

UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO HENRÍQUEZ UREÑA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA



“Comparación de la Flora Bacteriana del Área Vulvar y Vaginal en Yeguas Reproductoras en Etapa de Estro y Diestro, Como Forma de Determinar la Relevancia de la Antisepsia Previa a los Manejos Reproductivos, en Criaderos de Santo Domingo, República Dominicana.”

Trabajo de Grado Sustentado por:

MARIELA DA SILVA HENRÍQUEZ

Matrícula: 16-1593

LAURA NICOLE ROJAS POZO

Matrícula: 16-1810

Para la Obtención del Título de Doctor en Medicina Veterinaria

Asesor:

PROF. RAFAEL ÁNGEL BOHÓRQUEZ CORONA

Santo Domingo, D.N

2022

En memoria de

Dr. Jorge Hernán López Hincapié M.V.Z

AGRADECIMIENTOS

A mi compañera Laura, por todos sus esfuerzos, perseverancia y positivismo; por la paciencia tan grande que tuvo conmigo y mi obsesión con las correcciones y por nunca haber perdido la fé en que éramos capaces de superar todos los retos que se presentarán en el camino.

A nuestro asesor, el Dr. Rafael A. Bohórquez, por su apoyo y guía a través de cada uno de los pasos de la investigación. Gracias por nunca negarse a responder una duda, por llevarnos de la mano en nuestros momentos de pánico y estrés. Y sobre todo le agradezco por no haber faltado nunca.

A la Hacienda Heinsen y al Criadero El Camino, por la confianza y solidaridad que tuvieron al permitirnos realizar el estudio con sus animales. A los señores Dr. Juan Uribe y Jaime Vladimir Gonzáles de la Cruz, por su tiempo y colaboración con la parte práctica y estadísticas de la investigación.

Agradezco a nuestra familia y amigos. Sin su apoyo nada de esto hubiera sucedido. Les doy las gracias por estar siempre ahí para nosotras, por su consuelo en los momentos más difíciles y por su alegría en los momentos más alentadores. Diosito, tú me has traído hasta aquí y me llevarás a donde debo llegar, gracias por todo.

-Mariela Da Silva

Por siempre Gracias al Dr. Jorge Hernán López Hincapié. Por confiar y creer en nosotras desde el primer día, por la gran idea de la realización de este proyecto de investigación, por colaborarnos en el proceso. Por enseñarnos lo hermoso de la reproducción equina y de lo capaces que somos y lo que podemos lograr cuando se tiene confianza en uno mismo.

Dedicado a mis padres, Maritza Pozo Valdez y Leandro Rojas Tavarez. Son mis principales pilares, estuvieron conmigo desde el día uno dándome sugerencias, apoyándome, me incentivaron a seguir adelante y nunca desistir, fueron y siempre serán mi mayor soporte. Poniendo su mayor esfuerzo y empeño ayudándome a lograr este gran logro. Todo lo que soy se los debo a ustedes.

Gracias a mi compañera Mariela Da Silva, por su esfuerzo, dedicación y apoyo durante la realización de este trabajo y desde toda la carrera. Por a pesar de los altibajos nunca rendirse y permitirme compartir con ella en este gran logro para ambas.

A la colega y amiga, Dra. Marien Nicole Hernández Ceara por esa mano amiga desde el día uno y brindarnos todo su conocimiento y apoyo incondicional. Por confiar en nosotras y adentrarnos a la práctica Veterinaria desde el inicio.

A mis familiares y amigas, mi querida "Cambita" (saben quiénes son, las amo) gracias por ser parte de mi sistema de apoyo y estar ahí siempre todos estos años. Que este sea el comienzo de una gran aventura que nos depara a todas.

-Laura Rojas Pozo

ÍNDICE

CAPÍTULO I: ASPECTOS GENERALES.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
1.1 OBJETIVOS.....	4
1.1.1 Objetivo General.....	4
1.1.2 Objetivos Específicos.....	4
1.2 HIPÓTESIS.....	5
CAPÍTULO II: REVISIÓN LITERARIA.....	6
2.1 ANTECEDENTES.....	7
2.1.1 Antecedentes Nacionales.....	7
2.1.2 Antecedentes Internacionales.....	7
2.2 MECANISMOS DE DEFENSA UTERINA	8
2.2.1 Mecanismos físicos.....	9
2.2.2 Sistema Inmune.....	10
2.2.3 Ciclo estral y Drenaje Uterino.....	11
2.3 FLORA MICROBIANA Y EL TRACTO REPRODUCTOR.....	12
2.4 PROCEDIMIENTOS QUE ARRIESGAN LA SALUD UTERINA.....	13
2.4.1 Técnicas de Reproducción Asistida.....	13
2.4.2 Recursos Diagnósticos y Tratamientos.....	13
2.5 CONSECUENCIAS DE LOS FALLOS DE LOS MECANISMOS DE DEFENSA DEL ÚTERO	14
2.5.1 Endometritis.....	14
2.5.2 Piometra.....	15
2.6 ASEPSIA Y ANTISEPSIA.....	16

CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO.....	19
3.1 LOCALIZACIÓN DEL ESTUDIO.....	20
3.2 TIPO DE ESTUDIO Y MÉTODO.....	20
3.3 TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	20
3.3.1 Selección de la muestra.....	20
3.4 INSTRUMENTOS DE INVESTIGACIÓN.....	21
3.5 DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS A UTILIZAR.....	22
3.5.1 Evaluación.....	22
3.5.2 Método Antiséptico.....	23
3.5.3 Toma De Muestra Mucosa Vaginal y Vulvar.....	23
3.6 PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	23
3.7 PROCEDIMIENTOS ESTADÍSTICOS PARA ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	24
CAPÍTULO IV: RESULTADOS.....	25
4.1 RESULTADOS.....	26
4.2 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	29
4.3 DISCUSIÓN.....	38
4.4 CONCLUSIÓN.....	39
4.5 RECOMENDACIONES.....	40
CAPÍTULO V: REFERENCIAS.....	41
5.1 REFERENCIAS.....	42
CAPÍTULO VI: ANEXOS.....	45
6.1 Formulario de recolección de datos.....	46

CAPÍTULO I:
ASPECTOS GENERALES

1. INTRODUCCIÓN

Cada año el mundo equino crece en conocimiento y volumen. Por su gran exigencia, la reproducción equina se ha visto obligada a desarrollar métodos y procedimientos que se ajustaran a la demanda de esta población y del mismo modo fue marcando su relevancia. La inseminación artificial, transferencia de embriones entre otras técnicas se fundaron para cubrir éstas necesidades. Pero así mismo como se crearon soluciones también se identificaron nuevos problemas, ya que la mayoría de estos procesos requieren de la entrada de artefactos a la cavidad uterina cuya zona se considera íntegra y libre de patógenos, lo que predispone a riesgos de contaminación, problemas en la conformación del cérvix, entre otros.

Para el manejo y prevención de estos problemas se emplean pasos previos a la realización de cualquier proceso que involucre actividad en el útero, siendo uno de ellos la antisepsia que se define como disminución o eliminación de microorganismos existentes en el animal. A diferencia del término descrito anteriormente, la asepsia se refiere a los procedimientos realizados para higienizar y limpiar objetos inanimados. (Papelmatic, 2020)

La antisepsia del periné se realiza con el fin de reducir el número de bacterias que ingresan al útero. Esta práctica puede variar en cuanto a los materiales a utilizar y pasos a seguir dependiendo del médico veterinario que esté realizando el procedimiento. (Dascanio & McCue, 2014)

La microbiota de la vagina de estos animales aún está siendo estudiada, no obstante, hay reportes de la presencia de agentes como *Corynebacterium spp.*, *Streptococcus spp.* y *Staphylococcus spp.* La existencia de estos no es necesariamente negativa, ya que son parte

esencial del funcionamiento del organismo y colaboran con el sistema inmune de la yegua. (Fraga, Perelmuter, Delucchi, & Zunuino, 2011)

Pocos documentos describen la microbiota normal del área perineal, vulva y clítoris sin embargo la presencia de *E. coli* fue mencionada como bacteria oportunista propia de la flora bacteriana normal de estas zonas, según Overbeck en 2011.

