalos.

3.3 Diseño Experimental

Para esta investigación se usó el modelo estadístico lineal de efectos fijos, donde se evaluó el efecto del tratamiento (GZ y GC) sobre las variables de respuesta: porcentajes y número de células PMN, porcentaje de vacas con endometritis subclínica, progresión del diámetro del cuello uterino, intervalo a la detección del primer cuerpo lúteo, diámetro del cuerpo lúteo, intervalos parto primer servicio, parto-concepción.

Los intervalos postparto, número y porcentaje de leucocitos PMN se analizaron mediante el análisis de la varianza aplicando el modelo lineal general (GLM) del SAS (Statistical Analysis System, 2012). Las diferencias entre medias se compararon mediante el procedimiento LSmeans del SAS. Se consideraron como variables independientes en el modelo el tratamiento, finca y mes de parto, y como covariables la producción de leche acumulada a los 100 días y la condición corporal al parto.

4. RESULTADOS

La CC tomada 12 horas después del parto de los grupos GZ y GC fue estadísticamente similar, luego del parto la CC disminuyó progresivamente y alrededor de la quinta semana postparto fue 2,75 para GZ y 2,66 para GC ($P>0.05$).

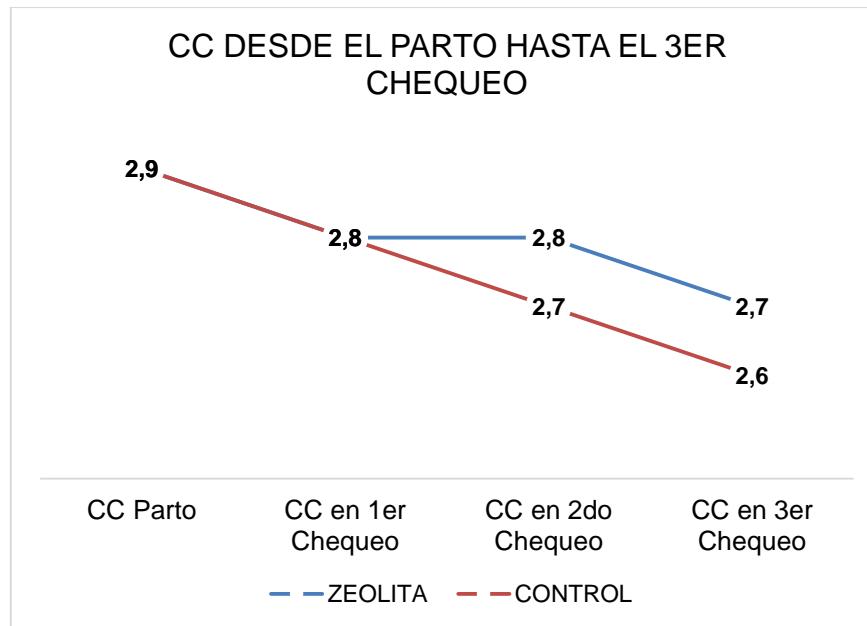


Figura 4: Condición corporal desde el parto hasta el 3er chequeo en vacas lecheras suplementadas y no con zeolita.

4.1 Salud Uterina (SU)

Al analizar los valores promedios del porcentaje de PMN uterinos, en la tabla 1, se observó que el GZ presentó un porcentaje significativamente menor que el GC, con 2,9 y 9,4 por ciento respectivamente, comprobándose la existencia de diferencias estadísticas significativas ($P<0,0001$) y se demostró que la zeolita tuvo efecto positivo sobre esta variable.

Tabla 1:Número y porcentaje de PMN en vacas lecheras suplementadas o no con zeolita ($P<0,0001$).

	Haciendas						Total	
	La Europea		Cumbe S.A.		Irquis		Zeolita (n=30)	Control (n=30)
	Zeolita (n=14)	Control (n=14)	Zeolita (n=14)	Control (n=14)	Zeolita (n=2)	Control (n=2)	Zeolita (n=30)	Control (n=30)
NPMN (n)	14 ^a	38 ^b	11 ^a	36 ^b	31 ^a	28 ^a	12 ^a	39 ^b
PPMN (%)	3,4 ^a	9,2 ^b	2,6 ^a	8,8 ^b	7,5 ^a	6,8 ^a	2,9 ^a	9,4 ^b

Valores en la misma fila con letras diferentes tienen diferencia significativa: ^{a, b} $P<0.0001$

Para comparar las medias se usó la prueba de los mínimos cuadrados (LSM)

4.2 Involución uterina (IU)

En la tabla 2, se observa el diámetro promedio del cérvix en las tres semanas en las que se hizo la evaluación ecográfica del útero en ambos grupos de vacas. Como se aprecia, el diámetro del cuello uterino fue disminuyendo progresivamente en cada semana del período postparto, y en todos los casos, este fue estadísticamente similar entre los grupos de estudio ($P>0,05$).

Tabla 2: Progresión del diámetro del cuello uterino, luego del parto en vacas lecheras suplementadas o no con zeolita.

Evaluaciones	Haciendas						Total ₂	
	La Europea ₁		Cumbe S.A. ₁		Irquis ₁		Zeolita (n=30)	Control (n=30)
	Zeolita (n=14)	Control (n=14)	Zeolita (n=14)	Control (n=14)	Zeolita (n=2)	Control (n=2)	Zeolita (n=30)	Control (n=30)
1ra (cm)	3,4 ± 0,20	3,7 ± 0,23	3,3 ± 0,20	3,2 ± 0,19	3,20 ± 0,28	3,43 ± 0,46	3,3 ± 0,15	3,4 ± 0,16
2da (cm)	3,0 ± 0,14	3,1 ± 0,14	2,7 ± 0,14	2,7 ± 0,14	3,12 ± 0,53	2,87 ± 0,53	2,9 ± 0,11	2,9 ± 0,11
3ra (cm)	2,9 ± 0,18	2,6 ± 0,22	2,3 ± 0,15	2,4 ± 0,16	2,92 ± 0,60	2,87 ± 0,53	2,7 ± 0,13	2,6 ± 0,15

₁: Media ± desviación estándar; ₂: Media ± error estándar.

Para comparar las medias se usó la prueba de los mínimos cuadrados (LSM)

4.3 Reinicio de la ciclicidad ovárica (RCO)

La tabla 3 muestra el día de detección y el diámetro del cuerpo lúteo (CL) de acuerdo con el grupo experimental. Una vez realizado el análisis estadístico se observó que los dos grupos se comportaron de manera similar en el reinicio de la ciclicidad ovárica, ya que, aunque en el GZ el CL se detectó 2 días antes que GC la diferencia no fue significativa. De igual forma, el diámetro del CL fue estadísticamente similar entre los dos grupos de estudio.

Tabla 3: Diámetro y día de detección del cuerpo lúteo en vacas lecheras suplementadas o no con zeolita.

CL	Haciendas						Total ₂	
	La Europea ₁		Cumbe S.A. ₁		Irquis ₁		Zeolita (n=30)	Control (n=30)
	Zeolita (n=14)	Control (n=14)	Zeolita (n=14)	Control (n=14)	Zeolita (n=2)	Control (n=2)	Zeolita (n=30)	Control (n=30)
Diámetro (cm)	25,5 ± 1,9	23,3 ± 2,2	26,2 ± 2,1	24,7 ± 2,0	24,7 ± 6,5	20,6 ± 6,8	25,5 ± 2,5	22,9 ± 2,5
Día de detección (n)	25,7 ± 1,9	25,7 ± 2,2	21,2 ± 2,1	28,3 ± 2,1	30,7 ± 6,7	16,9 ± 7,0	25,9 ± 2,6	23,7 ± 2,6

¹: Media ± desviación estándar; ²: Media ± error estándar.

Para comparar las medias se usó la prueba de los mínimos cuadrados (LSM)

4.4 Comportamiento reproductivo

Tabla 4. Intervalo parto primer-servicio, días abiertos en vacas lecheras suplementadas o no con zeolita.

Variables	Haciendas						Total ₂	
	La Europea ₁		Cumbe S.A. ₁		Irquis ₁		Zeolita (n=30)	Control (n=30)
	Zeolita (n=14)	Control (n=14)	Zeolita (n=14)	Control (n=14)	Zeolita (n=2)	Control (n=2)	Zeolita (n=30)	Control (n=30)
IPPS	80,0 ± 7,9 ^a	78,7 ± 8,0 ^a	71,8 ± 8,2 ^a	72,4 ± 8,0 ^a	119,5 ± 22,2 ^a	128,9 ± 22,2 ^a	90,7 ± 9,2 ^a	93,2 ± 8,8 ^a
Días Abiertos	123,0 ± 14,5 ^a	104,8 ± 15,5 ^a	96,1 ± 15,9 ^a	182,6 ± 17,3 ^b	133,6 ± 39,9 ^b	112,2 ± 39,8 ^a	117,5 ± 16,6 ^a	133,3 ± 16,0 ^a

Valores en la misma fila con letras diferentes tienen diferencia significativa: ^{a, b} P<0.001.