La finalidad del presente trabajo de investigación consiste en comparar la flora bacteriana vulvar y vaginal de las yeguas reproductoras sanas con el propósito de encontrar alguna similitud entre la flora natural de ambas áreas, lo que justificaría la importancia o no de la antisepsia profunda del periné previa a los procedimientos de manejo reproductivo.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo General

Comparación de la flora bacteriana del área vulvar y vaginal en yeguas reproductoras en etapa de estro y diestro, como forma de determinar la relevancia de la antisepsia previa a los manejos reproductivos, en criaderos de Santo Domingo, República Dominicana

1.1.2 Objetivos Específicos

1. Identificar la microbiota natural del área vulvar y vaginal de yeguas reproductoras en estro y diestro.
2. Comparar la microbiota antes y después de la antisepsia previa a los manejos reproductivos de yeguas en estro y diestro.
3. Determinar si existe similitud en los microorganismos identificados en la vulva y en la vagina.

1.2 HIPÓTESIS

Hipótesis 0: La microbiota presente en el área vaginal de las yeguas en estro y diestro no es similar a los microorganismos presentes en el área vulvar luego de realizar los protocolos de antisepsia ya establecidos.

Hipótesis 1: La microbiota presente en el área vaginal de las yeguas en estro y diestro es similar a los microorganismos presentes en el área vulvar luego de realizar los protocolos de antisepsia ya establecidos.

CAPÍTULO II:
REVISIÓN LITERARIA

2.1 ANTECEDENTES

2.1.1 Antecedentes Nacionales

Durante el proceso preliminar de investigación se determinó que no existen estudios previos realizados a nivel nacional que avalan la importancia de la antisepsia, previa a los procedimientos y las consecuencias que podrían producirse en caso de no ser realizadas.

2.1.2 Antecedentes Internacionales

En el estudio realizado en Cundinamarca, Colombia por Cindy Johanna Herreño Cárdenas et al. sobre la "*Comparación de microbiota de vulva y tracto vaginal en yeguas destinadas para reproducción*". Se realizaron estudios microbiológicos para comparar la similitud entre agentes de la vulva y vagina. Las mismas concluyeron que se presentan los mismos microorganismos en tracto vaginal como en vulva, siendo *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus* los más prevalentes.

Se ha descrito la Clorhexidina como un producto antiséptico idóneo. En el artículo "*Efectos citotóxicos de gluconato de clorhexidina en células epiteliales*" publicado en la revista Mexicana de Estomatología, por Claudio Cabral-Romero et.al. En el año 2016, los mismos obtuvieron resultados donde se demostró que la clorhexidina es un excelente antiséptico sin embargo, excluye las células de mamífero lo que puede llegar a la pérdida de las mismas teniendo adicionales consecuencias ya que con este producto se estarían combatiendo tanto los microorganismos patógenos como también los que pertenecen a la flora natural.

En el año 2011 en Uruguay, Martín Fraga et. Al. En su estudio titulado "*Microbiota natural equina como fuente beneficiosa*" donde trata la microbiota en general focalizando tanto el tracto gastrointestinal como el tracto reproductivo, estableció que el estudio de la microbiota es de suma importancia ya que los microorganismos de la misma aportan grandes beneficios al correcto funcionamiento de los diferentes sistemas del organismo. Adicionalmente se determinó que los agentes en cuestión pudiesen incluso trabajar como probióticos, aunque aún se necesitan estudios más exhaustivos para confirmar dicha teoría.

En el 2004, en Argentina, Carla Paola Bustos y Maria Fernanda Sanchez realizaron el Estudio Bacteriológico de Hisopados Vaginales de Yeguas. En el mismo concluyeron que en Yeguas de conformación vulvar aparentemente normal se encuentran bacterias como *Staphylococcus coagulasa negativo*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus sp*, *Escherichia coli* y *Corynebacterium sp*.

También es importante destacar a la Dra. Linda Mittel de la Universidad de Cornell en la ciudad de Nueva York. Quien en su artículo de "*Recomendaciones para manejadores de Equinos*" en el 2009, atribuye a la falta de higiene del área perineal como uno de las causas principales de la Endometritis Contagiosa Equina. Potencializando así la importancia de una correcta antisepsia.

2.2 MECANISMOS DE DEFENSA UTERINA

El útero de la yegua se mantiene saludable y libre de contaminantes gracias a diversos factores que permiten una defensa fisiológica ante agentes extraños. Estos son por medio de

mecanismos físicos, inmunológicos y drenaje uterino. (Do Carmo, comunicación personal, 2021)

2.2.1 Mecanismos físicos

En los equinos existen barreras protectoras que sirven para evitar la contaminación del tracto reproductor siendo estos la vulva, el pliegue vestibulovaginal y el cuello uterino. El área que se extiende desde los labios vulvares hasta el himen/orificio uretral se considera el vestíbulo. Desde este último punto hasta el cuello uterino se considera la vagina. (McKinnon, Squires, Vaala, & Varner, 2011)

La vulva es una de las zonas más importantes en la yegua ya que esta funciona como el primer mecanismo de defensa. En el exterior encontramos piel con glándulas sebáceas y sudoríparas normales, así mismo un conjunto de nervios y sangre. Sin embargo, el interior se reviste por una membrana mucosa y es continua con la vagina. (Morel, 2003)

En la comisura ventral de la vulva, se encuentran el clítoris y los tres senos que forman parte de su conformación (ventral, medial y lateral). Estos últimos son fundamentales en la yegua, ya que estos sitios son el ambiente perfecto para muchas bacterias de enfermedades venéreas, como *Taylorella equigenitalis* (agente causal de la metritis contagiosa equina), *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*. (Morel, 2003)

La vagina es aquel órgano destinado para la cópula y funciona como un limpiador natural, ya que contiene secreciones que sirven como bactericidas. (Morel, 2003)

El cérvix es la más importante de las tres barreras que mencionamos al inicio de la sección. Su función consiste en dividir la cavidad vaginal del útero impidiendo así la entrada de microorganismos no deseados. Este órgano se encuentra cerrado en todo momento del ciclo estral y solo se abre en dos ocasiones, en la fase de estro del ciclo y a la hora del parto del animal. (McKinnon, Squires, Vaala, & Varner, 2011)

2.2.2 Sistema Inmune

Luego de cualquier manipulación uterina, habrá una respuesta inflamatoria de parte del endometrio. La misma tendrá una duración aproximadamente de unas 6 horas posteriores a la manipulación.

Si esta se excede y hay presencia de una cantidad excesiva de células de defensa, es indicativo de una posible contaminación de microorganismos. (Do Carmo, comunicación personal, 2021)

En caso hipotético que los mecanismos de defensa físicos fallen y llegase a penetrar algún microorganismo, inmediatamente entrará en acción el sistema inmunológico el cual liberará mediadores quimiotácticos que inducirá la rápida migración de los neutrófilos. Junto a esta migración ocurre una trasudación y flujo de inmunoglobulinas, las cuales son producidas localmente por células plasmáticas en el endometrio. (Do Carmo, comunicación personal, 2021)

La Inmunoglobulina A se ha descrito como la más predominante en el tracto reproductivo de la yegua. Normalmente los niveles de IgA en útero son mayores a los niveles séricos, lo cual indica que la IgA sería producida básicamente a nivel local, constituyéndose en un factor

protector importante en la superficie mucosa al prevenir la adherencia de bacterias a la superficie epitelial. Los principales leucocitos implicados en la respuesta inmune del útero son los polimorfonucleares (PMN). El número de estas células inflamatorias en la luz del útero se eleva drásticamente tras la entrada de los microorganismos y se mantiene durante varios días. Estas células constituyen una barrera fundamental en la defensa uterina a la infección siendo su acción principal la fagocitosis. (Martinez, 2019)

2.2.3 Ciclo estral y Drenaje Uterino

Por último, pero no menos importante, el poder de contractibilidad del útero está descrito como uno de los principales contribuyentes al mecanismo de defensa. Estas contracciones uterinas son necesarias para la eliminación del fluido, de los restos inflamatorios, de las bacterias y promover el drenaje linfático. La contractibilidad del endometrio está regulada por las diferentes hormonas que participan durante la reproducción como son la oxitocina, estrógenos, progesterona y PGF2 α y también por interacciones neuronales. (Martinez, 2019)

La actividad reproductiva de la yegua inicia al momento de su pubertad, es decir, de los 24 a 36 meses en la mayoría de los casos, donde sus ciclos reproductivos tienen una duración de aproximadamente 21 días. Cada uno de estos es un patrón de eventos fisiológicos y comportamentales influenciados hormonalmente y el mismo se divide en dos etapas conocidas como, el "estro" y "diestro". (Mina, 2003)

En el estro o período receptivo de la hembra, el sistema reproductor sufre cambios provocados por la liberación de estrógenos: el cérvix se relaja y su estructura se edematiza, la

vagina produce moco con el propósito de lubricar para recibir el macho, entre otros. Estos cambios facilitan la entrada de microorganismos al útero. (Montenegro, J. A. R. 2006)

Durante la ovulación, el útero se encarga de producir oxitocina la cual produce efectos contráctiles en el miometrio. A estos efectos nos referimos cuando hablamos de los efectos de drenajes del útero, ya que con las contracciones se expulsan las sustancias y residuos no deseados. (Zimri Cortés Vidauri, Carlos Aréchiga Flores, Melba Rincón Delgado, Fabiola Rochín Berumen, Carlos Marco López, Gilberto Flores Flores, 2018)

Sin embargo, con el diestro el cervix se encuentra totalmente cerrado y el moco producido a lo largo del estro se encuentra ausente a consecuencia de la producción de progesterona. Esto reduce las posibilidades del ingreso de microorganismos que puedan afectar la fertilidad del útero. (Montenegro, J. A. R. 2006)

2.3 MICROBIOTA Y EL TRACTO REPRODUCTOR

La microbiota o flora microbiana natural se considera al grupo de microorganismos presentes en un ser sano. Estos mantienen una relación simbiótica con el animal, por lo que no provocan enfermedades patológicas sino que incluso ayudan a su prevención. (Bustos, 2014)

En el caso de la yegua, se ha descrito la presencia de microorganismos en el tracto reproductor como: *Corynebacterium sp*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa* negativos, *Enterococcus sp* y *Escherichia coli*. (Bustos, 2014)

2.4 PROCEDIMIENTOS QUE ARRIESGAN LA SALUD UTERINA

La reproducción equina se basa en la realización de varios procesos para llegar a un resultado final, un futuro ejemplar o potrillo. Muchas veces, estos requieren de la introducción de objetos y artefactos a la cavidad uterina, lo que pone en riesgo la salud del útero. Algunos de los procedimientos que se realizan y requieren de la invasión del útero son: las técnicas de reproducción asistida, recursos diagnósticos y algunos tratamientos. (Ángel & Bran, 2010)

2.4.1 Técnicas de Reproducción Asistida

Las técnicas de reproducción asistidas son aquellos procesos o procedimientos tecnológicos de reproducción que necesitan de la intervención del humano para su realización. Entre ellos se encuentran: la inseminación artificial (IA), transferencia de embriones (TE), transferencia de oocitos (TO), inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) y la transferencia intraoviductal de gametos (TIG). De los mencionados anteriormente solo la inseminación artificial y la transferencia de embriones requieren ingresar al útero vía intravaginal, lo que puede facilitar la entradas de microorganismos al útero. (Ángel & Bran, 2010)

2.4.2 Recursos Diagnósticos y Tratamientos

Así mismo, existen recursos diagnósticos y tratamientos utilizados en la reproducción que comprometen la salud del útero como la citología endometrial, la biopsia y la infusión uterina, ya que estos requieren la entrada de objetos o artefactos vía transcervical al útero. Muchos autores recomiendan llevar a cabo la citología en el estro, ya que hay relajación del cérvix y menor

posibilidad de contaminación del útero, no obstante, siempre existen los riesgos. (Vásquez-López, Maffrand, Losinno, & Maldonado, 2000)

La infusión uterina consiste en la introducción de sustancias al útero por ejemplo antibióticos, plasma rico en plaquetas (PRP), dimetilsulfóxido (DMSO), mucolíticos, entre otras drogas y sustancias. (Dascanio & McCue, 2014) (Strzemienski, Do, & Kenny, 1984)

2.5 CONSECUENCIAS DE LOS FALLOS DE LOS MECANISMOS DE DEFENSA DEL ÚTERO

Los microorganismos que afectan el sistema reproductivo del equino son agentes oportunistas y su presencia en el útero desencadena consecuencias que pueden llegar a ser fatales, afectando el ciclo reproductivo normal, así como también comprometiendo incluso la vida del animal. Uno de los factores más importantes que predisponen la entrada de estos agentes al útero es la falta de higiene durante los procedimientos anteriormente mencionados. (Díaz, 2013)

2.5.1 Endometritis

La endometritis es la inflamación de la capa más interna del útero, llamada endometrio. Se conoce como una de las principales causas de subfertilidad en yeguas. Esta inflamación ocurre en defensa hacia cuerpos extraños que entran al útero, sean estos de origen infeccioso o no. Dentro de las originadas por infección, podemos clasificar la Endometritis Fúngica y la Endometritis Bacteriana. Siendo esta última la más común. Los agentes patógenos causantes de la Endometritis tienen la capacidad de producir Biofilms, capas protectoras que los repelen de su

entorno, permitiendo su maduración, proliferación y haciendo más difícil el ataque hacia ellos.
(Diaz, 2013)

Dentro de los agentes causales más comunes de endometritis bacteriana se encuentran *Escherichia coli*, *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus*, *Taylorella equigenitalis* y *Klebsiella pneumoniae*. En cambio, dentro de las especies de fungicas causantes de endometritis se encuentran *Candida albicans*, *Aspergillus spp.*, *Actinomyces fumigatus*, *Cryptococcus spp.*, *Fusarium spp.* y *Mucor spp.* (Diaz, 2013)(Martinez, 2019)

2.5.2 Piometra

Caracterizada por acumulación de excesivas cantidades de fluido anormal en el útero, la acumulación de pus puede relacionarse o no con el cierre del cérvix. Ocurre por una interferencia con el drenaje natural que realiza el útero como método de defensa, el cual puede presentarse debido a adherencias cervicales o anormalidades e irregularidades en el cérvix, causando así una acumulación de fluidos. (Noakes, Parkinson, & England, 2019)

Teniendo en consideración lo agresivas que pueden llegar a ser estas patologías debido a la presencia de los agentes causales, es que se ha recomendado reiteradas veces en la literatura, la antisepsia previa a los procesos reproductivos. De esta forma es reducido el riesgo de una posible contaminación uterina que origine posteriormente una de las patologías ya mencionadas.
(Dascanio & McCue, 2014)

2.6 ASEPSIA Y ANTISEPSIA

La asepsia comprende todos los procedimientos necesarios para higienizar y limpiar objetos inanimados, evitando la contaminación de esta. En cambio, antisepsia se refiere a la disminución o eliminación de microorganismos que se encuentran en una zona específica del animal. (Papematic, 2020).

Antes de llevar a cabo la realización de cualquier procedimiento uterino, la literatura reporta la importancia de hacer una antisepsia previa del periné, ya que es necesario disminuir el número de organismos que ingresan a la cavidad. Como ya se ha mencionado varias veces, la manera de ejecutar este proceso varía. No obstante, algunos pasos son fijos en el desarrollo de la actividad, ejemplo de ello es evacuar las heces del animal, así como vendar o cubrir todos los pelos de la cola del animal. (Dascanio & McCue, 2014)

Para complemento y fundamento de lo citado en el pasado, se recolectaron protocolos de diferentes literatura y médicos veterinarios:

- I. (Dascanio & McCue), (2005) recomiendan:
 - A. Se cubre la cola de la yegua. Existen diferentes materiales: neopreno reutilizable, una envoltura de velcro, una envoltura de gasa, una envoltura elástica flexible (Vetrap™) o una manga obstétrica.
 - B. Se aparta la cola ya cubierta de la zona, exponiendola. Puede amarrarse a la misma yegua o puede haber una auxiliar que la sostenga mientras realizamos el siguiente paso.

- C. Se evacuan las heces del recto del animal.