¹: Media ± desviación estándar; ²: Media ± error estándar.

Para comparar las medias se usó la prueba de los mínimos cuadrados (LSM)

En la Tabla 4 se presentan los resultados del comportamiento reproductivo de los dos grupos de vacas estudiados. Como se observa, el intervalo al primer servicio y días abiertos, fue estadísticamente similar entre los dos grupos; sin embargo, el parámetro días abiertos existe diferencias significativas en una de las haciendas.

4.5 Producción acumulada

Tabla 5: Producción de leche acumulada a los 100 días en vacas.

Variable	Haciendas								Total ₂
	La Europea ₁		Cumbe S.A. ₁		Irquis ₁				
Variable	Zeolita (n=14)	Control (n=14)	Zeolita (n=14)	Control (n=14)	Zeolita (n=2)	Control (n=2)	Zeolita (n=30)	Control (n=30)	Total ₂
Producción láctea	2059,5 ± 552,4	2066,9 ± 592,7	2272,0 ± 455,9	2107,4 ± 462,2	1450,0 ± 353,5	1300,0 ± 282,8	1984,6 ± 149,1 ^a	1948,0 ± 154,4 ^a	

Valores en la misma fila con letras diferentes tienen diferencia significativa.

₁: Media ± desviación estándar; ₂: Media ± error estándar.

Para comparar las medias se usó la prueba de los mínimos cuadrados (LSM).

En la tabla 5 se aprecia que la producción de leche acumulada a los 100 días, para el grupo zeolita y grupo control fue de 1984,6 ± 149,1 y 1948,0 ± 154,4 respectivamente, siendo estadísticamente similares (P>0,05).

5. DISCUSIÓN

5.1 Salud Uterina

En este estudio el porcentaje de PMN para evaluar la salud uterina fue 6.5 puntos porcentuales menor en GZ que GC. De estos resultados se deduce que adición de zeolita a la dieta de vacas lecheras desde el período preparto y durante 60 días postparto, tuvo un efecto beneficioso en la salud uterina. En un estudio previo en vacas lecheras del austro ecuatoriano, Garzón *et al.* (108) se determinó que la adición de zeolita en la dieta redujo aproximadamente 6 veces el porcentaje de leucocitos PMN comparado con las que no consumieron el producto (3.4 versus 22.3 % para GZ y GC respectivamente; $P<0.0001$), lo cual corrobora los resultados de este estudio.

Asimismo, tomando como referencia un porcentaje de leucocitos PMN de 10%, indicativo de endometritis subclínica en vacas con 34 a 47 días postparto según el criterio de Kasimanickam *et al.* (4), la adición de zeolita en la dieta basal redujo alrededor de 9 veces la prevalencia de esta importante alteración reproductiva en las vacas que consumieron zeolita comparado con las del grupo control.

Estos hallazgos corroboran datos previamente publicados en los que se demuestra el efecto modulador de la zeolita sobre el sistema inmune de diversas especies: humanos (22), bovinos (24,108); cabras (109); cerdos (110); ratas (90); aves (111). La infiltración de leucocitos PMN en la mucosa uterina ocurre naturalmente en respuesta a la presencia bacteriana en el útero luego del parto, y la abundancia de estas células puede ser indicativo de endometritis subclínica, una relevante alteración reproductiva que cursa sin manifestar signos clínicos (112) y afecta el desempeño reproductivo del rebaño (4,113–115).

5.2 Involución uterina

La evaluación del diámetro del cuello uterino mediante ecografías repetidas durante tres semanas consecutivas, como indicativo de la involución del útero, indicó que el diámetro cuello uterino fue reduciéndose progresivamente en la misma proporción en los dos grupos de vacas, sin detectarse diferencias estadísticas entre ambos, lo que hace evidente que la adición de zeolita en la dieta basal no tuvo

efecto en este parámetro reproductivo. No obstante, en un estudio previo en vacas lecheras (108), se determinó que la adición de zeolita en la dieta redujo significativamente el periodo de involución uterina, ya que a los 45 días postparto el 76 % de las vacas que consumieron zeolita había culminado la involución uterina, mientras que en el grupo control solo el 32% lo había hecho.

Los datos presentados muestran que el diámetro cervical fue bastante parecido entre la segunda y tercera evaluación ecográfica (4^{ta} y 5^{ta} semana postparto), lo cual es indicativo de que el proceso de involución uterina estaba muy próximo a culminar tal como describió Perea *et al.* previamente (106)., los grupos en estudio se comportaron estadísticamente igual.

Estudios realizados en vacas mestizas tropicales reportaron intervalos parto-involución uterina entre 31 y 35 días (106,116), mientras que en vacas lecheras este intervalo vario entre 31 (117) y 40 (118) días, según la paridad y método de evaluación.

5.3 Reinicio de la ciclicidad ovárica

El rápido retorno a la actividad ovárica cíclica después del parto en vacas lecheras es primordial para lograr la máxima productividad (119). En este estudio, no se encontró diferencia estadística en el reinicio de la ciclicidad ovárica entre GZ vs GC, determinada por la detección de un cuerpo lúteo mediante ecografía entre los días 23 y 27 luego del parto, cuyo diámetro tampoco vario estadísticamente.

No se encontraron datos publicados sobre efecto de la adición de zeolita en la dieta basal en el reinicio de la ciclicidad ovárica, tal como como se determinó en el presente estudio; no obstante, basados en la detección del primer celo, como indicativo del inicio de la ciclicidad reproductiva (103), la suplementación de vaquillas lecheras con 200 g de clinoptilolita redujo en 6 días el intervalo al primer celo postparto (46 ± 0.8 versus 52 ± 0.9 días para el grupo tratado y control respectivamente; $P<0.01$).

En otro estudio en el que utilizó como criterio la detección de un folículo ≥ 10 mm como indicativo de la reanudación de la actividad ovárica (108), se demostró que la suplementación de vacas lecheras multíparas con zeolita incrementó al doble la

proporción de vacas que reiniciaron la actividad ovárica en un lapso de 45 días ($P<0.01$).

En nuestro estudio ambos grupos de vacas reiniciaron la ciclicidad ovárica en la cuarta semana luego del parto, no obstante, aparentemente la adición de zeolita tuvo su efecto posteriormente, ya que las vacas suplementadas con zeolita lograron la concepción en un periodo significativamente más corto que las que no fueron suplementadas, tal como se discute en párrafos posteriores.

5.4 Comportamiento reproductivo

El análisis de los datos obtenidos de los registros reproductivo de las fincas indicó que las vacas objeto de estudio, en los dos grupos experimentales, tuvieron intervalos estadísticamente similares.

Según los hallazgos demostrados por los autores antes citados, las vaquillas que recibieron zeolita en la dieta basal redujeron significativamente la perdida de condición corporal (3.57 versus 3.00 para el grupo zeolita y control respectivamente; $P=0.022$) e incrementó la concentración de algunos parámetros séricos como glucosa, acetato y β -hidroxibutirato (103), indicativos del estatus metabólico de las vacas. Es bien conocido que un balance energético positivo y una mejor condición corporal postparto influencian el comportamiento reproductivo del rebaño (120), aumentando la concentración circulante de progesterona, estradiol y LH, el número y calidad de ovocitos recuperados por aspiración transvaginal guiada por ecografía (121), reduciendo el intervalo al primer estro e incrementando la tasa de concepción (122).

La explicación sobre el mecanismo de acción de la zeolita para mejorar la salud uterina y reducir el intervalo a la concepción tiene varios soportes científicos. Por un lado, las evidencias indican que la adición de zeolita en la ración modifica ciertos aspectos de la fisiología ruminal (93,102,123) , lo cual pudiera favorecer que las vacas que reciben este suplemento alimenticio mantenga un balance energético positivo y una mejor condición corporal postparto (103,108), y por lo tanto, un mejor desempeño reproductivo de las vacas en lactancia (120–122).

Sumado a lo anterior, un balance energético positivo durante el periparto determina un sistema inmune más fuerte y un sistema metabólico con mayor capacidad antioxidante (122,124), lo cual también se refleja en un mejor desempeño reproductivo (122). En nuestro estudio, no se midieron metabolitos que indicaran el estatus metabólico de las vacas; asimismo la condición corporal en la quinta semana de estudio fue ligeramente superior en el GZ que en GC, por lo cual este mecanismo no podría fundamentar que las vacas suplementadas con zeolita tuvieran una mejor salud uterina y un menor intervalo a la concepción.

Por otro lado, se ha demostrado que la zeolita tiene un efecto antibacterial, antioxidante y antiinflamatorio e inmunomodulador (90,111,125), todo lo cual puede contribuir a reducir la población bacteriana del útero y con ello el número de leucocitos PMN que se encuentran en esta mucosa luego del parto, tal como se demostró en este estudio y se documentó previamente (108).