- D. Para el lavado existen dos maneras: cubos de agua o manguera para lavado. Se implementa la técnica de “mano sucia, mano limpia”, que consiste en utilizar una mano exclusivamente para lavar la zona y con la otra se manejan los materiales o instrumentos como la manguera. Vale destacar el uso de guantes de examen desechables en todo el proceso.

- E. Mediante el uso de un jabón neutro y un algodón o gasa, se lava exhaustivamente el periné. Este paso se repite de tres a cuatro veces. Todo el detergente debe ser retirado con seguridad, resaltan los escritores.

- F. La técnica del lavado consiste en aplicar el detergente en la parte de atrás de la mano y aplicarlo directamente en la vulva, lavando primero los labios y extendiendo el proceso en las zonas cercanas, sin lavar la misma área dos veces.

- G. El último paso se basa en secar el área con un algodón o papel toalla utilizando la misma técnica del lavado (del centro hacia afuera) y sin tocar dos veces. (Pp 56-78)

II. (D.M.V. Hernan López, comunicación personal, 07/22/2021) recomienda:

- A. Recoger y apartar la cola de la yegua.

- B. Evacuar las heces del recto.

- C. Retirar con agua los restos de lubricante y heces restantes del paso anterior.

- D. Utilizando la técnica de “mano limpia, mano sucia”, lavar el periné iniciando desde los labios vulvares hasta afuera con Iodopovidona, nunca tocando la misma área dos veces.
- E. Repetir de 3 a 4 veces o hasta que el área se encuentre totalmente limpia.
- F. Finalizar aplicando alcohol en toda la zona. (Hernán, 2021)

III. (Vásquez-López, Maffrand, Losinno, & Maldonado) (2000) recomiendan:

- A. Vendar la cola con un guante de palpación y situar en una posición elevada.
- B. Enjuagar con agua la zona del periné.
- C. Frotar con jabón o detergente no iónico el área. Abstenerse de usar jabón sólido o materiales como esponjas.
- D. Enjuagar nuevamente, repitiendo el procedimiento 2 veces.
- E. Secar con toallas descartables y rociar la zona con solución de yodopovidona. Repetir el proceso dos veces más.
- F. Una vez finalizado el proceso de antisepsia, secar con toallas de papel limpias la fosa del clítoris y los labios vulvares. (Vol 13. PG 13.)

CAPÍTULO III:
MARCO METODOLÓGICO

3.1 LOCALIZACIÓN DEL ESTUDIO

El estudio será realizado en los siguientes criaderos “Criadero El Camino” ubicado en el km 1 Carretera Villa Mella, La Victoria de la provincia de Santo Domingo Norte y “Hacienda Heinsen” ubicado en el km 25 de Pedro Brand, Los Corozos en la provincia de Santo Domingo. Serán muestreados específicamente criaderos destinados a la reproducción equina ya que son aquellos los que podrían ser beneficiados con los resultados a obtener en esta investigación.

3.2 TIPO DE ESTUDIO Y MÉTODO

Estudio de naturalidad experimental y descriptiva para establecer las diferencias entre la flora bacteriana del área vulvar y vaginal en yeguas reproductoras.

3.3 TAMAÑO DE LA MUESTRA

Debido a la falta de información al respecto y la finalidad del tema en discusión, para el tamaño de muestra se tomó como referencia el trabajo “Comparación Del Microbiota De Vulva Y Tracto Vaginal En Yeguas Destinadas Para Reproducción” por Cindy Johanna Herreño Cárdenas, Jennifer Luengas Martínez y Paula Estefany Fajardo Garay.

Sin embargo, en razón de objetivos modificados y agregados se sumó la variante de etapa del ciclo estral para fomentar la investigación, culminando con veinte (20) yeguas reproductoras destinadas para el análisis de las cuales diez (10) cursan la etapa de estro y diez (10) diestro. Se realizará un cultivo, tanto de la vagina como de la vulva, pre y post lavado en ambos grupos de manera que el primer cultivo o cultivo pre lavado funcione como “Cultivo Control”. (Ver anexo 5.2)

3.3.1 Selección de la muestra

Para el estudio serán seleccionadas yeguas sin distinción racial, sin embargo con ciertas características siendo estas las siguientes:

- Yeguas destinadas a la reproducción.
- Yeguas de 3 a 6 años de edad.
- Yeguas limpias/ sanas (sin patologías uterinas aparentes).
- No preñadas.
- Yeguas en estro y diestro.
- Yeguas con buena conformación vulvar.

3.4 INSTRUMENTOS DE INVESTIGACIÓN

Los materiales a utilizar serán:

- Sonógrafo
- Mangas obstétricas o de palpación
- Metilcelulosa
- Hisopos con medio de transporte Stuart
- Alcohol Isopropilico
- YodoPovidona
- Refrigeración
- Guantes de examinación

- Envoltura plástica

3.5 DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS A UTILIZAR

Una vez seleccionada la población a muestrear, que cumpla con los señalamientos necesarios para este estudio, se utilizarán cuatro exámenes diagnósticos auxiliares. Entre ellos, dos serán realizados en campo (palpación rectal y sonografía) y dos en laboratorio (Cultivo bacteriano y fúngico)

3.5.1 Evaluación

Para la evaluación se utilizará ecógrafo portátil con transductor rectal empleando la técnica descrita por Patrick M. McCue en el libro “Procedimientos Reproductivos Equinos” que permitirá identificar folículos (Primarios, secundarios, terciarios), presencia de edema o anomalías en útero y ovarios con el propósito de seleccionar y clasificar la muestra.

Técnica: Luego de haber evacuado y examinado el animal mediante palpación rectal, se ubica el útero de manera transversal colocando el transductor en un ángulo de 35-40° y se recorre de cuerno a cuerno en busca de anomalías o presencia de edema, este último es normal en yeguas en celo por la producción de estrógenos de la yegua durante el mismo y se identifica con facilidad en la ecografía por su apariencia de “Rueda de bicicleta” o “Naranja”. La presencia de una pequeña cantidad de líquido en el útero es normal durante el estro. (Dascanio & McCue, 2014)

Luego de examinado el útero se examinan los ovarios con el propósito de encontrar folículos ováricos. Estos ayudaran a identificar el estro con mayor facilidad y si la yegua está próxima a la ovulación. En la ecografía se verán como círculos con contenido anecoico ya que estos folículos se encuentran llenos de líquido. Así mismo, después de la ovulación se visualizará el cuerpo hemorrágico como una estructura homogénea y difusamente gris en la ecografía. (Dascanio & McCue, 2014)

3.5.2 Método Antiséptico

Se usará el método “convencional” de antisepsia utilizado antes de cualquier procedimiento a realizar en reproducción equina asistida.

Técnica: Evacuar o extraer las heces presentes en el recto de la yegua. Cubrir y apartar la cola del animal utilizando mangas desechables o envoltura de plástico. Utilizando yodopovidona se lava toda el área perianal implementando una técnica de “mano limpia, mano sucia”, ésta consiste en lavar adecuadamente la vulva iniciando con el interior de los labios, clítoris, exterior de los labios, laterales de la vulva y por último el ano sin tocar la misma área dos veces. Se enjuaga y se repite el proceso 3 a 4 veces o hasta que el área se encuentre totalmente limpia. Para finalizar, se aplica alcohol en toda el área. (Hincapié, 2021)

3.5.3 Toma de muestra mucosa vaginal y vulvar

Técnica: Se expone la mucosa vaginal y utilizando un hisopo, se frota manteniendo el artefacto en contacto con la mucosa no menos de 10-15 segundos. Para la muestra vulvar se utiliza la misma técnica frotando el hisopo contra la mucosa vulvar sin olvidar el clítoris. Finalmente se retira el hisopo, con cuidado de no contaminarlo y se deposita en el medio de transporte que luego será llevado al laboratorio. (Dascanio & McCue, 2014)

Las muestras colectadas serán llevadas al Centro de Diagnóstico Veterinario (CENDIVET) ubicado en Santo Domingo donde serán cultivadas en medios de crecimiento bacteriano positivo, negativo y hongos, permitiendo así la proliferación de cualquier microorganismo que pueda presentarse. Los microorganismos que se presenten en dichos cultivos serán debidamente identificados por género y especie en el caso que amerite.