Estas bacterias que colonizan el útero durante el parto, muchas de ellas patógenas (126), se adhieren al endometrio e incluso penetran capas más profundas y causan grados variables de infertilidad (84,127). Asimismo, las bacterias patógenas producen endotoxinas que afectan el desempeño reproductivo de diversas formas, varias de ellas relacionadas con la producción de mediadores inflamatorios (126).

Por ejemplo, las evidencias experimentales han demostrado que las endotoxinas alteran el crecimiento folicular y la secreción de progesteronona y estradiol folicular, modifican el patrón de secreción de LH y atrasan la ovulación (128–132). También pueden estimular la secreción de PGE2 y con ello prolongar la fase luteal (133), así como también causar muerte embrionaria (134,135).

Este cumulo de evidencias explicaría porque las vacas del grupo control, al tener un sistema inmune uterino más débil que las que consumieron zeolita, tuvieron un número y porcentaje mayor de leucocitos PMN uterinos, padecieron en mayor proporción de endometritis subclínica, y experimentaron dificultades para preñarse dado que al intervalo a la concepción fue más prolongado y necesitaron más inseminaciones para lograr la preñez.



6. CONCLUSIONES

- La adición de 200 g/vaca/día de zeolita a la dieta basal de vacas lecheras desde 15 días antes del parto y durante 60 postparto, mejoró la salud uterina al reducir significativamente el porcentaje de leucocitos PMN uterinos.
- Además, no afectó el proceso de involución uterina, el reinicio de la ciclicidad, intervalos al primer celo y al primer servicio.



7. RECOMENDACIONES

- En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo de tesis, se pone a consideración de todos los futuros colegas, ampliar las investigaciones sobre los usos de la zeolita en otras especies animales para mejorar camas, secuéstrate de olores entre otros.
- Del mismo modo, se recomienda a los productores adicionar zeolita a la dieta basal, en el periodo de secado y postparto, para mejorar la salud uterina y ciertos parámetros reproductivos.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Gilbert RO, Shin ST, Guard CL, Erb HN, Frajblat M. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*. 2005;64(9):1879–88.
2. I.M. S, H. D. Reproductive challenges facing the cattle industry at the beginning of the 21st century. *Reprod Suppl*. 2003;61:1–13.
3. Braga R, Becker D, Harry E. Uterine Involution and Reproductive Performance in Dairy Cows with Metabolic Diseases. *Animals*. 2019;9(3):93.
4. Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*. 2004;62:9–23.
5. Zerbe H, Schuberth HJ, Engelke F, Frank J, Klug E, Leibold W. Development and comparison of in vivo and in vitro models for endometritis in cows and mares. *Theriogenology*. 2003;60(2):209–23.
6. Barlund CS, Carruthers TD, Waldner CL, Palmer CW. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. 2008;69:714–23.
7. Jorge D, Costafreda L. Tectosilicatos con características especiales: Las zeolitas naturales. Fundación Gómez Pardo. Madrid: Fundación Gómez Pardo; 2014. 4–23 p.
8. Hernández MA, Rojas F, Portillo R, Salgado M, Rubio E, Ruíz S. Creating nanoporosity in Na, Ca and Mg exchanged erionite zeolite. *Int J Nanotechnol*. 2016;13:28–43.
9. Petranovskii V, Hernández MÁ. Zeolita – una roca útil. RD-ICUAP [Internet]. 2015;1. Available from: <https://icuap.buap.mx/sites/default/files/revista/2015/01/Zeolita.pdf>
10. Hernández MÁ, Rojas F, Corona L, Lara VH, Portillo R, Salgado AM, et al. Evaluación de la porosidad de zeolitas naturales por medio de curvas

- diferenciales de absorción. *Rev Int Contam Ambient.* 2005;V(2):71–81.
11. Pavelić K, Hadžija M, Bedrica L, Pavelić J, Đikić I, Katić M, et al. Natural zeolite clinoptilolite: new adjuvant in anticancer therapy. *J Mol Med [Internet].* 2001 Feb 24 [cited 2019 Jul 3];78(12):708–20. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s001090000176>
 12. Laurino C, Palmieri B. Zeolite: “ the magic stone ”; main nutritional , environmental , experimental and clinical fields of application. *Nutr Hosp.* 2015;32(2):573–81.
 13. Church DC, Pond WG, Pond; K.R. *Fundamentos de nutricion y alimentacion de animales* . Segunda. Mexico D.F: Limusa Wiley; 2009.
 14. Defang H., Nikishov A. Effect of dietary inclusion of zeolite on performance and carcass quality of grower-finisher pigs. *Livest Res Rural Dev [Internet].* 2009;21(6). Available from: <http://www.Irrd.org/Irrd21/6/defa21090.htm>
 15. Pond WG, Yen JT, Varel VH. Response of growing swine to dietary copper and clinoptilolite supplementation. 1988.
 16. Mumpton FA, Fishman PH. The Application of Natural Zeolites in Animal Science and Aquaculture. *J Anim Sci.* 1977;45(5):1188–203.
 17. Drackley JK. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? *J Dairy Sci.* 1999;82(11):2259–73.
 18. Castillo C, Hernández J, Valverde I, Pereira V, Sotillo J, López Alonso M, et al. Plasma malonaldehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows. *Vet Sci.* 2006;80(2):133–9.
 19. Miller JK, Brzezinska-Slebodzinska E, Madsen FC. Oxidative Stress, Antioxidants, and Animal Function. *J Dairy Sci.* 1993;76(9):2812–23.
 20. Ruíz O, Castillo Y, Elías A, Arzola C, Rodríguez C, Salinas J, et al. Efecto de cuatro niveles de zeolita en la digestibilidad y consumo de nutrientes en ovinos alimentados con heno de alfalfa y concentrado. *Rev Cuba Cienc Agrícola.* 2008;42(4):267–370.

21. Wu QJ, Wang YQ, Zhou YM, Wang T. Dietary clinoptilolite influences antioxidant capability and oxidative status of broilers. *Poult Sci Assoc*. 2015;(December).
22. Ivkovic S, Deutsch U, Silberbach A, Walraph E, Mannel M. Dietary supplementation with the tribomechanically activated zeolite clinoptilolite in immunodeficiency: Effects on the immune system. *Adv Nat Ther*. 2004;21(2):135–48.
23. Zarkovic N, Zarkovic K, Kralj M, Borovic S, Sabolovic S, Poljakblazi M, et al. Anticancer and Antioxidative effects of Micronized zeolite clinoptilolite. *Anticancer Res*. 2003;23:1589–96.
24. Ural DA. Efficacy of clinoptilolite supplementation on milk yield and somatic cell count. *MVZ Córdoba*. 2014;19:4242–8.
25. Barajas J, Hernández J, García A, Martínez E, Juárez N, Bedolla M, et al. Endometritis subclínica y tasa de gestación en vacas lecheras en México. *Rev Mex Ciencias Pecu* [Internet]. 2017;9(1):135. Available from: <http://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/4324>
26. Universidad Nacional de Lomas de Zamora. Reproducción Animal. Assiut Journal of Environmental Studies. 2001.
27. Ptaszynska M, Molina JJ. Fisiología de la reproducción en los mamíferos. In: Compendio de Reproducción Animal. 9th ed. Uruguay: Intervet; 2007. p. 5–14.
28. Bossis I, Wettemann RP, Welty SD, Vizcarra J, Spicer LJ. Nutritionally Induced Anovulation in Beef Heifers: Ovarian and Endocrine Function During Realimentation and Resumption of Ovulation1. *Biol Reprod*. 2005;62(5):1436–44.
29. Cavalieri J, Hepworth G, Fitzpatrick LA, Shephard RW, Macmillan KL. Manipulation and control of the estrous cycle in pasture-based dairy cows. *Theriogenology*. 2006;65(1):45–64.

30. Ciccioli NH, Wettemann RP, Spicer LJ, Lents CA, White FJ, Keisler DH. Influence of body condition at calving and postpartum nutrition on endocrine function and reproductive performance of primiparous beef cows. *J Anim Sci*. 2003;81(12):3107–20.
31. Pinos JM, Sánchez MT. Efecto del consumo de energía en los procesos reproductores de la hembra bovina. *FCV-LUZ*. 2001;11(3):256–63.
32. Frasinelli CA, Casagrande HJ, Veneciano J. La condición corporal como herramienta de manejo en rodeos de cría bovina. Argentina; 2004.
33. Hernández J. Fisiología clínica de la reproducción de bovinos [Internet]. 2012. 33–57 p. Available from: http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/publicaciones/archivos/Fisiologia_Clinica.pdf
34. INATEC. Manual del protagonista - Reproducción Animal. Vol. 16, Rev Col Cienc Pec. 2016.
35. De la Riva A. Inmunomodulación del eje hipotálamo-hipófisis-gónada: Valoración del conejo como biomodelo para el estudio de la fisiología de la reproducción. Universidad Complutense de Madrid; 2018.
36. Gigle I, Russo A, Aguero A. Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. *InVet* [Internet]. 2006;8(1):8(1): 183-204. Available from: <http://www.fvet.uba.ar/fcvanterior/publicaciones/archivos/Volumen8N1/gili8.pdf>
37. Calé J, Zalazar C, Faraj G. Kisspeptinas: las protagonistas del eje gonadal. *Revista SAEGRE*. 2011;18(3):5–12.
38. Motta P, Ramos N, González C, Castro E. Dinámica folicular en la vida reproductiva de la hembra bovina. *VetZootec*. 2011;5(2):88–99.
39. Sintex: Laboratorio de especialidades veterinarias. Fisiología reproductiva del bovino. Producción Animal. 2005.
40. Inserra P, Charif S, Giacchino M, Yankelevich L, Proietto S, Schmidt A, et al.

Fisiología del eje hipotalámico-hipofisario-gonadal de la vizcacha de las llanuras de Sudamérica (*Lagostomus maximus*): un roedor con ovulación durante la gestación . Res Gate. 2015;

41. Murugavel K. Reproductive performance of dairy cows following different estrous synchronization protocols. Universidad Autonoma de Barcelona; 2003.
42. López MA. Eje hipotálamo-hipófisis-gonadal. Complejo hospitalario universitario Albacete. 2012.
43. Sheldon IM, Williams EJ, Miller ANA, Nash DM, Herath S. Uterine diseases in cattle after parturition. *Vet J* [Internet]. 2008;176(1):115–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.031>
44. Heppelmann M, Brömmling A, Weinert M, Piechotta M, Wrenzycki C, Bollwein H. Effect of postpartum suppression of ovulation on uterine involution in dairy cows. *Theriogenology* [Internet]. 2013;80(5):519–25. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.05.017>
45. Mateus L, Lopes Da Costa L, Bernardo F, Robalo Silva J. Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. *Reprod Domest Anim*. 2002;37(1):31–5.
46. Domínguez C, Ruiz AZ, Pérez R, Martínez N, Drescher K, Pinto L, et al. Efecto de la condición corporal al parto y del nivel de alimentación sobre la involución uterina, actividad ovárica, preñez y la expresión hipotalámica y ovárica de los receptores de Leptina en vacas doble propósito. *Rev Fac Cs Vets*. 2008;49(1):23–36.
47. Sheldon IM, Cronin JG, Healey GD, Gabler C, Heuwieser W, Streyl D, et al. Innate immunity and inflammation of the bovine female reproductive tract in health and disease. *Reproduction*. 2014;148(3):R41–51.
48. Aungier SPM, Roche JF, Diskin MG, Crowe MA. Risk factors that affect reproductive target achievement in fertile dairy cows. *J Dairy Sci* [Internet]. 2014;97(6):3472–87. Available from: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7404>

49. Sakaguchi M, Sasamoto Y, Suzuki T, Takahashi Y, Yamada Y. Postpartum ovarian follicular dynamics and estrous activity in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* [Internet]. 2010;87(7):2114–21. Available from: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)70030-2](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70030-2)
50. Sheldon IM, Lewis GS, Leblanc S, Gilbert RO. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Elsevier*. 2010;65(2006):1516–30.
51. Thatcher WW, Bilby TR, Bartolome JA, Silvestre F, Staples CR, Santos JEP. Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. *Theriogenology*. 2006;65(1):30–44.
52. Ghasemi F, Gonzalez-cano P, Griebel PJ, Palmer C. Proinflammatory cytokine gene expression in endometrial cytobrush samples harvested from cows with and without subclinical endometritis. *Theriogenology* [Internet]. 2012;78(7):1538–47. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.06.022>
53. Butt B, Senger P, Widders P. Neutrophil migration into the bovine uterine lumen following intrauterine inoculation with killed *Haemophilus somnus*. *J Reprod Fertil Ltd*. 1991;93:341–5.
54. Sens A, Heuwieser W. Presence of *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes*, α -hemolytic streptococci, and coagulase-negative staphylococci and prevalence of subclinical endometritis. *J Dairy Sci*. 2013;96(10):6347–54.
55. LeBlanc SJ. Reproductive tract inflammatory disease in postpartum dairy cows. *Animal*. 2014;8(s1):54–63.
56. LeBlanc SJ. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *Vet J*. 2008;176(1):102–14.
57. León CU. Fisiología y eficiencia reproductiva del ganado vacuno. In: *Fisiología y Eficiencia reproductiva del ganado vacuno*. Turrialba, Costa Rica: Instituto Interamericano de Ciencias Agricolas; 1979. p. 11–4.
58. Carreño AS. Evaluación de los parámetros productivos y reproductivos de

- una explotación de doble propósito en el municipio de Arauca. Engormix [Internet]. 2008; Available from: <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/parametros-productivos-y-reproductivos-de-ganado-doble-proposito-t27501.htm>
59. Macmillan K. ¿Se puede mantener la eficiencia reproductiva en los sistemas de alta producción? Frisona Española. 2000;98–101.
60. Gimenez M, León P, Ruiz G. Efecto de la fuente de carbohidratos ofrecida en el preparto sobre el reinicio de ciclicidad ovárica posparto en vacas lecheras de alta producción. Universidad de la República; 2013.
61. Sienra R. Importancia de los registros para detectar problemas reproductivos en el ganado lechero. Plan Agropecu [Internet]. 2000;90. Available from: https://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R90/R90_29.htm
62. Fricke PM. Estrategias agresivas de manejo para mejorar la eficiencia reproductiva de vacas lecheras en lactancia. GanaderiaSOS. 2018.
63. Quispe E, Vega W. Evaluación de la diferencia productiva y reproductiva en ganado vacuno lechero de la comunidad ganadera el invernillo, localidad de Pomalca departamento de Lambayeque. [Internet]. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2015. Available from: <http://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/UNPRG/2107/BC-TES-TMP-975.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
64. Soto E. Eficiencia reproductiva. In: González-Stagnaro C, editor. Parámetros, cálculos e índices aplicados en la evaluación de la eficiencia reproductiva. Macaibo: Fundación Girarz; 2001. p. 204–47.
65. Nordin Y, Zaini N, Wanzahari WM. Reproductive status following artificial insemination and factors affecting conception rate in dairy cows in smallholder production systems. In: Improving the reproductive management of dairy cattle subjected to artificial insemination. Vienna: Animal Production and Health Section Joint FAO/IAEA Division; 2007. p. 79–91.
66. Galvão KN, Santos JEP. Recent advances in the immunology and uterine

- microbiology of healthy cows and cows that develop uterine disease. *Turkish J Vet Anim Sci.* 2014;38(6):577–88.
67. Bromfield JJ, Santos JEP, Block J, Williams RS, Sheldon IM. Uterine Infection: Linking infectious and innate immunity with infertility in the high-producing dairy cow. *Am Soc Anim Science.* 2015;
68. Valle JM. Balance energético negativo en la vaca de alta producción. Engormix [Internet]. 2013; Available from: <https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/balance-energetico-negativo-vaca-t30341.htm>
69. Asbury AC. Uterine defense mechanisms in the mare: The use of intrauterine plasma in the management of endometritis. *Theriogenology.* 1984;21(2):387–93.
70. Dhaliwal GS, Murray RD, Woldehiwet Z. Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatments for endometritis. *Anim Reprod Sci.* 2001;67(3–4):135–52.
71. Pérez Machado J. Enfermedad Uterina en vacas. *Med Vet al Dia.* 2002;3:28–30.
72. Brodzki P, Kostro K, Krakowski L, Marczuk J. Inflammatory cytokine and acute phase protein concentrations in the peripheral blood and uterine washings of cows with subclinical endometritis in the late postpartum period. *Vet Res Commun.* 2015;39(2):143–9.
73. LeBlanc SJ, Duffield TF, Leslie KE, Bateman KG, Keefe GP, Walton JS, et al. The Effect of Treatment of Clinical Endometritis on Reproductive Performance in Dairy Cows. *J Dairy Sci* [Internet]. 2010;85(9):2237–49. Available from: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74303-8](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74303-8)
74. Gobikrushanth M, Salehi R, Ambrose DJ, Colazo MG. Categorization of endometritis and its association with ovarian follicular growth and ovulation, reproductive performance, dry matter intake, and milk yield in dairy cattle. *Theriogenology* [Internet]. 2016;86(7):1842–9. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.06.003>