3.6 PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Antes de llevar a cabo cualquier examen diagnóstico, se completará un formulario en el que se describe toda la información necesaria del animal. (Ver anexo 5.1)

3.7 PROCEDIMIENTOS ESTADÍSTICOS PARA ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para la evaluación e interpretación de los resultados se utilizará la prueba chi-cuadrado, también llamada prueba de ji-cuadrado con el propósito de determinar la variación de las muestras usando el coeficiente de variación de Cramer. (Romero Saldaña, 2011)

CAPÍTULO IV:

RESULTADOS

4.1 RESULTADOS

Luego de recolectadas, las muestras fueron sometidas al Centro de Diagnóstico Veterinario (CENDIVET) para su análisis y descripción. Las tablas 4.1 A y 4.1 B muestran los microorganismos hallados en el laboratorio en vagina y vulva de yeguas en diestro y estro, tanto en el pre-lavado como el post-lavado.

YEGUAS EN DIESTRO			
YEGUA	LOCALIZACIÓN DE LA MUESTRA	PRE / POST LAVADO	MICROORGANISMO AISLADO
LA INDIA	VULVA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa</i> negativos)
	VAGINA	PRE LAVADO	NEGATIVO
	VULVA	POST LAVADO	Escherichia Coli
	VAGINA	POST LAVADO	NEGATIVO
Y #24	VULVA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa</i> negativos)
	VAGINA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa</i> negativos)
	VULVA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa</i> negativos)
	VAGINA	POST LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - <i>S. Pyogenes</i>
Y #10	VULVA	PRE LAVADO	Pseudomona Aeruginosa
	VAGINA	PRE LAVADO	Pseudomona Aeruginosa
	VULVA	POST LAVADO	Pseudomona Aeruginosa
	VAGINA	POST LAVADO	Pseudomona Aeruginosa
Y #13	VULVA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa</i> negativos)
	VAGINA	PRE LAVADO	NEGATIVO
	VULVA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa</i> negativos)
	VAGINA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa</i> negativos)
Y #17	VULVA	PRE LAVADO	NEGATIVO
	VAGINA	PRE LAVADO	NEGATIVO
	VULVA	POST LAVADO	NEGATIVO
	VAGINA	POST LAVADO	NEGATIVO
Y #08	VULVA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa</i> negativos)
	VAGINA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa</i> negativos)
	VULVA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa</i> negativos)
	VAGINA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa</i> negativos)
Y #80	VULVA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa</i> negativos)
	VAGINA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa</i> negativos)
	VULVA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa</i> negativos)
	VAGINA	POST LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - <i>S. Pyogenes</i>

Y #865	VULVA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VAGINA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VULVA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VAGINA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
Y #63	VULVA	PRE LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes
	VAGINA	PRE LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes
	VULVA	POST LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes
	VAGINA	POST LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes
Y #276	VULVA	PRE LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes
	VAGINA	PRE LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes
	VULVA	POST LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes
	VAGINA	POST LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes

Tabla 4.1 A Microorganismos hallados en vulva y vagina, pre y post lavado de las yeguas en diestro.

Ambas tablas contienen un resultado descrito como “Flora Natural”, el laboratorio CENDIVET establece la utilización de este término para referirse a los a agentes más comúnmente descritos en la literatura: *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa negativos*.

YEGUAS EN ESTRO			
YEGUA	LOCALIZACIÓN DE LA MUESTRA	PRE / POST LAVADO	MICROORGANISMO AISLADO
Y #32	VULVA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VAGINA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VULVA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VAGINA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
Y #22	VULVA	PRE LAVADO	NEGATIVO
	VAGINA	PRE LAVADO	NEGATIVO
	VULVA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VAGINA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
Y #77	VULVA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VAGINA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VULVA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VAGINA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
Y #28	VULVA	PRE LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes

	VAGINA	PRE LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes
	VULVA	POST LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes
	VAGINA	POST LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes
Y #60	VULVA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VAGINA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VULVA	POST LAVADO	Escherichia Coli
	VAGINA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
Y #65	VULVA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VAGINA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VULVA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VAGINA	POST LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes
Y #72	VULVA	PRE LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes
	VAGINA	PRE LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes
	VULVA	POST LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes
	VAGINA	POST LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes
Y #04	VULVA	PRE LAVADO	NEGATIVO
	VAGINA	PRE LAVADO	NEGATIVO
	VULVA	POST LAVADO	Escherichia Coli
	VAGINA	POST LAVADO	NEGATIVO
Y #29	VULVA	PRE LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes
	VAGINA	PRE LAVADO	NEGATIVO
	VULVA	POST LAVADO	Streptococcus Beta Hemolítico Grupo A - S. Pyogenes
	VAGINA	POST LAVADO	NEGATIVO
Y #33	VULVA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VAGINA	PRE LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VULVA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)
	VAGINA	POST LAVADO	Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)

Tabla 4.1 B Microorganismos hallados en vulva y vagina, pre y post lavado de las yeguas en estro.

Así mismo, CENDIVET describe los resultados “NEGATIVOS” como aquellos cultivos que no tuvieron ningún crecimiento de microorganismos durante las horas de incubación de la muestra en el laboratorio.

4.2 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Yeguas en Diestro				
Cultivo	Yeguas Positivas	Porcentaje	Yeguas Negativas	Porcentaje
Pre-lavado Vulva	9/10	90%	1/10	10%
Pre-lavado Vagina	7/10	70%	3/10	30%
Post-lavado Vulva	10/10	100%	0/10	0%
Post-lavado Vagina	8/10	80%	2/10	20%

Tabla 4.2.A Comparación microbiota pre-post lavado en yeguas en diestro. (presencia vs. ausencia de patógenos)

Según los datos descritos en la tabla 4.2.A se pudo analizar que de las 10 muestras de VULVA pre-lavado resultaron positivas un 90% mientras que post-lavado resultaron positivas en su totalidad (100%). De las 10 muestras de VAGINA pre-lavado resultaron positivas en un 70%, mientras que post-lavado resultaron positivas en un 80%. Incluidos tanto los microorganismos patógenos como los considerados no patógenos. Se visualiza un incremento de un 10% en ambas áreas de en la presencia de microorganismos luego del lavado.

Yeguas en Estro				
Cultivo	Yeguas Positivas	Porcentaje	Yeguas Negativas	Porcentaje
Pre-lavado Vulva	8/10	80%	2/10	20%
Pre-lavado Vagina	7/10	70%	3/10	30%
Post-lavado Vulva	10/10	100%	0/10	0%
Post-lavado Vagina	8/10	80%	2/10	20%

Tabla 4.2.B Comparación microbiota pre-post lavado en yeguas en estro. (presencia vs. ausencia de patógenos)

La tabla 4.2 B demuestra que de las 10 muestras de VULVA pre-lavado resultaron positivas un 80% mientras que post-lavado resultaron positivas en su totalidad (100%). De las 10 muestras de VAGINA pre-lavado resultaron positivas en un 70%, mientras que post-lavado

resultaron positivas en un 80%. Incluidos tanto los microorganismos patógenos como los considerados no patógenos. Se visualiza un incremento de un 20% en VULVA y un 10% en Vagina de la presencia de microorganismos luego del lavado.

Comparación microbiota pre-post lavado en yeguas en DIESTRO				
Hallazgos	Pre-lavado Vulva	Pre-lavado Vagina	Post-lavado Vulva	Post-lavado Vagina
<i>E. coli</i>	0%	0%	10%	0%
<i>S. β- hemolítico</i>	20%	20%	20%	40%
<i>P. aeruginosa</i>	10%	10%	10%	10%
Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)	60%	40%	50%	30%
Negativo	10%	30%	10%	20%

Tabla 4.2.C Comparación microbiota pre-post lavado en yeguas en diestro.

La tabla 4.2.C describe que durante el Diestro, las muestras de VULVA pre-lavado los microorganismos con mayor prevalencia fueron los descritos como Flora Natural en un 60%, seguido de *Streptococcus β- hemolítico* en un 20%. Post-lavado hubo una disminución de un 10% de presencia de los descritos como Flora Natural, mientras que no hubo alteración en la presencia de *Streptococcus β- hemolítico*. En las muestras de VAGINA, pre-lavado los microorganismos con mayor prevalencia fueron los descritos como Flora Natural en un 40%, seguido de *Streptococcus β- hemolítico* en un 20%. Post-lavado hubo una disminución de un 10% de presencia de Flora Natural, mientras que hubo un aumento de un 20% en la presencia de *Streptococcus β- hemolítico*.

Comparación microbiota pre-post lavado en yeguas en ESTRO				
Hallazgos	Pre-lavado Vulva	Pre-lavado Vagina	Post-lavado Vulva	Post-lavado Vagina
<i>E. coli</i>	0%	0%	20%	0%
<i>S. β- hemolítico</i>	30%	20%	30%	30%
<i>P. aeruginosa</i>	0%	0%	0%	0%
Flora Natural (<i>S. aureus</i> y <i>S. coagulasa negativos</i>)	50%	50%	50%	50%
Negativo	20%	30%	0%	20%

Tabla 4.2.D Comparación microbiota pre-post lavado en yeguas en estro.

Así mismo la tabla 4.2D evidencia que durante el Estro, las muestras de VULVA pre-lavado los microorganismos con mayor prevalencia fueron los descritos como Flora Natural en un 50%, seguido de *Streptococcus β- hemolítico* en un 30%. Post-lavado no hubo alteración en la presencia de la Flora Natural, como tampoco de *Streptococcus β- hemolítico*. En las muestras de VAGINA, pre-lavado los microorganismos con mayor prevalencia fueron los descritos como Flora Natural en un 50%, seguido de *Streptococcus β- hemolítico* en un 20%. Post-lavado no hubo alteración en la presencia de Flora Natural, mientras que hubo una disminución de un 10% en la presencia de *Streptococcus β- hemolítico*.

Fe: Resultados de cultivos positivos de yeguas en ESTRO			
	PRE-lavado	POST-lavado	Total
Vulva	8	10	18
Vagina	7	8	15
Total	15	18	33

Tabla 4.2.E

$$\chi^2 = \sum \left[\frac{(f_o - f_e)^2}{f_e} \right] = 0.0162963$$

$$V = \sqrt{\frac{\chi^2}{n(k-1)}} = 0.02854496$$

Fe: Resultados de cultivos positivos de yeguas en DIESTRO			
	PRE-lavado	POST-lavado	Total
Vulva	9	10	19
Vagina	7	8	15
Total	16	18	34

Tabla 4.2.F

$$\chi^2 = \sum \left[\frac{(f_0 - f_e)^2}{f_e} \right] = 0.00165692$$

$$V = \sqrt{\frac{\chi^2}{n(k-1)}} = 0.00910198$$

Se aplicó de la prueba de Chi Cuadrada y se determinó la independencia de las variables, con un 95% de confianza y posteriormente el Coeficiente de V de Cramer tomando en cuenta que “V” es menor que 0.3 por lo que la correlación no es significativa.

Fe: Resultados positivos PRE y POST-Lavado en Vulva			
	Estro	Diestro	Total
PRE-lavado	8	9	17
POST-lavado	10	10	20
Total	18	19	37

Tabla 4.2.G

$$\chi^2 = \sum \left[\frac{(f_0 - f_e)^2}{f_e} \right] = 0.03181975$$

$$V = \sqrt{\frac{\chi^2}{n(k-1)}} = 0.03988718$$

Se aplicó de la prueba de Chi Cuadrada y se determinó la independencia de las variables, con un 95% de confianza y posteriormente el Coeficiente de V de Cramer tomando en cuenta que “V” es menor que 0.3 por lo que la correlación no es significativa.

Fe:Resultados positivos PRE y POST-Lavado en Vagina			
	Estro	Diestro	Total
PRE-lavado	7	7	14
POST-lavado	8	8	16
Total	15	15	30

Tabla 4.2.H

$$\chi^2 = \sum \left[\frac{(f_o - f_e)^2}{f_e} \right] = 0$$

$$V = \sqrt{\frac{\chi^2}{n(k-1)}} = 0$$

Se aplicó de la prueba de Chi Cuadrada y se determinó la independencia de las variables, con un 95% de confianza y posteriormente el Coeficiente de V de Cramer tomando en cuenta que “V” es menor que 0.3 por lo que la correlación no es significativa.

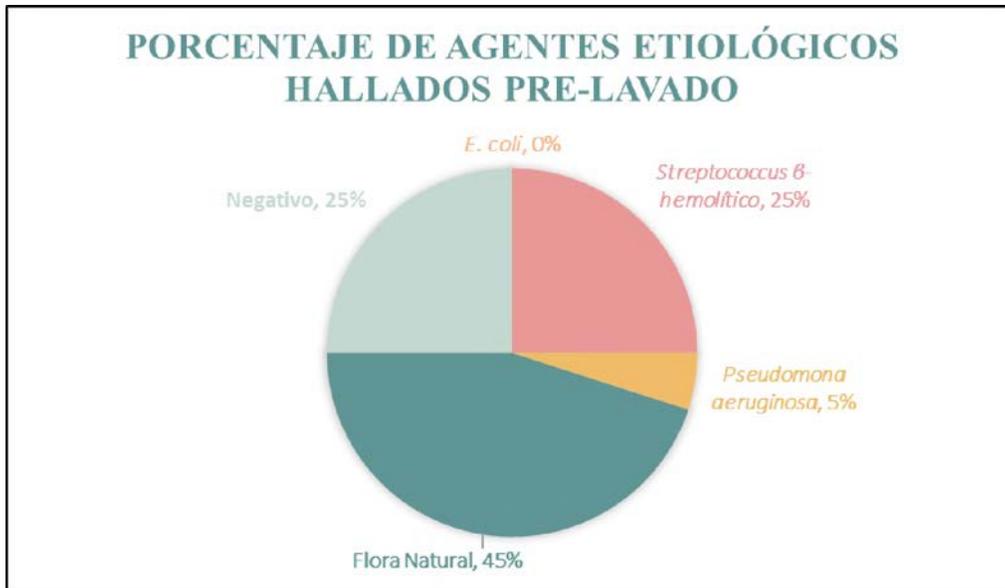


Gráfico 4.2.E Microbiota vulvar y vaginal en yeguas en estro y diestro prelavado (frecuencia de patógenos)

En el gráfico 4.2 E se pudo analizar que la mayor prevalencia de agentes etiológicos hallados en el pre-lavado de las yeguas en estro y diestro tanto en vagina como vulva fue de microorganismos no patógenos en un 45%, descritos por el Laboratorio como "Flora Natural" (*Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa negativos*), seguido de la presencia de *Streptococcus B-hemolítico* en un 25% y *Pseudomona aeruginosa* en un 5%. Mientras que el 25% restante resultó negativo.

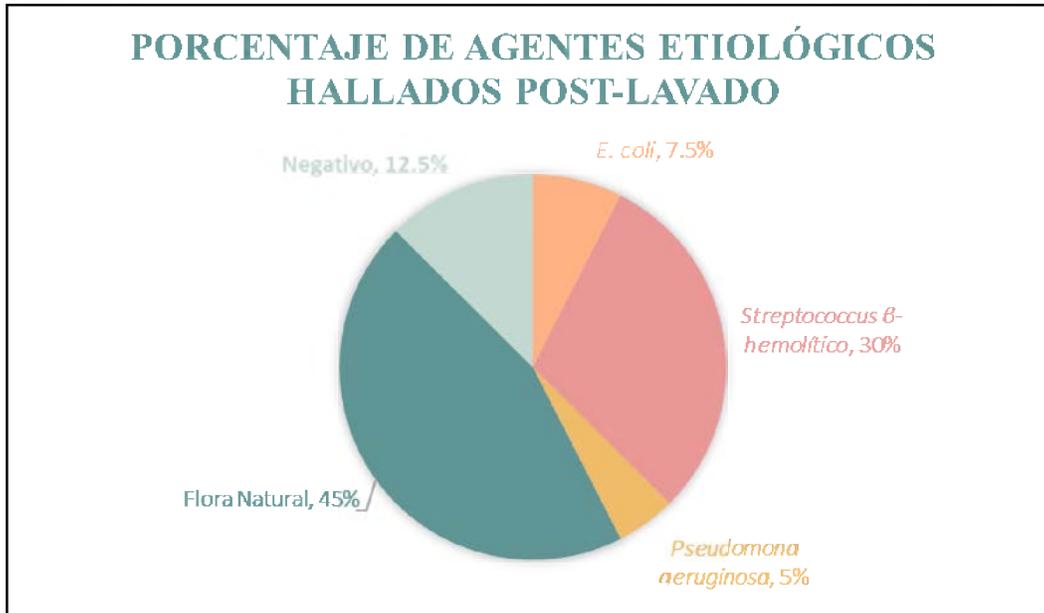


Gráfico 4.2.F. *Microbiota vulvar y vaginal en yeguas en estro y diestro post lavado (frecuencia de patógenos)*

En el presente gráfico se pudo analizar que la mayor prevalencia de agentes etiológicos hallados en el post-lavado de las yeguas fue de microorganismos no patógenos en un 45%, descritos por el Laboratorio como "Flora Natural" (*Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa negativos*), seguido de la presencia de *Streptococcus B-hemolítico* en un 30%, *Escherichia Coli* en un 7.5% y *Pseudomona aeruginosa* en un 5%. Mientras que el 12.5% restante resultó negativo.