75. Ahmadi MR, Kadivar A, Vatankhah M. Evaluation of polymorphonuclear (PMN) cells in cervical sample as a diagnostic technique for detection of subclinical endometritis in dairy cattle. *Asian Pacific J Reprod* [Internet]. 2016;5(4):340–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjr.2016.06.011>
76. Sheldon IM, Cronin J, Goetze L, Donofrio G, Schuberth H-J. Defining Postpartum Uterine Disease and the Mechanisms of Infection and Immunity in the Female Reproductive Tract in Cattle1. *Biol Reprod*. 2009;81(6):1025–32.
77. Bidne K., Dickson M, Ross J, Baumgard L, Keating A. Disruption of Female Reproductive Function. *Soc Reprod Fertil*. 2018;149–85.
78. Kim I, Kang H. Risk Factors for Postpartum Endometritis and the Effect of Endometritis on Reproductive Performance in Dairy Cows in. *J Reprod Dev*. 2003;49(6):485–91.
79. Boer M, Buddle BM, Heuer C, Hussein H, Zheng T, LeBlanc SJ, et al. Associations between intrauterine bacterial infection, reproductive tract inflammation and reproductive performance in pasture-based dairy cows. *Theriogenology*. 2015;(June).
80. Bacha B, Regassa FG. Subclinical endometritis in Zebu x Friesian crossbred dairy cows: Its risk factors, association with subclinical mastitis and effect on reproductive performance. *Trop Anim Health Prod*. 2010;42(3):397–403.
81. Lee SC, Jeong JK, Choi I, Kang H, Jung YH, Park SB, et al. Cytological endometritis in dairy cows: diagnostic threshold, risk factors, and impact on reproductive performance. *Korean Soc Vet Sci*. 2017;19(2):301–8.
82. Boer MW De, Leblanc SJ, Dubuc J, Meier S, Heuwieser W, Arlt S, et al. Invited review : Systematic review of diagnostic tests for reproductive-tract infection and inflammation in dairy cows 1. *J Dairy Sci* [Internet]. 2014;1–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7450>

83. Wagener K, Gabler C, Drillich M. A review of the ongoing discussion about definition, diagnosis and pathomechanism of subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology* [Internet]. 2017; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.02.005>
84. Madoz L, Giuliodori M, Jaureguiberry M, Plöntzke J, Drillich M, De la Sota R. The relationship between endometrial cytology during estrous cycle and cutoff points for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *J Dairy Sci* [Internet]. 2013;96(7):4333–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-6269>
85. Madoz LV. Endometritis subclínica en vacas de tambo: Diagnóstico, prevalencia e impacto en la eficiencia reproductiva. Universidad Nacional de la plata; 2012.
86. Bogado O, Hostens M, Dini P, Vandepitte J, Ducatelle R, Opsomer G. Comparison between cytology and histopathology to evaluate subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology*. 2016;
87. Rinaudo A, Bernardi SF, Marini PR. Punto de corte del porcentaje de neutrófilos para el diagnóstico de endometritis subclínica en vacas lecheras. Univ Nac Rosario. 2012;6–7.
88. Wang LC, Zhang TT, Wen C, Jiang ZY, Wang T, Zhou YM. Protective effects of zinc-bearing clinoptilolite on broilers challenged with *Salmonella pullorum*. *Poult Sci* [Internet]. 2012;91:1838–45. Available from: <http://dx.doi.org/>
89. Ueki A, Yamaguchi M, Ueka H, Watanabe Y, Ohsawa G, Kinugawa K, et al. Polyclonal human T-cell activation by silicate in vitro. *Immunology*. 1994;82(2):332–5.
90. Zarkovic N, Zarkovic K, Kralj M, Borovic S, Sabolovic S, Poljak M, et al. Anticancer and Antioxidative-Effect of Micronized Zeolita Clinoptilolite. *Anticancer Res*. 2003;23:1589–96.
91. Rodríguez-Fuentes G, Barrios M, Iraizoz A, Perdomo I, Cedré B. Enterex: Anti-diarrheic drug based on purified natural clinoptilolite. Elsevier-Zeolites.

- 1997;19(5–6):441–8.
92. Concepción B, Rodriguez G, Simón R. Development and featuring of the zeolitic active principle FZ: A glucose adsorbent. Elsevier. 1997;19(1):47–50.
93. McCollum F., Galyean M. Effects of clinoptilolite on rumen fermentation, digestion and feedlot performance in beef steers fed high concentrate diets. Am Soc Anim Sicience. 1983;56:517–24.
94. Papaioannou D, Katsoulos PD, Panousis N, Karatzias H. The role of natural and synthetic zeolites as feed additives on the prevention and/or the treatment of certain farm animal diseases: A review. Microporous Mesoporous Mater. 2005;84(1–3):161–70.
95. García K. Respuesta a la suplementación con grasa sobrepasante en vacas mestizas en posparto en condiciones de tropico. Vol. 5. Universidad Nacional de Colombia; 2012.
96. Spotti M, Fracchiolla ML, Arioli F, Caloni F, Pompa G. Aflatoxin B1binding to sorbents in bovine ruminal fluid. Vet Res Commun. 2005;29(6):507–15.
97. Sultana N, Hanif NQ. Mycotoxin contamination in cattle feed and feed ingredients. Pak Vet J. 2009;29(4):211–3.
98. Katsoulos P, Roubies N, Panousis N, Christaki E, Karatzias H. Effects on blood concentrations of certain serum fat-soluble vitamins of long-term feeding of dairy cows on a diet supplemented with clinoptilolite. Vet Med (Praha). 2005;52(10):157–61.
99. Andronikashvili T, Pagava K, Kurashvili T, Eprikashvili L. Possibility of Application of Natural Zeolites for Medicinal Purposes. Med Sci. 2009;2:158–67.
100. Sánchez J. Nutrición Energética del Ganado Lechero. Nutr Anim Trop. 2000;6(1):97–128.
101. López FJ. Relación entre condición corporal y eficiencia reproductiva en vacas Holstein. Rev la Fac Ciencias Agropecu del Cauca. 2006;4(1):77–86.

102. Dschaak CM, Eun J, Young AJ, Stott RD, Peterson S. Effects of Supplementation of Natural Zeolite on Intake , Digestion , Ruminal Fermentation , and Lactational Performance of Dairy Cows. *Prof Anim Sci [Internet]*. 2010;26(6):647–54. Available from: [http://dx.doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30662-8](http://dx.doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30662-8)
103. Karatzia MA, Katsoulos PD, Karatzias H. Diet supplementation with clinoptilolite improves energy status , reproductive efficiency and increases milk yield in dairy heifers. *Anim Prod Sci*. 2013;53:234–9.
104. Katsoulos PD, Panousis N, Roubies N, Christaki E, Arsenos G, Karatzias N. Effects of long-term feeding of a diet supplemented with clinoptilolite to dairy cows on the incidence of ketosis, milk yield and liver function. *Vet Rec*. 2006;159(13):415–8.
105. Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *J Dairy Sci*. 1989;72(1):68–78.
106. Perea F, Cruz R, González R, Soto E, González C, Rincón E. Evaluación ultrasonográfica de la involución uterina en vacas mestizas tropicales. *Ach Latinoam Prod Anim* 5. 1997;1:368–9.
107. Ayala L, Aguilar N, Nieto P, Rodas E, Dutan J, Murillo Y, et al. Efecto de la grasa bypass sobre la reactivación ovárica postparto en vacas holstein friesian mestizas con condición corporal diferente. *Rev Electrónica Vet*. 2018;1(Cc):1–13.
108. Garzón Prado JP, Barrera Mosquera VH, Galarza Lucero DA, Soria Parra ME, Rodríguez Saldaña DF, López Crespo GE, et al. Efecto de la zeolita sobre retorno de la actividad ovárica, involución y salud uterina en vacas lecheras postparto criadas en pastoreo. *Livest Res Rural Dev*. 2017;29(3):3–7.
109. Katsoulos PD, Zarogiannis S, Roubies N, Christodoulopoulos G. Effect of long-term dietary supplementation with clinoptilolite on performance and selected serum biochemical values in dairy goats. *Am J Vet Res*.

2009;70(3):346–52.

110. Valpotic H, Terzic S, Vince S, Samardzija M, Turk R, Lackovic G, et al. In-feed supplementation of clinoptilolite favourably modulates intestinal and systemic immunity and some production parameters in weaned pigs. *Vet Med (Praha)*. 2016;61(6):317–27.
111. Wu QJ, Zhou YM, Wu YN, Zhang LL, Wang T. The effects of natural and modified clinoptilolite on intestinal barrier function and immune response to LPS in broiler chickens. *Vet Immunol Immunopathol* [Internet]. 2013;153(1–2):70–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2013.02.006>
112. Quintela L, Vigo M, Becerra J, Barrio M, García P, Peña A. Subclinical Endometritis in Dairy Cattle. In: *New Insights into Theriogenology*. Theriogenology; 2018.
113. Dubuc J, Duffield TF, Leslie KE, Walton JS, LeBlanc SJ. Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. *J Dairy Sci* [Internet]. 2010;93(11):5225–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2010-3428>
114. Plöntzke J, Madoz L V, Sota RL De, Drillich M, Heuwieser W. Subclinical endometritis and its impact on reproductive performance in grazing dairy cattle in Argentina. *Anim Reprod Sci*. 2010;122:52–7.
115. McDougall S, Hussein H, Aberdein D, Buckle K, Roche J, Burke C, et al. Relationships between cytology, bacteriology and vaginal discharge scores and reproductive performance in dairy cattle. *Theriogenology* [Internet]. 2011;76(2):229–40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.12.024>
116. González - Stagnaro C, Ocando A. Invoulción uterina, cambios ováricos y actividad estral posparto en vacas y novillas. In: *VII Congreso Panama Medicina Veterinaria Zootecnia*. 1977. p. 5.
117. Zhang J, Deng LX, Zhang HL, Hua GH, Han L, Zhu Y, et al. Effects of parity on uterine involution and resumption of ovarian activities in postpartum