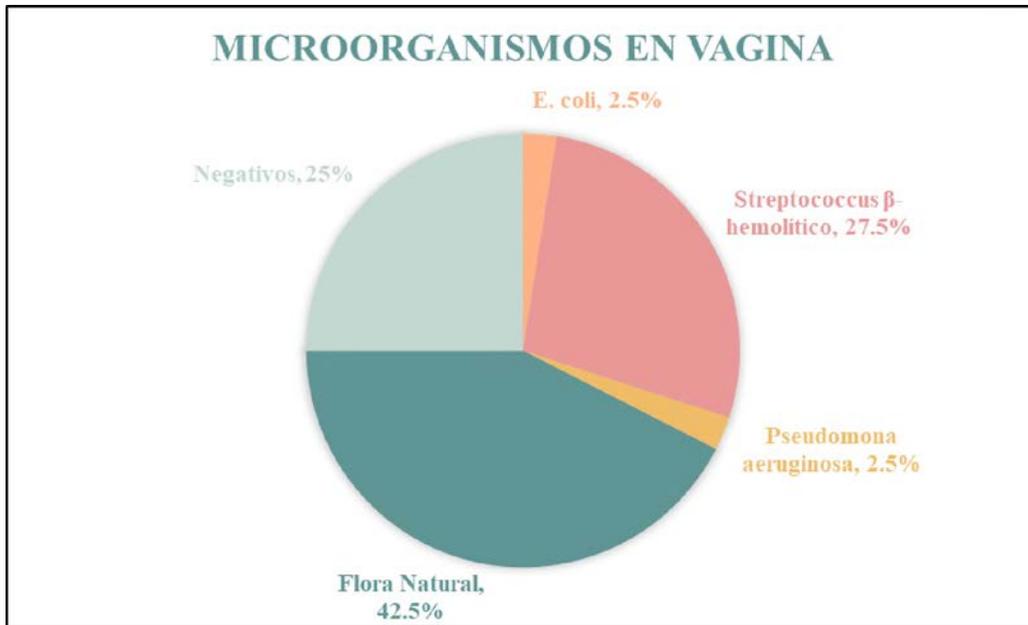


Gráfico 4.2.G. *Microorganismos identificados en Vagina*

Según las estadísticas analizadas en el gráfico 4.2.G se determinó que la mayor presencia de microorganismos en el área vaginal de las yeguas fue de microorganismos no patógenos, descritos por el laboratorio como "Flora Natural" (*Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa negativos*), en un 42.5%. Seguidos por microorganismos potencialmente patógenos siendo *Streptococcus B-hemolítico* el más presente en un 27.5%, *Pseudomona aeruginosa* en un 2.5% y *Escherichia coli* en un 2.5%.

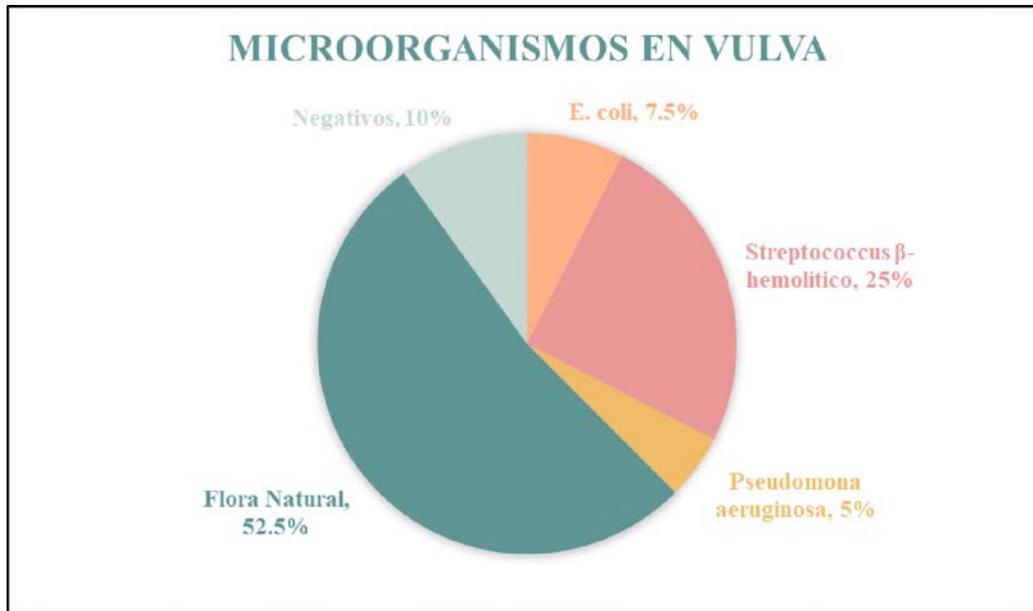


Gráfico 4.2.H Organismos identificados en Vulva

Según las estadísticas analizadas se determinó que la mayor presencia de microorganismos en el área vulvar de las yeguas fue de microorganismos no patógenos descritos por el laboratorio como "Flora Natural" (*Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa negativos*) en un 52.5%. Seguidos por microorganismos potencialmente patógenos siendo *Streptococcus B-hemolítico* el más presente en un 25.5%, *Pseudomona aeruginosa* en un 5% y *Escherichia coli* en un 7.5%.

4.3 DISCUSIÓN

En el 2004, en Argentina, Carla Paola Bustos y Maria Fernanda Sanchez concluyeron que en Yeguas de conformación vulvar aparentemente normal se encuentran bacterias como *Staphylococcus coagulasa negativo*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus sp*, *Escherichia coli* y *Corynebacterium sp*. Lo cual presenta concordancia con los resultados obtenidos en el presente estudio ya que las yeguas dónde hubo prevalencia de *Escherichia coli* presentaron una confirmación vulvar normal.

. Linda Mittel de la Universidad de Cornell en el 2009, atribuyó a la falta de higiene del área perineal como uno de las causas principales de la Endometritis Contagiosa Equina, potencializando así la importancia de una correcta antisepsia. Sin embargo el presente estudio difiere de su opinión ya que aún posteriormente a una correcta antisepsia, el porcentaje de prevalencia de microorganismos post-lavado en las yeguas, fue de microorganismos no patógenos en un 45% (*Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa negativo*), seguido de un aumento de *Streptococcus B-hemolítico* a un 30%, *Escherichia Coli* a un 7.5% y *Pseudomona aeruginosa* a un 5%.