- Chinese Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* [Internet]. 2010;93(5):1979–86. Available from: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2009-2626>
118. Okano A, Tomizuka T. Ultrasonic observation of postpartum uterine involution in the cow. *Theriogenology*. 1987;27(2):369–76.
119. Holt LC, Whittier WD, Gwazdauskas FC, Vinson WE. Early Postpartum Reproductive Profiles in Holstein Cows with Retained Placenta and Uterine Discharges. *J Dairy Sci*. 2010;72(2):533–9.
120. Butler WR. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livest Prod Sci*. 2003 Oct;83(2–3):211–8.
121. Kendrick KW, Bailey TL, Garst AS, Pryor AW, Ahmadzadeh A, Akers RM, et al. Effects of Energy Balance on Hormones, Ovarian Activity, and Recovered Oocytes in Lactating Holstein Cows Using Transvaginal Follicular Aspiration. *J Dairy Sci* [Internet]. 2010;82(8):1731–41. Available from: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75403-2](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75403-2)
122. Khatti A, Mehrotra S, Patel P, Singh G, Maurya V, Mahla A, et al. Supplementation of vitamin E, selenium and increased energy allowance mitigates the transition stress and improves postpartum reproductive performance in the crossbred cow. *Theriogenology* [Internet]. 2017;104:142–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.08.014>
123. Grabherr H, Spolders M, Lebzien P, Hüther L, Flachowsky G, Fürll M, et al. Effect of zeolite A on rumen fermentation and phosphorus metabolism in dairy cows. *Arch Anim Nutr*. 2009;63(4):321–36.
124. Dänicke S, Meyer U, Kersten S, Frahm J. Animal models to study the impact of nutrition on the immune system of the transition cow. *Res Vet Sci* [Internet]. 2018;116:15–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.01.023>
125. Mallek Z, Fendri I, Khannous L, Ben Hassena A, Traore AI, Ayadi MA, et al. Effect of zeolite (clinoptilolite) as feed additive in Tunisian broilers on the total flora, meat texture and the production of omega 3 polyunsaturated fatty acid.

Lipids Health Dis. 2012;11:1–7.

126. Williams EJ, Fischer DP, Noakes DE, England GCW, Rycroft A, Dobson H, et al. The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. *Theriogenology*. 2007;68(4):549–59.
127. Lazzari G, Duchi R, Colleoni S, Baldazzi L, Benedetti V, Galli A, et al. Le patologie uterine cliniche e subcliniche come causa di infertilità nelle bovine da latte: Studio epidemiologico in due allevamenti della regione Lombardia. *Large Anim Rev*. 2011;17(2):43–7.
128. Suzuki C, Yoshioka K, Iwamura S, Hirose H. Endotoxin induces delayed ovulation following endocrine aberration during the proestrous phase in Holstein heifers. *Domest Anim Endocrinol*. 2001;20(4):267–78.
129. Williams CY, Harris TG, Battaglia DF, Karsch FJ, Viguié C. Endotoxin Inhibits Pituitary Responsiveness to Gonadotropin-Releasing Hormone. *Endocrinology*. 2001;142(5):1915–22.
130. Williams EJ, Sibley K, Miller AN, Lane EA, Fishwick J, Nash DM, et al. The effect of escherichia coli lipopolysaccharide and tumour necrosis factor alpha on ovarian function. *Am J Reprod Immunol*. 2008;60(5):462–73.
131. Lavon Y, Leitner G, Goshen T, Braw-Tal R, Jacoby S, Wolfenson D. Exposure to endotoxin during estrus alters the timing of ovulation and hormonal concentrations in cows. *Theriogenology*. 2008;70(6):956–67.
132. Lavon Y, Leitner G, Klipper E, Moallem U, Meidan R, Wolfenson D. Subclinical, chronic intramammary infection lowers steroid concentrations and gene expression in bovine preovulatory follicles. *Domest Anim Endocrinol* [Internet]. 2011;40(2):98–109. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.domaniend.2010.09.004>
133. Herath S, Lilly ST, Fischer DP, Williams EJ, Dobson H, Bryant CE, et al. Bacterial lipopolysaccharide induces an endocrine switch from prostaglandin F2 α , to prostaglandin E2 in bovine endometrium. *Endocrinology*. 2009;150(4):1912–20.



134. Soto P, Natzke RP, Hansen PJ. Actions of tumor necrosis factor- α on oocyte maturation and embryonic development in cattle. *Am J Reprod Immunol*. 2003;50(5):380–8.
135. Soto P, Natzke RP, Hansen PJ. Identification of possible mediators of embryonic mortality caused by mastitis: Actions of lipopolysaccharide, prostaglandin F2 α , and the nitric oxide generator, sodium nitroprusside dihydrate, on oocyte maturation and embryonic development in cattle. *Am J Reprod Immunol*. 2003;50(3):263–72.

9. ANEXOS



Anexo 1: Alimentación de los animales, pastos y balanceado.



Anexo 2: Realización de la ecografía postparto.



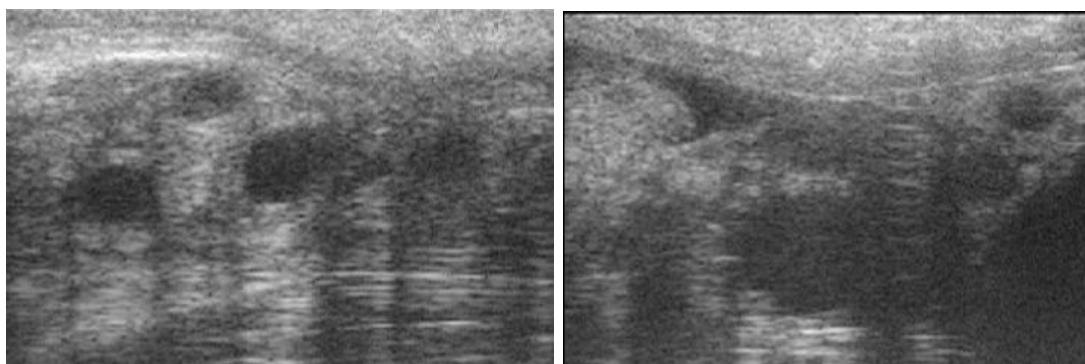
Anexo 3: Preparación para la toma de la muestra citológica - Cytobrush: Lavado de la región perianal y preparación de la pistola acoplada con citocepillo.



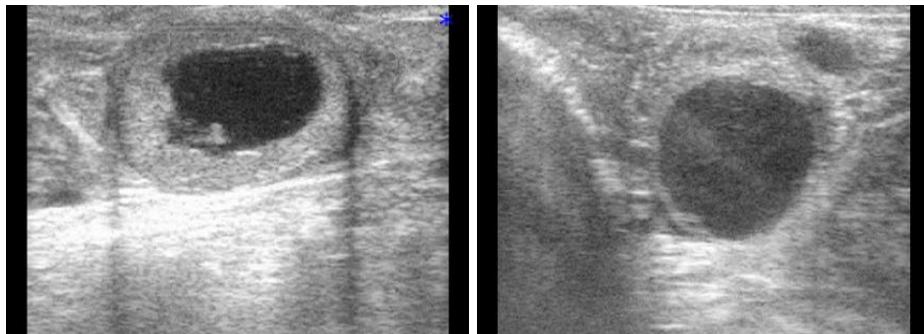
Anexo 4: Frotis de la muestra citológica intrauterina.



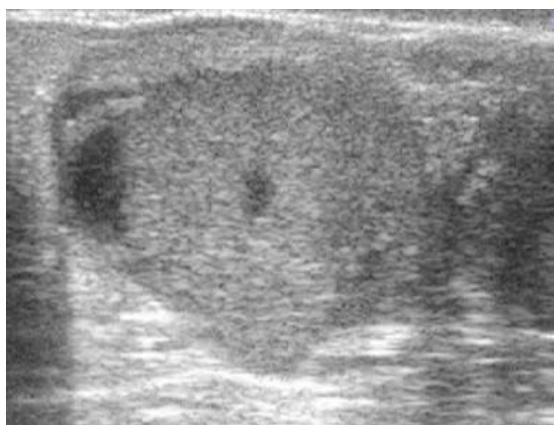
Anexo 5: Ecografía del ovario, en su cuarta semana postparto, se observa presencia de CL (35 x 30 cm).



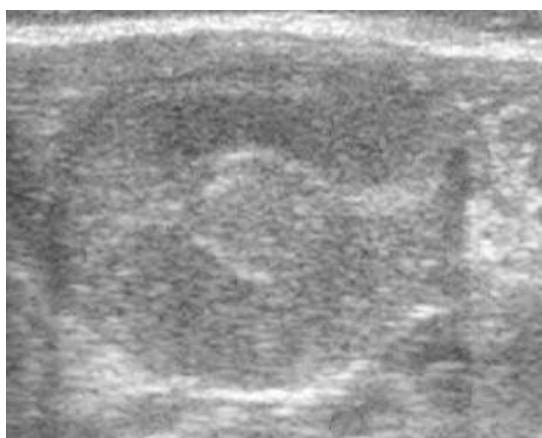
Anexo 6: Ecografía del ovario izquierdo en su cuarta semana posparto, se localiza folículos de 12 cm de diámetro,.



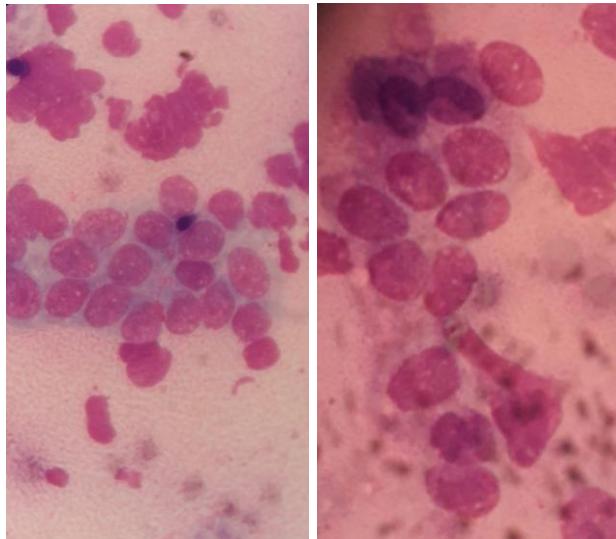
Anexo 7: Ecografía a la tercera semana postparto: Ovario derecho presenta quiste y ovario izquierdo presenta CL (25 x 22 cm).



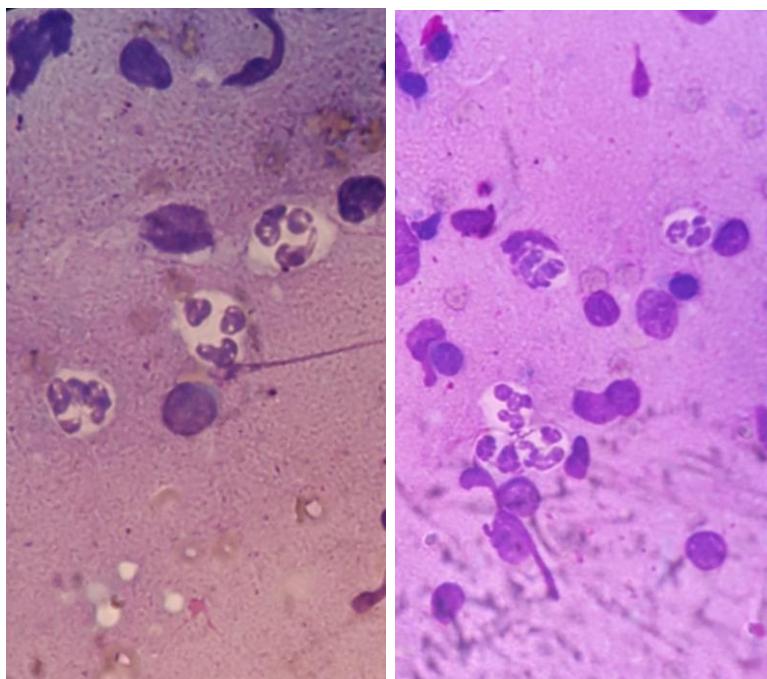
Anexo 8: Ecografía a la tercera semana postparto, se observa un cérvix con una longitud de 4,0 x 2,5 cm.



Anexo 9: Ecografía a la cuarta semana postparto, se observa disminución en el diámetro del cérvix (3,8 x 2,5 cm)



Anexo 10: Citología: Presencia de células epiteliales del endometrio teñidas con Wright, vistas al microscopio con aumento de 100x.



Anexo 11: Localización de células polimorfonucleares, muestra citológica teñida con Wright, día 45 postparto.



Universidad de Cuenca

Nº	ID (finca)	Finca	Tratamiento	Nº de partos	Fecha de parto (dd/mm/aa)	Salud Uterina					
						Num de celulas (A)	Num de PMN (A)	Num de celulas (B)	Num PMN (B)	% PMN A	% PMN B
1	447	01	2	6	2/10/2018	223	4	201	1	2	0
2	2134	01	2	7	1/10/2018	214	6	205	0	3	0
3	O5497	01	2	6	4/10/2018	222	8	240	9	4	4
4	89364	01	1	8	31/09/2018	220	19	214	17	9	8
5	764	01	2	4	13/10/2018	207	2	214	2	1	1
6	790	01	1	3	9/10/2018	231	8	225	3	3	1
7	2459	01	1	3	19/10/2018	230	5	214	8	2	4
8	2N598	01	2	3	3/11/2018	203	8	207	7	4	3
9	9N459	01	1	6	10/11/2018	206	16	200	16	8	8
10	2488	01	2	3	16/11/2018	201	7	202	5	3	2
11	19550	01	1	5	18/11/2018	204	16	202	18	8	9
12	3	01	2	5	28/11/2018	220	5	220	7	2	3
13	12531	01	1	6	1/12/2018	206	25	200	21	12	11
14	OD523	01	1	9	4/12/2018	200	18	209	22	9	11
15	523	01	2	5	9/12/2018	200	4	209	10	2	5
16	2484	01	2	3	11/12/2018	200	4	200	7	2	4
17	2277	01	1	5	18/12/2018	200	30	208	24	15	12



Universidad de Cuenca

18	2536	01	2	2	18/12/2018	216	2	212	4	1	2
19	465	01	2	4	23/12/2018	213	12	236	6	6	3
20	9372	01	1	5	24/12/2018	208	12	212	10	6	5
21	2466	01	2	3	11/1/2019	200	3	208	0	2	0
22	727	01	1	4	6/11/2018	218	29	208	24	13	12
23	2517	01	1	2	15/11/2018	205	19	204	21	9	10
24	2534	01	2	2	8/12/2018	200	6	200	8	3	4
25	2157	01	2	8	18/12/2018	200	18	200	20	9	10
26	2478	01	1	3	21/12/2018	228	36	218	24	16	11
27	32622	01	1	3	8/1/2019	209	11	210	10	5	5
28	2529	01	1	2	25/1/2019	210	18	207	21	9	10
29	650	02	1	3	19/12/2018	200	20	208	34	10	16
30	559	02	1	4	26/12/2018	228	14	200	20	6	10
31	1253	02	1	7	28/12/2018	200	12	200	16	6	8
32	644	02	2	3	14/12/2018	214	8	240	24	4	10
33	502	02	1	6	18/12/2018	208	16	222	20	8	9
34	525	02	1	6	1/10/2018	208	12	218	16	6	7
35	589	02	2	4	3/10/2018	200	8	228	12	4	5
36	535	02	2	5	7/10/2018	204	4	200	2	2	1
37	616	02	1	4	17/10/2018	218	36	216	35	17	16
38	701	02	2	2	12/10/2018	228	2	240	6	1	3
39	1283	02	1	4	12/11/2018	200	10	210	16	5	8



Universidad de Cuenca

40	615	02	2	4	11/11/2018	200	16	200	3	8	2
41	449	02	2	8	13/11/2018	200	11	206	10	6	5
42	670	02	1	3	14/12/2018	210	19	210	15	9	7
43	1277	02	2	4	11/11/2018	210	6	220	6	3	3
44	1314	02	1	2	23/11/2018	214	20	200	17	9	9
45	1287	02	2	4	23/11/2018	200	4	200	6	2	3
46	651	02	2	3	18/12/2018	214	6	220	8	3	4
47	544	02	2	6	27/12/2018	200	8	200	6	4	3
48	655	02	1	3	22/12/2018	200	10	204	16	5	8
49	1266	02	2	5	31/12/2018	214	1	200	0	0	0
50	602	02	2	3	28/12/2018	200	8	204	6	4	3
51	511	02	1	6	21/1/2019	200	12	202	14	6	7
52	570	02	2	4	28/1/2019	218	1	209	2	0	1
53	566	02	1	5	28/1/2019	201	14	200	17	7	9
54	677	02	2	3	27/1/2019	200	5	218	4	3	2
55	601	02	1	3	22/2/2019	200	20	218	28	10	13
56	578	02	1	4	2/2/2019	204	16	200	15	8	8
57	525	03	1	2	7/1/2019	ENFER	MEDAD	REPRO	DUCTIVA		
58	377	03	1	5	12/1/2019	200	15	209	13	8	6
59	532	03	2	3	27/2/2019	206	25	207	22	12	11
60	523	03	2	3	26/2/2019	208	9	200	6	4	3



Nº	Involución Uterina			Reinicio de la Ciclicidad Ovárica		Comportamiento reproductivo		Producción Acumulada
	Primer Chequeo	Segundo Chequeo	Tercer Chequeo	Día de detección	Tamaño de CL	IPPS	Días Abiertos	
1	3.5 x 2.0	3.0 x 2.0	2.5 x 2.0	26	12 x 15	89	136	1300
2	3.0 x 3.0	3.0 x 2.5	2.5 x 2.0	35	12 x 13	103	193	1893
3	3,5 x 2,5	2,4 x 2,5	2,5 x 2,0	31	30 x 30	120	208	1988
4	3,0 x 5,0	2,5 x 5,0	3,0 x 2,0	> 47		75	75	1895
5	4,0 x 3,5	3,0 x 3,0	2,5 x 2,0	29	25 x 30	77	276	2106
6	3,0 x 2,5	2,5 x 2,5	2,5 x 2,5	> 47		64	270	2477
7	4,0 x 3,0	3,0 x 2,5	2,5 x 2,0	23	25 x 20	51	112	2074
8	4,5 x 3,0	4,0 x 2,5	3,0 x 2,5	> 47		58	177	1887
9	4,0 x 4,5	3,5 x 2,5	3,5 x 2,5	23	25 x 30	50	50	2261
10	2,8 x 2,6	2,8 x 2,0	2,5 x 2,0	> 47		49	49	1713
11	3,5 x 2,5	3,0 x 2,5	3,0 x 2,4	22	30 x 25	48	48	1900
12	2,8 x 2,6	2,5 x 2,0	3,5 x 2,5	26	30 x 25	53	113	2124
13	4,4 x 3,0	4,0 x 2,5	4,0 x 2,5	> 47		155	155	2108
14	4,0 x 2,0	3,5 x 2,5	3,5 x 2,5	19	30 x 30	54	54	1729
15	4,0 x 3,5	4,0 x 2,5	2,6 x 2,5	> 47		54	117	1797
16	3,5 x 3,0	3,0 x 2,2	3,0 x 1,8	19	25 x 22	75	137	2596
17	4,0 x 2,5	3,6 x 2,5	3,0 x 2,2	26	30 x 20	52	120	2727



Universidad de Cuenca

18	3,0 x 2,3	3,0 x 2,5	3,5 x 2,3	32	18 x 18	68	108	1991
19	4,8 x 3,5	4,5 x 2,5	4,5 x 2,5	27	25 x 20	58	100	2919
20	5,0 x 4,3	5,5, x 3,0	4,5 x 2,8	26	35 x 30	47	95	3168
21	5,0 x 3,0	3,2 x 2,0	3,2 x 2,0	23	25 x 20	79	79	2888
22	3,5 x 2,0	3,0 x 2,5	3,0 x 2,5	> 47		86	55	3113
23	6,0 x 4,0	4,5 x 2,2	4,5 x 2,2	24	15 x 15	77	165	3263
24	4,0 x 3,0	3,5 x 2,7	3,0 x 1,6	21	25 x 27	144	144	861
25	5,0 x 3,2	4,5 x 4,0	3,0 x 2,0	25	15 x 15	134	134	1826
26	3,5 x 2,5	3.0 x 2.0	3.0 x 2.0	22	30 x 26	49	107	2083
27	5,0 x 4,0	4,5 x 3,5	2,0 x 1,5	29	30 x 25	76	161	1313
28	3,0 x 2,5	2,0 x 1,5	2,0 x 1,5	> 47		113	190	1333
29	3,0 x 2,5	3,4 x 2,5	3,4 x 2,5	29	30 x 30	82	130	2345
30	2,5 x 1,7	3,0 x 2,0	2,8 x 1,5	41	30 x 30	75	219	3030
31	4,0 x 3,0	3,2 x 2,0	3,2 x 2,0	27	30 x 30	43	257	2180
32	4,5 x 2,5	3,9 x 2,5	3,9 x 2,5	16	15 x 20	72	72	1985
33	4,7 x 3,0	2,0 x 1,8	2,5 x 1,5	41	14 x 24	106	214	3330
34	3,2 x 2,3	3,0 x 2,4	2,6 x 1,6	> 47		202	202	2295
35	3,5 x 3,0	3,0 x 1,5	3,0 x 2,0	18	25 x 30	66	66	1956
36	3,8 x 2,4	3,3 x 2,0	2,5 x 2,0	42	29 x 25	73	166	2715
37	3,5 x 2,5	3,0 x 1,8	3,0 x 1,5	39	24 x 31	76	55	1670
38	2,5 x 2,5	2,5 x 1,8	3,0 x 2,0	30	40 x 30	100	100	2145
39	3,6 x 4,0	2,8 x 3,3	3,0 x 2,5	28	21 x 20	79	148	2795



Universidad de Cuenca

40	4,0 x 2,4	2,5 x 3,2	2,0 x 1,5	> 47		81	80	2810
41	5,0 x 2,8	4,0 x 2,5	4,0 x 2,5	20	30 x 30	87	87	1370
42	3,9 x 2,0	3,6 x 1,6	3,0 x 2,0	27	14 x 14	74	105	2960
43	3,0 x 2,5	3,0 x 1,3	3,0 x 1,3	25	25 x 18	58	58	3440
44	2,7 x 1,7	3,0 x 1,2	3,0 x 1,2	20	32 x 25	42	90	1858
45	2,5 x 2,5	3,0 x 1,6	3,0 x 1,6	30	30 x 28	53	53	2100
46	4,0 x 4,5	3,0 x 2,0	3,0 x 2,0	40	30 x 30	45	45	1976
47	2,5 x 3,6	2,5 x 3,6	3,5 x 2,8	35	32 x 27	37	37	2065
48	3,0 x 2,5	2,8 x 2,4	3,5 x 2,5	>47		71	120	1945
49	5,0 x 3,0	3,8 x 2,8	2,3 x 2,0	> 47		89	267	3110
50	4,5 x 5,0	4,0 x 3,2	2,5 x 2,5	21	25 x 25	84	79	1500
51	4,0 x 3,0	3,5 x 2,5	3,0 x 2,5	> 47		57	>270	1840
52	3,0 x 3,0	3,0 x 2,0	2,5 x 1,6	40	25 x 20	57	90	3513
53	4,4 x 3,5	3,5 x 2,6	3,0 x 2,0	40	20 x 30	61	249	2780
54	3,5 x 3,5	2,8 x 2,0	2,4 x 2,0	19	30 x 20	61	134	1670
55	3,5 x 4,5	2,5 x 3,5	1,5 x 2,0	20	30 x 23	75	189	2374
56	3,5 x 2,8	4,0 x 2,5	3,5 x 2,0	20	33 x 35	36	>270	2913
57	4,0 x 2,2	3,0 x 2,0	2,2 x 2,0	15	20 x 20	120	145	1500
58	4,5 x 3,0	4,0 x 2,5	3,5 x 3,0	> 47		161	161	1100
59	4,0 x 2,0	3,5 x 3,2	3,5 x 2,5	28	25 x 25	115	138	1700
60	4,0 x 2,8	3,5 x 2,0	3,0 x 2,0	>47		116	116	1200



ID:	Número de identificación (arete) empleado en la granja.			
Finca:	Número de reconocimiento de la base de datos.	1= La Europea	2=Pecalpa	3= Irquis
Tratamiento:	Número de identificación de vacas control y las administradas zeolita	1= Control	2= Zeolita	
% PMN:	Porcentaje de polimorfos encontrados en las citologías uterinas, en más de 200 células, expresadas con una regla de 3.			
Día de detección	Número de días transcurridos desde el parto hasta la detección del CL en cualquiera de los ovarios.			
Tamaño de CL:	Se registró el diámetro horizontal y vertical, y se tomó un diámetro promedio de las dos medidas.			
IPPS:	Número de días transcurridos desde el parto hasta la fecha de la primera IA.			
Días abiertos:	Número de días transcurridos desde el parto hasta el servicio fértil.			
Producción Acumulada	Promedio de producción láctea a los 100 días por unidad experimental.			

Anexo 12: Base de datos utilizada para la evaluación de variables.



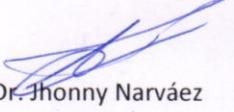
DEJAMOS CONSTANCIA DE HABER RECIBIDO LA TESIS DE GRADO DE LOS EGRESADOS

FRANKLIN SINCHI MERCHAN

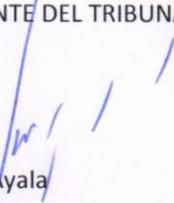
JENNY ZUIN JARRO

MISMA QUE HA SIDO REVISADA Y CORREGIDA PARA CONTINUAR CON LOS TRÁMITES DE GRADUACIÓN.

Cuenca, 23 de diciembre de 2019


Dr. Jhonny Narváez

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL


Dr. Luis Ayala

MIEMBRO DEL TRIBUNAL


Dr. José Miranda

MIEMBRO DEL TRIBUNAL


Dr. Diego Rodriguez

DIRECTOR DE TESIS