En el 2021, Cindy Johanna Herreño Cárdenas et al. en su estudio sobre "Comparación de microbiota de vulva y tracto vaginal en yeguas destinadas para reproducción", concluyeron que se presentan los mismos microorganismos en tracto vaginal como en vulva, siendo *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus* los más prevalentes. Los resultados difieren y concuerdan a la vez ya que los obtenidos en el presente estudio los agentes con mayor prevalencia fueron *Staphylococcus aureus* al igual que la presencia de *Staphylococcus coagulasa negativos*

4.4 CONCLUSIÓN

En relación al primer objetivo específico formulado al inicio de la investigación, los resultados permiten evidenciar el hallazgo de microorganismos de la flora natural como *Staphylococcus coagulasa negativo*, *Staphylococcus aureus* y microorganismos potencialmente patógenos *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* y *Streptococcus β - hemolítico* en el tracto reproductor de yeguas aparentemente sanas en ambas etapas del ciclo estral. (Ver tablas 4.1 A y 4.1 B)

Respecto al segundo objetivo específico, el estudio permite concluir que la microbiota natural del área vulvar y vaginal en yeguas (tanto pre como post lavado), como se ve reflejado en las tablas 4.2.E y 4.2.F, no se presenta una diferencia significativa al aplicar las fórmulas estadísticas de chi-cuadrado y V de Cramer entre los animales muestreados en estro y los muestreados en diestro. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis 0 y se fundamenta la hipótesis 1.

Referente al tercer objetivo específico, se pudo comprobar que sí existe similitud en los microorganismos identificados en la vulva y en la vagina tanto en diestro como estro. (Gráficos 4.2 G y 4.2 H).

Finalmente, luego de la realización del presente estudio y análisis de los resultados obtenidos, se concluye que no presenta gran relevancia la utilización de técnicas de lavado antiséptico extensos previo a los manejos reproductivos, ya que la realización de los mismos no contribuyó a la disminución de la presencia de microorganismos tanto no patógenos como patógenos en área vulvar y vaginal de yeguas en etapas de Diestro y Estro.

4.5 RECOMENDACIONES

Se recomienda la realización de este tipo de estudios en nuestro país para continuar determinando y conociendo que otros microorganismos habitan el área vulvar y vaginal que pudiesen llegar a presentar una amenaza hacia la óptima salud reproductiva de las yeguas afectando los resultados del trabajo como Médicos Veterinarios de la reproducción equina.

Así mismo, se sugiere llevar a cabo este estudio utilizando la colaboración de otros laboratorios para corroborar y comparar resultados ya que, todos los laboratorios emplean diferentes técnicas de análisis que pudiesen ser una variante o no para la determinación de los microorganismos observados en los cultivos de las muestras obtenidas.

CAPÍTULO V:

REFERENCIAS

5.1 REFERENCIAS

1. Mina. Equine reproductive physiology, breeding and stud management. Wallingford: Cabi Publishing; 2003.
2. Zimri, Carlos A-F, Melba R-D, Marco L-C, Gilberto F-F. ABANICO VETERINARIO ISSN 2448-6132 abanicoacademico.mx/revistasabanico/index.php/abanico-veterinario
Revisión: El Ciclo Reproductivo de la Yegua Mare Reproductive Cycle: A Review Rochín-Berumen Fabiola. Abanico Veterinario [Internet]. 2018;Vol 8(No. 3). Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/abanico/av-2018/av183a.pdf>
3. Martinez SC. Endometritis en la yegua: Diagnóstico y Tratamiento [Internet] [Revisión Bibliográfica]. [Universidad de Santiago de Compostela]; 2019 [citado 2021 Nov 10]. Disponible en: <https://minerva.usc.es/xmlui/handle/10347/20539>
4. Do Carmo DrMT. Endometritis Fungicas. Seminario Internacional de Transferencia Embrionaria; 2021 Nov 8.
5. Diaz ML. Estudio microbiológico de infertilidad en Yeguas [Internet] [PDF]. [Universidad de las palmas de Gran Canaria]; 2013 [citado 2021 Nov 17]. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=80660>
6. Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW. Veterinary reproduction and obstetrics. Edinburgh, Scotland: Elsevier; 2019.
7. Dascanio JJ, Mccue PM. Equine Reproductive Procedures Dascanio/Equine Reproductive Procedures. Hoboken, Nj, Usa John Wiley & Sons, Inc; 2014. Ángel, Daniel, Bran, José A, Reproducción asistida en equinos: aportes desde la teoría. Revista

- CES Medicina Veterinaria y Zootecnia [Internet]. 2010;5(1):56-69. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=321428103005>
8. Fraga M, Perelmuter K, Zunuino LD&. Equine Native Microbiota as a Source of Beneficial Microbes. En: Leffhalm JE, editor. Biology, Domestication, and Human Interactions [Internet]. Montevideo, Uruguay: Nova Science Publishers, In; 2011. p. 111–9. Disponible en: https://www.academia.edu/14979339/Equine_native_microbiota_as_a_source_of_beneficial_microbes
 9. Hincapié JH. Protocolo Antisepsia. Tenjo, Cundinamarca, Colombia. 2021.
 10. McKinnon AO, Squires EL, Vaala WE, Varner DD. Equine Reproduction (Second edition). Hoboken, NJ, Estados Unidos de América: Wiley-Blackwell; 2011.
 11. Morel MCGD. Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management (2nd Edition). New York, USA: CABI; 2013.
 12. ¿Cuál es la diferencia entre asepsia y antisepsia? [Internet]. Papelmatic. 2020. Disponible en: <https://papelmatic.com/cual-es-la-diferencia-entre-asepsia-y-antisepsia/>
 13. Strzemienski PJ, Do D, Kenney RM. Antibacterial Activity of Mare Uterine Fluid. En: Biology of Reproduction [Internet]. SSR; 01 Septiembre 1984. p. 303–11. Disponible en: <https://academic.oup.com/biolreprod/article/31/2/303/2766521?login=false>
 14. Vásquez-López M, Maffrand C, Losinno L, Maldonado JG. Manual de citología endometrial en yeguas [Internet]. 2000. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Juan-Maldonado-Estrada/publication/316681870_Manual_de_citologia_endometrial_en_yeguas/links/5ba46b4b45851574f7dacd25/Manual-de-citologia-endometrial-en-yeguas.pdf

15. Montenegro JAR. Determinación Del Fotoperíodo Sobre La Actividad Ovárica En Yeguas Durante El Año En Diferentes Haras, En Los Departamentos De Guatemala, Sacatepequez Y Escuintla. [Guatemala]: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2006.
16. Zimri Cortés Vidauri, Carlos Aréchiga Flores, Melba Rincón Delgado, Fabiola Rochín Berumen, Carlos Marco López, Gilberto Flores Flores., editor. El Ciclo Reproductivo de la Yegua. Vol. 8. Abanico Veterinario; Septiembre-Diciembre 2018.
17. Carla Paola Bustos MFS. ESTUDIO BACTERIOLÓGICO DE HISOPADOS VAGINALES DE YEGUAS [Internet]. 2014 oct. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/281642308_ESTUDIO_BACTERIOLOGICO_DE_HISOPADOS_VAGINALES_DE_YEGUAS
18. Romero Saldaña M, editor. La prueba chi-cuadrado o ji-cuadrado (X²) [Internet]. Vol. 1. JM Corbelle Álvarez; 2011. Disponible en: <https://enfermeriadeltrabajo.com/wp-content/uploads/2020/11/Revista-ET-Vol.1-Nu%CC%81m.-1.pdf>

CAPÍTULO VI:

ANEXOS

6. ANEXOS

6.1 FORMULARIO PARA RECOLECCIÓN DE DATOS

FORMULARIO PARA RECOLECCIÓN DE DATOS
DATOS DEL PROPIETARIO

Nombre: _____ Apellido: _____
Criadero: _____
Dirección: _____

DATOS DE LA YEGUA

Nombre: _____
Raza: _____ Edad: _____ Sexo: _____
Propósito: _____
Color: _____ Peso: _____
GRUPO: _____ SUBDIVISIÓN: _____

HISTORIAL DE VACUNACIÓN Y VERMIFUGACIÓN

Vacuna	Vermífugo	Fecha

EXAMEN CLÍNICO

Aspecto general: _____
Condición corporal: _____

Dieta:

¿Cuál?:

RECURSOS DIAGNÓSTICOS

(Sonografía)

Hallazgos a la palpación rectal:

Hallazgos en la sonografía:

Etapas estral de la yegua:

HISTORIAL REPRODUCTIVO

1. ¿Sufre o sufrió de alguna patología reproductiva? SI _____ NO _____

2. Índice de fertilidad: Bajo _____ Alto _____ Medio _____

3. Anormalidades en la conformación externa: SI _____ NO _____

¿Cuál?:

