



Estrategias de manejo para mitigar los efectos adversos en el postparto temprano en vacas lecheras al pastoreo del trópico alto ecuatoriano

Juan P. Garzón^{1,2}  , Hendry Patiño²  , Pablo Marini^{3,4}  ,
Diego A. Galarza⁵  , Fernando P. Perea⁵  

Estación Experimental del Austro, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. INIAP-EEA.
Cuenca, Azuay, Ecuador

Management strategies to mitigate adverse effects in early postpartum in grazing dairy cows in the Ecuadorian high tropics

Abstract. In dairy cows, a very important aspect in the postpartum period is uterine health, frequently altered by the presence of subclinical endometritis (SCD) and elevated somatic cell count (SCR), indicative of subclinical mastitis. The presence of both alterations causes a serious reproductive, productive and economic problem in dairy herds. The transition period (TP) in dairy cows influences health by interacting with the endocrine, metabolic and immune systems. Mostly, health problems during the PT are related to the difficulty of dairy cows to adapt to the nutrient requirements for lactation. The main challenges in livestock production systems is to reduce the excessive and inappropriate use of antibiotics, with the purpose of reducing bacterial resistance and improving food safety. The objective is to document three management strategies to mitigate the adverse effects of early postpartum on uterine and mammary gland health in grazing dairy cows in the Ecuadorian high tropics. The results obtained indicate that the management strategies implemented contributed to mitigate the adverse effects of PT, reflected in the reestablishment of uterine health by proving a lower percentage of uterine leukocytes, lower proportion of cows with ESC, reduction of the calving-conception interval, better conception rates at first service and lower RCS. In conclusion, the management strategies contributed to mitigate the adverse effects caused by PT in dairy cows raised on pasture and may be routinely applied in dairy cattle farms in Ecuador and other countries.

Keywords: Transition period, nutraceutical, health, zeolite, ozone

Resumen. En las vacas lecheras un aspecto muy importante en el postparto es la salud uterina, frecuentemente alterada por la presencia de endometritis subclínica (ESC), y recuento de células somáticas (RCS) elevado, indicativo de mastitis subclínica. La presencia de ambas alteraciones acarrea un grave problema reproductivo, productivo y económico en los rodeos lecheros. El periodo de transición (PT) en las vacas lecheras influye sobre la salud, al interactuar con los sistemas endocrino, metabólico e inmunológico. En gran medida, los problemas de salud durante el PT se relacionan con la dificultad de las vacas lecheras para adaptarse a las necesidades de nutrientes para la lactancia. Los principales desafíos en los sistemas productivos pecuarios es reducir el excesivo e inadecuado uso de antibióticos, con el propósito de disminuir la resistencia bacteriana y mejorar la seguridad alimentaria. El objetivo es documentar tres estrategias de manejo para mitigar los efectos adversos del postparto temprano en la salud uterina y glándula mamaria de vacas lecheras al pastoreo del trópico alto ecuatoriano. Los resultados obtenidos indican que las estrategias de manejo implementadas contribuyeron a mitigar los efectos adversos del PT, reflejado en el restablecimiento de la salud uterina al comprobarse un menor porcentaje de leucocitos uterinos, menor proporción de vacas con ESC, reducción del intervalo parto

¹ Autor para la correspondencia: juan.garzon@iniap.gob.ec

²Industrias de Minerales La Colina, Inducolina. Cía. Ltda. Ecuador.

³Centro Latinoamericano de Estudios de Problemáticas Lecheras. Casilda, Provincia de Santa Fe Rosario, Argentina.

⁴Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario. Casilda (2170), Santa Fe. Rosario, Argentina.

⁵Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador.

concepción, mejores tasas de concepción al primer servicio y menor RCS. En conclusión, las estrategias de manejo contribuyeron a mitigar los efectos adversos originados por el PT en vacas lecheras criadas al pastoreo y pueden ser aplicadas rutinariamente en las fincas bovinas lecheras del Ecuador y otros países.

Palabras clave: Periodo de transición, nutraceútico, Salud, zeolita, ozono

Estratégias de manejo para mitigar os efeitos adversos no período pós-parto precoce em vacas leiteiras em pastejo nos altos trópicos equatorianos.

Resumo. Em vacas leiteiras, um aspecto muito importante no pós-parto é a saúde uterina, frequentemente alterada pela presença de endometrite subclínica (SEC) e contagem elevada de células somáticas (CCS), indicativas de mastite subclínica. A presença de ambas as alterações causa um sério problema reprodutivo, produtivo e econômico nos rebanhos leiteiros. O período de transição (TP) em vacas leiteiras influencia a saúde ao interagir com os sistemas endócrino, metabólico e imunológico. Em grande parte, os problemas de saúde durante o TP estão relacionados à dificuldade das vacas leiteiras em se adaptarem às necessidades de nutrientes para a lactação. O principal desafio nos sistemas de produção pecuária é reduzir o uso excessivo e inadequado de antibióticos, com o objetivo de reduzir a resistência bacteriana e melhorar a segurança alimentar. O objetivo é documentar três estratégias de manejo para mitigar os efeitos adversos do pós-parto precoce na saúde uterina e da glândula mamária de vacas leiteiras em pastoreio nos altos trópicos equatorianos. Os resultados obtidos indicam que as estratégias de gestão implementadas contribuíram para atenuar os efeitos adversos da PT, refletidos no restabelecimento da saúde uterina ao confirmarem uma menor porcentagem de leucócitos uterinos, uma menor proporção de vacas com ESC, uma redução no número de partos e partos. intervalo de concepção, melhores taxas de concepção no primeiro atendimento e menor RCS. Concluindo, as estratégias de manejo contribuíram para mitigar os efeitos adversos causados pela PT em vacas leiteiras criadas a pasto e podem ser aplicadas rotineiramente em fazendas de gado leiteiro no Equador e em outros países.

Palavras-chave: Período de transição, nutracêutico, Saúde, zeólita, ozônio

Introducción

Tradicionalmente, en las vacas lecheras, el período de transición (PT) se define como el período de 3 semanas antes y después del parto (Grummer, 1995). Sin embargo, en la actualidad existen consensos, en los que se argumentan que el PT comienza desde el momento del secado (~60-50 días antes del parto) y se extiende más allá del primer mes después del parto (Caixeta & Omontese, 2021).

El PT da inicio a una serie de desafíos y adaptaciones metabólicas, endocrinas, nutricionales, fisiológicas e inmunológicas, que desencadenan un balance energético negativo, disfunción hepática, respuesta inflamatoria sistémica, y consecuentemente un estado general de estrés metabólico y oxidativo (Pascottini et al., 2022).

A pesar de los ajustes homeostáticos y homeorréticos para enfrentar los desafíos de adaptación originadas por las etapas finales de la gestación e inicio de la lactancia, es bien conocido que durante el PT, y hasta 90 días posteriores al parto, entre el 50 al 70% de las vacas lecheras puedan desarrollar un complejo de enfermedades y usualmente experimentan al menos una enfermedad (Ribeiro et al., 2016; 2013) descritas como: *i*) enfermedades de la producción/metabólicas (hipocalcemia, hipomagnesemia, cetosis, acidosis,

laminitis, desplazamiento del abomaso, hígado graso y retención de placenta); y, *ii*) enfermedades infecciosas (clínicas o subclínicas): metritis, endometritis, mastitis, y neumonías (Santos & Ribeiro, 2014).

Estos problemas de salud no sólo ocasionan reducción en la producción de leche y aumentos en los costos de producción debido a los altos costos de tratamiento, también aumentan la posibilidad de sacrificio, mortalidad y descarte (Pinedo et al., 2010).

Adicionalmente, generan un impacto negativo en la eficiencia reproductiva, ya sea directamente sobre el sistema reproductivo o indirectamente sobre el estado general de la salud de los animales. En ambos casos, generan “efectos de arrastre” hasta por 4 meses, afectando principalmente el entorno uterino, el desarrollo de ovocitos, el desarrollo embrionario y fetal temprano que conllevan a pérdidas de la gestación, aumento de servicios y descartes, con pérdidas económicas sustanciales en todos los sistemas lecheros (Carvalho et al., 2019).

En el PT, las vacas lecheras tienen un alto riesgo de sufrir enfermedades clínicas o subclínicas del tracto reproductivo. El 50% de las vacas lecheras se ven afectadas por metritis, secreción vaginal purulenta (SVP),

endometritis clínicas y subclínicas (LeBlanc et al., 2011; Pascottini et al., 2022).

La serranía ecuatoriana (trópico alto) es la región con mayor producción lechera a nivel nacional, genera 4.3 millones de litros de leche/día, equivalente al 79.4% de la producción nacional. La lechería del trópico alto, de manera general se ubica en los valles interandinos, entre 2600 hasta 3500 metros sobre el nivel del mar, con temperaturas entre los 11 y 16 grados centígrados. Estas condiciones causan muchos cambios y desafíos que dificultan maximizar su productividad y rentabilidad de los sistemas de producción de leche.

El crecimiento del rodeo lechero ecuatoriano ha sido prácticamente nulo, teniendo un decrecimiento del 6% en los últimos 20 años, esto debido a pérdidas reproductivas

que no han logrado ser cuantificables, y conlleva a una eficiencia reproductiva subóptima. Dentro de las posibles causas se encuentra: las altas tasas de mortalidad de terneras, elevadas tasas de descarte y mortalidad en vacas lecheras, una alta edad al primer parto (± 29.9 meses). Además, en el Ecuador, a través de una revisión sistemática y metaanálisis, se determinó un alto recuento de células somáticas (media: 695.736,1 RCS/mL) ligadas a la salud de la ubre y fallas en técnicas de ordeño (Puga-Torres et al., 2022).

En tal sentido, es necesario implementar estudios a corto y mediano plazo que permitan generar alternativas tecnológicas de bajo costo que permitan disminuir los efectos adversos del PT, y contribuyan a mejorar la eficiencia reproductiva y productiva en los sistemas lecheros del Ecuador.

Período de transición y actividad reproductiva

A nivel global, se han realizado considerables esfuerzos de investigación para comprender, monitorear y reducir los efectos de una “mala transición” (Pascottini et al., 2022).

De esta manera, se han conformado dos grandes grupos de estudio: i) por un lado, varias investigaciones han generado estrategias de monitoreo y niveles de alerta en el rebaño, para determinar la incidencia y enfrentar de las enfermedades frecuentes en el PT, lo que permite tomar decisiones en el manejo general del rebaño (Daros et al., 2022; LeBlanc et al., 2006; Ribeiro et al., 2013). En cambio, (ii) otras investigaciones se han enfocado en generar estrategias de manejo a nivel nutricional, cruzamiento/genético, confort/bienestar con el propósito de reducir los efectos perjudiciales de una “transición fallida” en las vacas lecheras (Lopreiato et al., 2019; 2020; Celi & Gabai, 2015; Britt et al., 2018;). Ambos equipos de estudio han contribuido a mejorar la salud del rebaño, la rentabilidad de los rodeos lecheros (Caixeta & Omontese, 2021; Masía et al., 2022)

Los trastornos uterinos posparto son las afecciones más estudiadas en las vacas lecheras en los últimos 20 años (Sheldon et al., 2020). Los datos actuales apoyan la hipótesis de que la endometritis subclínica (ESC) es resultado de una “mala adaptación” al balance energético negativo y desregulación de la inflamación que caracteriza el PT (Pascottini et al., 2023). La ESC es la inflamación superficial del endometrio y su indicador es el aumento relativo de leucocitos polimorfonucleares (%PMN) en el lumen uterino en relación con las células epiteliales endometriales (Tabla 1).

Tabla 1. Valores de los puntos de corte para determinar endometritis subclínica por citología (Cytobrush) de acuerdo al sistema de producción. (Adaptado de Rutter, 2015)

Días posparto	Puntos de corte* (% PMN)	
	SL. pastoreo ¹	SL. confinamiento ²
20 – 33	≥ 8	≥ 18
34 – 47	≥ 6	≥ 10
40 – 60	≥ 4	≥ 5

*≥: positivo a ESC; SL: sistemas lecheros. ¹(Quintela et al., 2016; De La Sota et al., 2014; Madoz et al., 2014, 2013). ²(Quintela et al., 2016; Kasimanickam et al., 2004; Sheldon et al., 2006).

La mastitis (clínica -MC y subclínica -MSC) es una enfermedad multietiológica asociada al sistema de producción lechero, al PT y al ambiente de manejo. La prevención eficaz abarca un enfoque multifacético, que integra procedimientos de ordeño adecuados, gestión ambiental y estrategias de salud en el rebaño lechero (Sharun et al., 2021). Los indicadores del desarrollo de inflamación son el aumento del recuento de células somáticas (RSC) y otros indicadores de MSC que incluyen un aumento en la abundancia de poblaciones bacterianas en la leche, reducción de la producción y cambios en la composición y calidad de la leche (Stanek, 2024). Un umbral en el RSC en la leche cruda de ≤ 200.000 células/ml determinan una adecuada salud de la glándula mamaria (Sharun et al., 2021; Stocco et al., 2020).

La inmunidad innata provista por neutrófilos polimorfo mononucleares (PMN) es el mecanismo predominante de defensa inmune temprana tanto en la ubre como en útero (LeBlanc, 2011). Un aspecto muy importante para considerar una adecuada salud uterina es la ausencia de ESC en las vacas posparto (Sheldon *et al.*, 2020), ver Tabla 1. Por otro lado, valores en el RCS sobre el umbral descrito anteriormente son indicativos de mastitis subclínica (Alhussien & Dang, 2018), ambos indicadores acarrear un grave problema reproductivo, productivo y económico en los rodeos lecheros.

El objetivo de muchas investigaciones, durante la segunda mitad del siglo XX y en la actualidad, se ha centrado en estudiar la influencia del PT, sobre la salud y la función inmunológica, la interacción entre los sistemas endocrino e inmunológico y, más recientemente, la nutrición vinculada a la función inmunológica. En gran medida, los problemas de salud durante el PT se relacionan con la dificultad de las vacas para adaptarse a las necesidades de nutrientes para la lactancia (Celi & Gabai, 2015; Daros *et al.*, 2022).

Las medidas profilácticas y terapéuticas de la MC y MSC representan aproximadamente el 60-70% de todos los antimicrobianos utilizados en las granjas lecheras (Stevens *et al.*, 2016). Las pérdidas económicas por MSC se relacionan principalmente con la reducción a largo plazo de la producción y calidad de la leche, mientras que un aumento incontrolado y crónico del RCS en una vaca lechera determina el descarte, sin importar su estado reproductivo y la calidad genética (Gonçalves *et al.*, 2018). En la actualidad y en los próximos años, un desafío importante será disminuir el uso excesivo e indebido de antibióticos, tanto a nivel terapéutico, profiláctico y metafiláctico en los animales productores de alimento, con el propósito de evitar la resistencia a los antimicrobianos (RAM) en animales de interés productivo y en los humanos (Caneschi *et al.*, 2023).

El uso de nutracéuticos en vacas lecheras ha recibido una atención creciente para mejorar la salud, el bienestar y la productividad tanto a nivel de rebaño como individual. Estos aditivos están cumpliendo un papel en la reducción de antibióticos debido a su potencial para fortalecer el sistema inmunológico; además, han revelado apoyar la actividad metabólica de los órganos principales (como el hígado, útero, glándula mamaria y el intestino) antes y después del parto, especialmente cuando la respuesta inflamatoria activa varios componentes del sistema inmunológico y genera alteraciones en el metabolismo (Lopreiato *et al.*, 2020).

Estos estudios han impulsado el valor y uso de los nutracéuticos, los cuales exhiben mecanismos polifarmacológicos complejos de múltiples objetivos, como la activación de la actividad antioxidante y de las vías antiinflamatorias, junto con otros efectos beneficiosos sobre las células a través de la integridad, la supervivencia, la proliferación y la diferenciación (Dormán *et al.*, 2016).

Las zeolitas naturales, están clasificadas dentro del grupo esencial de los nutracéuticos (Pavelić *et al.*, 2018). La zeolita más ampliamente estudiada y apta para el uso en medicina veterinaria y humana es la clinoptilolita (CLP). La CLP pertenece a la categoría de los aluminosilicatos sódicos, y tiene una amplia gama de propiedades: antioxidante, inmunomodulador, potente intercambiador catiónico, regulador del ecosistema ruminal, adsorbente de micotoxinas, puede utilizarse para restaurar la homeostasis y el equilibrio energético, elimina la producción excesiva de amoníaco y otros productos gaseosos, incluyendo CO₂ y H₂S, que se deben a la digestión desequilibrada o/a diversas patogénesis (Katsoulos *et al.*, 2016; Maity *et al.*, 2021; Simona, M & Camelia, 2019).

El ozono (O₃), tiene efectos en la inhibición o inactivación de microorganismos infecciosos como bacterias, hongos, esporas y virus (Djuricic *et al.*, 2012); y es ampliamente utilizado en medicina veterinaria y buiatría para el control de enfermedades del tracto reproductivo y mastitis (Duričić *et al.*, 2015).

La terapia intrauterina con ozono (TIUO₃) ha demostrado tener propiedades como estimulante inmunológico (Polat *et al.*, 2015), modulador inmunológico y antiinflamatorio (Zobel *et al.*, 2014). Ha ganado popularidad en todo el mundo debido a que los tratamientos médicos veterinarios actuales son más costosos, los resultados son muy prometedores en el tratamiento de trastornos puerperales en vacas, yeguas, cabras y ovejas, siendo una alternativa de terapia alopática que disminuye el uso de antibióticos y la resistencia antimicrobiana (Duričić *et al.*, 2014; Zobel & Tkalčić, 2013). Un reciente estudio de revisión (Tabla 2), describe el uso de O₃ en vacas y yeguas, e indica que esta terapia resulta ser eficaz para resolver diferentes infecciones reproductivas (de Souza *et al.*, 2021).

Tabla 2. Protocolos de ozonoterapia para controlar enfermedades reproductivas en bovinos, equinos y ovinos (de Souza et al., 2021).

Specie	Disease	Form of application	Formulation	Concentration	Volume	Treatment frequency	Reference
Bovine	Uterine infection	Intrauterine	Foam spray	Not informed	Not informed	Single dose	Durrani et al., 2017
		Intrauterine	Gas	55 µg/ml	60 ml	2 days straight	Mali et al., 2020
	Endometritis	Intrauterine	Ozonized water	50 µg/ml	50 ml	Single doses	Escandón et al., 2020
		Intrauterine	Foam spray	Not informed	Not informed	1 per week for 1 month	Constantin and Birtoiu, 2016
	Metritis	Intrauterine	Foam spray	Not informed	Not informed	Single doses	Djuricic et al., 2014
	Mastitis	Intramammary	Gas	6 mg/ml	1-5 l	Single doses	Ogata and Nagahata, 2000
		Intramammary	Oil	600-eq-kg	10 ml	3 days straight	Quintana et al., 2019
	Urovagina	Intrauterine and intravaginal	Foam spray	Not informed	10 ml	Single doses	Zobel et al., 2011
	Retained fetal membranes	Intrauterine	Foam spray	Not informed	Not informed	Single doses	Djuricic et al., 2012b
	Equine	Endometritis	Intrauterine	Ozone pearls	Not informed	6 pearls	Single doses
Intrauterine			Ozonized water	80 mg/l	3 l	3-4 days straight	Heredia, 2013
Ovine	Retained fetal membranes	Intrauterine	Foam spray	Not informed	Not informed	Single doses	Djuricic et al., 2016

Con base a lo expuesto, un equipo de investigadores del INIAP, la Escuela de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Cuenca, la empresa privada La Colina y CLEPL, evaluaron tres estrategias (**E₁₋₂₋₃**) de bajo costo para mitigar los efectos adversos del posparto temprano en la salud uterina y glándula mamaria de vacas lecheras multiparas ($4,3 \pm 1,3$ partos) al pastoreo en el trópico alto ecuatoriano. Las unidades productivas lecheras (UPL) se encontraban en altitudes entre 2700-3300 metros sobre el nivel del mar, precipitación promedio de ± 67.1 hasta 100 mm/mes, temperatura entre 10-16°C, con un sistema de manejo similar, basado en pastoreo, ordeño mecánico (dos veces al día), y con una producción de leche promedio de 5000 kg/año.

Todos los animales fueron manejados de acuerdo a los procedimientos aprobados por el Comité de Carrera de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Cuenca, Ecuador, y la investigación se realizó siguiendo el capítulo 7.8 del Código Sanitario para los Animales Terrestres -2019© OIE (08/07/2019), relativo a la protección de los animales utilizados en experimentos científicos.

Clinoptilolita (CL) sobre la salud uterina y rendimiento reproductivo, **estrategia 1 (E₁)**

La **E₁**, tuvo como objetivo evaluar el efecto de la adición de clinoptilolita (CL) en la dieta basal sobre la salud uterina y el rendimiento reproductivo (Sinchi et al., 2022). Se asignaron aleatoriamente dos grupos: vacas suplementadas con clinoptilolita (GCL, n=42) y vacas no

suplementadas con CL, grupo control (GC, n=35). El GCL fueron suplementadas con clinoptilolita desde 30 días antes del parto (50 g/vaca/día) hasta >120 días después del parto (200 g/vaca/día); los procedimientos y variables reproductivas evaluadas durante el tiempo del estudio para ambos grupos se indican en la Figura 2.

En cada grupo (GCL y GC), se establecieron y evaluaron como variables de eficiencia reproductiva (ER): **i) Actividad Ovárica (AO):** cada ovario se evaluó mediante ultrasonido (US) (Draminski®, iScan, Polonia; transductor lineal 7.5 MHz) los 20, 27, 35 y 45 días posparto (dpp) se determinó los diámetros de todos los folículos detectados, el tamaño y día de detección del primer cuerpo lúteo (mm). Los folículos se clasificaron según el tamaño en clase A (< 5 mm), B (5-10 mm), y C (≥ 10 mm). **ii) Salud uterina (SU)**, se determinó mediante citología endometrial (*cytobrush*), se recolectaron las muestras por duplicado en los días 35 y 45 dpp; Figura 2, descrito por Garzón et al. (2017) y Madoz et al (2013).

Las citologías se observaron con un microscopio (Olympus CX31; Alemania) con un aumento de $\times 400$ y se contaron 200 células para determinar la proporción de leucocitos PMN (Madoz et al., 2013). Se estableció un punto de corte, vacas con $\geq 6\%$ PMN se consideró con endometritis subclínica, según la (Tabla 1). **iii) Variables Reproductivas (VR)**, se estableció como período voluntario de espera (**PVE**) 45 a 60 ddp. Todas las vacas (GCL y GC) tuvieron similar estrategia reproductiva: detección de estro por observación visual (dos veces al día)

e inseminación artificial (IA). El diagnóstico de gestación se realizó mediante US desde los 45 días pos-IA. Se registraron las fechas y número de IA, y se calcularon las siguientes variables reproductivas: intervalo parto primer celo (observación del primer cuerpo lúteo = primera ovulación posparto), intervalo parto primer servicio (IPPS), intervalo parto concepción (IPC), número de servicios por concepción (SC) y tasa de concepción al primer servicio (%CPS).

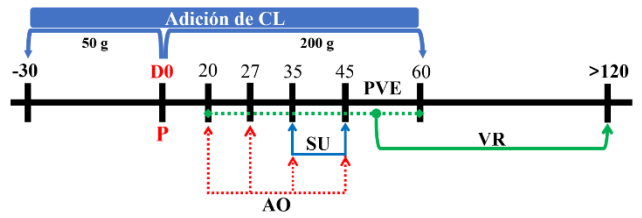


Figura 1. Esquema para evaluar las variables de la ER de la E₁ en el GCL y GC. Gramos (g); Días (D); Parto (P); Actividad Ovárica (AO); Salud Uterina (SU); Variables Reproductivas (VR).

Resultados y Discusiones

En las evaluaciones ecográficas de la AO, los folículos de las diferentes clases fueron similares entre los grupos. En cambio, el porcentaje promedio de leucocitos PMN de las citologías endometriales fuer menor en el GCL en contraste que el GG, como consecuencia el GCL tuvo menor porcentaje de vacas con ES en los 35 y 45 dpp (Figura. 3).

En la Tabla 3 se detallan los resultados de las variables reproductivas. Los intervalos desde el parto hasta la detección del primer cuerpo lúteo e intervalo parto concepción fue 35 días más corto en las vacas GCL que en las GC.

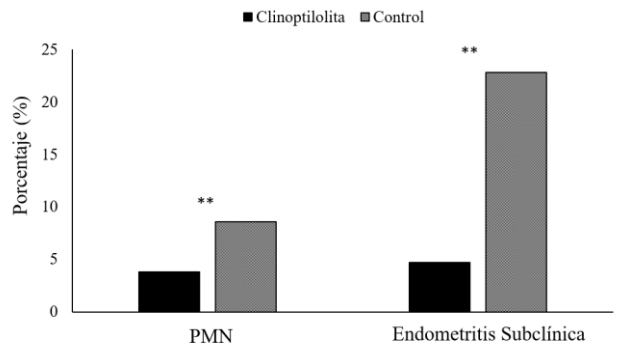


Figura 2. Porcentaje de leucocitos uterinos, PMN y proporción de vacas con Endometritis subclínica. **P<0.0001 (Sinchi et al., 2022).

Tabla 3. Variables reproductivas evaluadas durante el tiempo de estudio (Sinchi et al., 2022).

Variables	Tratamientos			
	Clinoptilolita (n=42)		Control (n=35)	
	n	Media ± SEM o porcentaje	n	Media ± SEM o porcentaje
Intervalo parto (días)				
1er cuerpo lúteo	27	23.5 ± 1.6 ^a	23	27.0 ± 1.6 ^b
Primer Servicio	42	76.6 ± 6.3	34	75.4 ± 6.2
Concepción	34	109.9 ± 12.0 ^b	25	144.0 ± 12.4 ^c
Número de servicios por Concepción	34	1.48 ± 0.19	25	1.78 ± 0.18
Diámetro del cuerpo lúteo (mm)	27	25.9 ± 1.5	23	24.0 ± 1.6
Vacas con cuerpo lúteo al día 30 (%) *	23	54.7	15	42.8
Concepción del primer servicio (%)	20	58.8	13	52.0

Valores con letras diferentes en la misma fila difieren. ^{a-b}P=0.0759; ^{b-c}P=0.0224;

*Proporción de vacas con cuerpo lúteo el día 30 posparto.



La Figura 3, indica la progresión de la preñez acumulada hasta los 90 dpp por tratamiento. A los 90 dpp, 35.7% (15/42) de las vacas estaban preñadas en GCL y 20.0% (7/35) en GC (P = 0.1285).

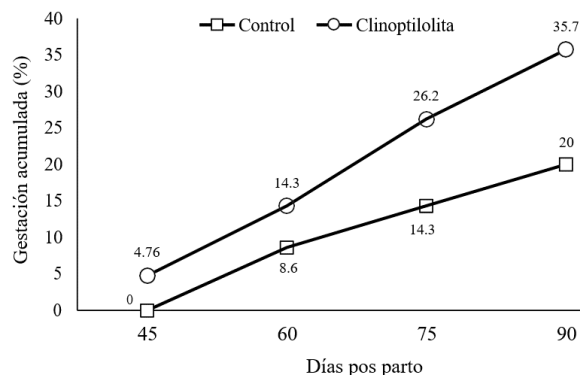


Figura 3. Progresión de la preñez acumulada en vacas lecheras múltiparas (Sinchi et al., 2022)

La salud reproductiva, constituye un factor muy importante para la eficiencia reproductiva, es así que la salud del útero y el reinicio de la actividad ovárica en el postparto están fuertemente influenciadas por la presencia de infecciones uterinas (Sheldon et al., 2020). Por otro lado, la homeostasis energética y metabólica también están estrechamente relacionadas con la eficacia del sistema inmunológico para combatir infecciones. Es así, que las vacas con marcadores del catabolismo tisular más exacerbado a causa de balance energético negativo son más propensas a desarrollar enfermedades uterinas (Bromfield et al., 2015; Sheldon et al., 2020).

La clinoptilolita probablemente mejoró la salud uterina y disminuyó el intervalo parto-concepción a través de dos mecanismos: (1) modificando la fisiología ruminal y como consecuencia mejorando el estado metabólico en el PT, efecto que se atribuye al aumento de la producción de propionato en el rumen y de la digestión posruminal del almidón (Karatzia et al., 2013) y (2) fortaleciendo el sistema inmunológico de las vacas (Valpotić et al., 2017) como consecuencia del primer mecanismo.

Se ha demostrado que la clinoptilolita tiene efectos antioxidantes, antiinflamatorios e inmunomoduladores en varias especies de mamíferos (Maity et al., 2021; Pavelić et al., 2018; Simona & Camelia, 2019; Valpotić et al., 2017). Por ejemplo, 50 g diarios de clinoptilolita desde 180 días antes del parto hasta 60 días después del parto disminuyeron la haptoglobina y el amiloide A sérico, dos biomarcadores antioxidantes (Folnožić et al., 2019).

Terapia intrauterina con ozono (TIUO3), estrategia 2 (E₂)

La E₂ tuvo como objetivo evaluar el efecto de la ozonoterapia intrauterina en el posparto temprano sobre la prevalencia de endometritis subclínica y el rendimiento reproductivo en vacas lecheras. Se asignaron aleatoriamente dos grupos: vacas tratadas con ozono intrauterino (GO₃, n=40) y vacas no tratadas (GC, n=40). Las vacas se seleccionaron por el peso corporal, paridad, producción de leche (en la lactación anterior) y el historial reproductivo. Se excluyeron del estudio las vacas con distocia al parto, retención de membranas fetales y secreción vaginal purulenta después del parto.

La terapia intrauterina con ozono (TIUO₃): consistió en tratar a las vacas del GO₃ en el día 35 ddp, con 50 ml de solución estéril destilada intrauterina ozonizada a una concentración de (50 µg/ml) después de la primera citología endometrial. Se utilizó un generador comercial de ozono para uso terapéutico (Super Ozonoterapia Premium®), que se acopló a un tanque de oxígeno y se calibró un caudalímetro para ozonizar el agua (flujo de oxígeno a 1 l/min desde el generador de ozono hacia agua estéril bidestilada durante 15 min) Así, se logró una solución estéril destilada ozonizada a 50 µg/ml. Se aplicó una dosis de 50 ml de la solución ozonizada en el lumen uterino mediante un catéter de lavado, y luego se evacuó su contenido tras un ligero masaje transrectal.

En cada grupo (GO₃ y GC), se establecieron y evaluaron como variables de eficiencia reproductiva: **i) Salud Uterina (SU):** La evaluación de las células PMN y endometritis subclínica (SE) se realizó en ambos grupos, mediante el procedimiento de citología endometrial descrito por Madoz et al. (2013). Se obtuvieron dos muestras endometriales por el método del citocepillo, la primera a los 35 días posparto, inmediatamente antes de la TIUO₃, y la segunda 72 h después. Las citologías se observaron con un microscopio (Olympus CX31; Alemania) con un aumento de $\times 400$ y se contaron 200 células para determinar la proporción de leucocitos PMN (Madoz et al., 2013). Se estableció un punto de corte, vacas con $\geq 6\%$ PMN se consideró con endometritis subclínica, según la (Tabla 1). **ii) Actividad Ovárica (AO):** mediante US (Draminski®, iScan, Polonia; transductor lineal 7.5 MHz) en ambos grupos se realizó una ecografía transrectal 35 ddp. Se registraron la actividad y el crecimiento folicular, el diámetro del foliculo mayor y el día de detección del primer cuerpo lúteo. Todos los foliculos registrados se midieron y

clasificaron según su tamaño en tres clases: ≤ 5 mm, $>5 < 10$ mm y ≥ 10 mm (Garzón *et al.* 2017). **iii**) Variables Reproductivas (**VR**), se estableció como período voluntario de espera (**PVE**) 45 a 60 ddp, ambos grupos tuvieron similar manejo reproductivo: detección de estro por observación (dos veces al día) e inseminación artificial (IA). El diagnóstico de gestación se realizó mediante US desde los 45 días pos-IA. Se registraron las fechas de inseminación y el número de servicios por concepción, se calcularon los siguientes parámetros reproductivos: intervalos entre partos al primer servicio

(IPPS) y parto-concepción (IPC), número de servicios por concepción (SC) y tasa de concepción al primer servicio (TCPS).

Resultados y discusiones

Las vacas con valores de PMN inferiores al umbral indicado a los 35 dpp se consideraron con salud uterina. En la primera citología, los porcentajes de PMN y ES fueron similares entre los grupos de vacas ($P > 0,05$). Luego de 72 horas de la TIUO₃, la segunda citología mostró que los porcentajes de estas dos variables fueron menores ($P < 0,01$) en GO₃ que en GC (Tabla 4).

Tabla 4. Variables de salud Uterina en vacas multiparas (Escandón *et al.*, 2020).

Variables	Primera Citología		Segunda Citología	
	GC (n=40)	GO3 (n=40)	GC (n=40)	GO3 (n=40)
PMN células (%)	6.9 ± 1.3	7.3 ± 1.2	7.6 ± 1.1a	3.7 ± 1.4b
ES (%)	50.0	42.5	50.0a	5.0b

GC: grupo control, vacas no tratadas; GO₃: vacas tratadas con ozono intrauterino. PMN: leucocitos polimorfonucleares; ES: endometritis subclínica. Letras distintas en la misma fila difieren: ^{a-b} P < 0,001

Los resultados de este estudio indicaron que la TIUO₃ aplicada en el día 35 posparto disminuyó eficazmente tanto el contenido de leucocitos PMN como la prevalencia de SE en vacas lecheras posparto aparentemente sanas manejadas en un sistema del trópico altoandino basado en pastos. En condiciones similares de altitud y manejo extensivo en los Andes colombianos, se reportó una prevalencia de SE del 46,3% en vacas cruzadas Holstein (Lagos-Figueroa y Narváez-Portilla 2016). El ozono intrauterino proporciona un potente efecto antimicrobiano para una amplia gama de microorganismos y un alto potencial de oxidación que conduce a una rápida transformación en oxígeno libre, lo que valida su uso como tratamiento antiséptico en caso de infecciones intrauterinas (Bialoszewski *et al.* 2010;

Zobel y Tkalčić 2013; Đuričić *et al.* 2014). Es probable que el mecanismo por el que el ozono aumenta la inmunidad uterina se deba a la activación del metabolismo eritrocitario y al aumento de la respuesta inmunitaria del tejido local, lo que conduce a la normalización del microambiente uterino y a la posterior curación en casos de endometritis no diagnosticada (Bocci 2011). Por lo tanto, creemos que la prevalencia de ES disminuyó por el efecto antiinflamatorio y antibacteriano del ozono sobre el endometrio uterino y la población de microorganismos.

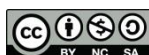
El comportamiento reproductivo de la actividad ovárica y los parámetros reproductivos se indican en la Tabla 5.

Tabla 5. Variables de Actividad ovárica y Parámetros reproductivos durante el tiempo de estudio (Escandón *et al.*, 2020).

Variables	GC (n=40)	GO3 (n= 40)
AO	Intervalo parto-primer folículo ≥ 10 mm (d)	23.3 ± 3.4
	Diámetro folículo ≥ 10 (mm)	13.1 ± 0.6 ^a
	Folículos ≤ 5 mm (n)	5,2 ± 1,1
	Folículos $> 5 < 10$ mm (n)	2.8 ± 0,5
	Folículos > 10 mm (n)	1,4 ± 1,2
PR	Intervalo parto-primer cuerpo lúteo (d)	24,6 ± 2,1
	Intervalo parto-primer servicio (d)	75,1 ± 4,6
	Numero de servicios por concepción (n)	3,1 ± 0,2 ^b
	Intervalo parto-concepción (d)	149,0 ± 9,0 ^c
	Tasa de concepción al primer servicio (%)	16.2 ^d

AO: actividad ovárica; PR: parámetros reproductivos.

Valores con letras diferentes en la misma fila difieren. ^{a-b}P=0.0537; ^{b-c}P< 0.01; ^{c-d}P = 0.0672; ^{d-e}P< 0.01



Nuestros resultados demostraron que la TIUO₃ acortó tanto los intervalos del parto hasta el primer servicio e IPC, mejoró la tasa de concepción al primer servicio, así como el número de inseminaciones por concepción en comparación con las vacas no tratadas. La presencia de bacterias patógenas en el útero después del parto provoca inflamación y lesiones endometriales, que en muchos casos se manifiestan como un trastorno reproductivo asintomático, como se ha mencionado anteriormente. Las endotoxinas bacterianas afectan a la actividad reproductiva de diversas maneras (Williams et al. 2007). Así, estos productos bacterianos interrumpen el crecimiento folicular, alteran la secreción de progesterona y estradiol folicular, modifican el patrón de secreción de LH y retrasan la ovulación (Suzuki et al. 2001; Williams et al. 2008; Lavon et al. 2008, 2011) y también causan la muerte embrionaria (Soto et al. 2003a, b). Probablemente, uno o más de estos mecanismos causantes de infertilidad fueron los responsables de que las vacas no tratadas necesitaran más inseminaciones para preñarse y tuvieran intervalos más largos para la concepción (Duričić & Samardžija, 2014). Sin embargo, es probable que el tratamiento con ozono provocara un entorno uterino más favorable para el transporte de espermatozoides, la fecundación y el desarrollo embrionario temprano, al reducir las condiciones inflamatorias uterinas adversas (Samardžija et al. 2017). Esto es consistente con el hecho de que en mujeres la irrigación endometrial con solución salina ozonizada estéril mejoró las características histológicas del endometrio (Calderon et al. 2016) e incrementó la tasa de embarazo clínico (Richter et al. 2007).

Clinoptilolita (CL) sobre las células somáticas, estrategia 3 (E₃)

La E₃, tuvo como objetivo evaluar fue evaluar el efecto de la suplementación de CLP en la dieta sobre el RCS durante el periodo posparto temprano de vacas lecheras a pastoreo. Se asignaron aleatoriamente dos grupos: vacas suplementadas con clinoptilolita (GCL, n=40) y vacas no suplementadas con CL, grupo control (GC, n=40). Las vacas tuvieron iguales condiciones de alimentación, sanidad, manejo y ordeñadas dos veces al día de forma mecanizada (Waikato Milking Systems NZ Ltd).

El GCL fueron suplementadas con clinoptilolita desde 30 días antes del parto (50 g/vaca/día) hasta los 60 días después del parto (200 g/vaca/día). Para el RCS se muestrearon semanalmente 100 ml de leche por vaca, que fueron procesadas con el equipo Ekomilk Scan® en el

laboratorio de Lactología - Facultad de Ciencias Agropecuarias – Universidad de Cuenca, de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. Se estableció como indicador de salud de la glándula mamaria un umbral de RCS ≤ 200000 células/ml en leche cruda (Sharun et al., 2021).

Resultados y discusiones

En la Figura 4 se puede observar que desde el 30 dpp en adelante, el RCS en el GCLP se mantuvo por debajo de 2×10^5 células/ml en comparación con el GC ($P < 0,01$). Nuestros resultados son similares a los observados por Ural (2014) quien demostró que la suplementación de la dieta basal con el 3% de CLP redujo el RCS en vacas Holstein durante 16 semanas

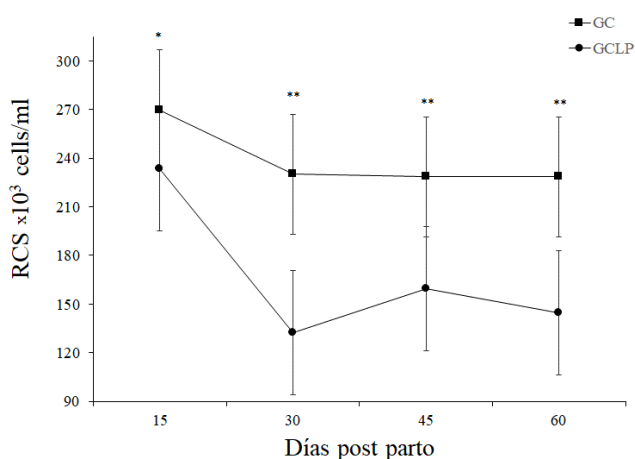


Figura 4. Recuento de células somáticas en los dos grupos de estudios; * ($P < 0,05$); ** ($P < 0,001$). (Narváez et al., 2022)

La CPL pudo haber facilitado la adaptación progresiva del ecosistema ruminal, aumentando la producción de propionato en el rumen y la digestión pos-ruminal del almidón, permitiendo mejorar el estado energético de los animales, disminuyendo los efectos adversos de la cetosis subclínica, y del estrés metabólico y oxidativo (Karatzia et al., 2013; Maity et al., 2021). Los efectos de la CLP, pueden haber fortalecido el sistema inmune de las vacas lecheras lo que explicaría la reducción del RCS, lo cual reduce el riesgo de contraer enfermedades intramamarias en el PT (Duričić et al., 2017 y 2020)

Conclusión

La inclusión de clinoptilolita en la dieta basal y la TIUO₃ constituyen estrategias de bajo costo para mitigar los efectos adversos originados por la transición en vacas

lecheras criadas al pastoreo y pueden ser aplicadas rutinariamente en los sistemas lecheros del Ecuador y en otros países.



Literatura Citada

- Allhussien, M.N., & Dang, A.K., 2018. Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: An overview. *Veterinary World*, 11(5):562-77. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.562-577>
- Białoszewski D, Bocian E, Bukowska B, Czajkowska M, Sokol- Leszczynska B, Tyski S. 2010. Antimicrobial activity of ozonated water. *Medical Science Monitor*, 16(9), MT71–MT75.
- Britt, J.H., Cushman, R.A., Dechow, C.D., Dobson, H., Humblot, P., Hutjens, M.F., Jones, G.A., Ruegg, P.S., Sheldon, I.M., & Stevenson, J.S., 2018. Invited review: Learning from the future—A vision for dairy farms and cows in 2067. *Journal of Dairy Science*, 101(5):3722-41. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14025>
- Bocci V. 2011. *Ozone, a new medical drug*. 2nd Edition. (Springer, London).
- Bromfield, J.J., Santos, J.P., Block, J., Williams, R.S., & Sheldon, I.M., 2015. Mechanisms linking infection and innate immunity in the female genital tract with infertility in dairy cattle. *Journal of Animal Science*, 93(5):20121-33. <https://doi.org/10.2527/jas2014-8496>
- Caixeta, L.S., & Omontese, B.O., 2021. Monitoring and improving the metabolic health of dairy cows during the transition period. *Animals*, 11(2):1-17. <https://doi.org/10.3390/ani11020352>
- Calderon I, Cohen M, Sagi-Dain L, Artzi O, Bejar J, Sagi S. 2016. The effect of ozonated sterile saline irrigation on the endometrium – A preliminary study. *Journal of Obstetrics and Gynecology*, 36(5):635-640. <https://doi.org/10.3109/01443615.2015.1133579>
- Caneschi, A., Bardhi, A., Barbarossa, A., & Zaghini, A., 2023. The Use of Antibiotics and Antimicrobial Resistance in Veterinary Medicine, a Complex Phenomenon: A Narrative Review. *Antibiotics*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030487>
- Carvalho, M.R., Peñagaricano, F., Santos, J.E.P., DeVries, T.J., McBride, B.W., & Ribeiro, E.S., 2019. Long-term effects of postpartum clinical disease on milk production, reproduction, and culling of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 102(12):1701-717. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17025>
- Celi, P., & Gabai, G., 2015. Oxidant/antioxidant balance in animal nutrition and health: The role of protein oxidation. *Frontiers in Veterinary Science*, 2:1-13. <https://doi.org/10.3389/fvets.2015.00048>
- Daros, R.R., Weary, D.M., & von Keyserlingk, M.A. G., 2022. Invited review: Risk factors for transition period disease in intensive grazing and housed dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 105(6):4734-48. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20649>
- De La Sota, R.L., Madoz, L.V., Jaureguiberry, M., Dominguez, G., Migliorisi, A.L., Albarraçin, D., & Alvarez, E., 2014. Endometritis subclínica en vacas de tambor: diagnóstico, prevalencia e impacto sobre la eficiencia reproductiva Spermova, 4(2): 105-111. https://spermova.pe/site2/files/Revistas/Rev.No.4%20Vol.2/1_Sota_2014-II-105-111.pdf
- de Souza, A.K.L., Colares, R.R., & de Souza, A.C.L., 2021. The main uses of ozone therapy in diseases of large animals: A review. *Research in Veterinary Science*, 136:51-6. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.01.018>
- Djuricic, D., Vince, S., Ablondi, M., Dobranic, T., & Samardzija, M., 2012. Intrauterine ozone treatment of retained fetal membrane in Simmental cows. *Animal Reproduction Science*, 134(3-4):119-24. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.08.023>
- Dormán, G., Flachner, B., Hajdú, I., & András, C.D., 2016. Target identification and polypharmacology of nutraceuticals. *Nutraceuticals*, (Chapter 21):263-286. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802147-7.00021-8>
- Đuričić, D., Lipar, M., & Samardžija, M., 2014. Ozone treatment of metritis and endometritis in Holstein cows. *Veterinarski Arhives*, 84(2):103-110. <https://hrcak.srce.hr/118938>
- Đuričić, D., Benić, M., Maćešić, N., Valpotić, H., Turk, R., Dobranic, V., Cvetnić, L., Gračner, D., Vince, S., Grizelj, J., Starić, J., Lojkić, M., & Samardžija, M. 2017. Dietary zeolite clinoptilolite supplementation influences chemical composition of milk and udder health in dairy cows. *Veterinarska Stanica*, 48(4):257-65. <https://hrcak.srce.hr/222322>
- Đuričić, D., Sukalić, T., Marković, F., Kočila, P., Žaja, I.Ž., Menčik, S., Dobranic, T., Benić, M., Samardžija, M., 2020. Effects of dietary vibroactivated clinoptilolite supplementation on the intramammary microbiological findings in dairy cows. *Animals*, 10(2):202. <https://doi.org/10.3390/ani10020202>
- Escandón, B.M., Espinoza, J.S., Perea, F.P., Quito, F., Ochoa, R., López, G.E., Galarza, D.A., & Garzón, J.P., 2020. Intrauterine therapy with ozone reduces subclinical endometritis and improves reproductive performance in postpartum dairy cows managed in pasture-based systems. *Tropical Animal Health and Production*, 52(5):2523-28. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02298-3>
- Folnožić, I., Samardžija, M., Đuričić, D., Vince, S., Perkov, S., Jelušić, S., Valpotić, H., Ljubić, B. B., Lojkić, M., Gračner, D., Šostar, Z., & Turk, R., 2019. Effects of in-feed clinoptilolite treatment on serum metabolic and antioxidative biomarkers and acute phase response in dairy cows during pregnancy and early lactation. *Research in Veterinary Science*, 127:57-64. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.10.010>



- Garzón P., J.P., Barrera M., V.H., Galarza L., D.A., Soria P., M.E., Rodríguez S., D.F., López C., G.E., & Marini, P.R., 2017. Efecto de la zeolita sobre retorno de la actividad ovárica, involución y salud uterina en vacas lecheras postparto criadas en pastoreo. *Livestock Research for Rural Development*, 29(3):3-7.
- Gonçalves, J.L., Kamphuis, C., Martins, C.M.M.R., Barreiro, J.R., Tomazi, T., Gameiro, A.H., Hogeveen, H., & dos Santos, M.V., 2018. Bovine subclinical mastitis reduces milk yield and economic return. *Livestock Science*, 210:25-32. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.01.016>
- Grummer, R.R., 1995. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Animal Science*, 73(9):2820-33. <https://doi.org/10.2527/1995.7392820x>
- Karatzia, M.A., Katsoulos, P.D., & Karatzias, H., 2013. Diet supplementation with clinoptilolite improves energy status, reproductive efficiency and increases milk yield in dairy heifers. *Animal Production Science*, 53(3):234-39. <https://doi.org/10.1071/AN11347>
- Kasimanickam, R., Duffield, T.F., Foster, R.A., Gartley, C.J., Leslie, K.E., Walton, J. S., & Johnson, W.H., 2004. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 62(1-2):9-23. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.03.001>
- Katsoulos, P.D., Karatzia, M.A., Boscós, C., Wolf, P., & Karatzias, H., 2016. In-field evaluation of clinoptilolite feeding efficacy on the reduction of milk aflatoxin M1 concentration in dairy cattle. *Journal of Animal Science and Technology*, 58:1-7. <https://doi.org/10.1186/s40781-016-0106-4>
- Lagos-Figueroa B, Narváez-Portilla JP. 2016. Prevalencia de endometritis diagnosticada por ultrasonido en vacas de pequeños productores de leche de seis municipios del departamento de Nariño, Colombia. *Revista Investigaciones Pecuarias*, 4(1), 23–30.
- Lavon Y, Leitner G, Klipper E, Moallem U, Meidan R, Wolfenson D. 2011. Subclinical, chronic intramammary infection lowers steroid concentrations and gene expression in bovine preovulatory follicles. *Domestic Animal Endocrinology*, 40, 98–109.
- LeBlanc, S.J., Lissemore, K.D., Kelton, D.F., Duffield, T.F., & Leslie, K.E., 2006. Major advances in disease prevention in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 89(4):1267-79. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72195-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72195-6)
- LeBlanc, Stephen J, Osawa, T., & Dubuc, J., 2011. Reproductive tract defense and disease in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 76(9):1610-18. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.07.017>
- Lopreiato, V, Minuti, A., Trimboli, F., Britti, D., Morittu, V. M., Cappelli, F. P., Loor, J.J., & Trevisi, E., 2019. Immunometabolic status and productive performance differences between periparturient Simmental and Holstein dairy cows in response to pegbovigrastim. *Journal of Dairy Science*, 102(10):9312-27. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16323>
- Lopreiato, Vincenzo, Mezzetti, M., Cattaneo, L., Ferronato, G., Minuti, A., & Trevisi, E. (2020). Role of nutraceuticals during the transition period of dairy cows: A review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 11(1), 1-18. <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00501-x>
- Madoz, L.V., Giuliodori, M.J., Migliorisi, A.L., Jaureguiberry, M., & De la Sota, R.L., 2014. Endometrial cytology, biopsy, and bacteriology for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97(1):195-201. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6836>
- Madoz, L.V, Giuliodori, M.J., Jaureguiberry, M., Plöntzke, J., Drillich, M., & de la Sota, R.L. 2013. The relationship between endometrial cytology during estrous cycle and cutoff points for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96(7):4333-39. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6269>
- Maity, S., Rubić, I., Kuleš, J., Horvatić, A., Đuričić, D., Samardžija, M., Ljubić, B.B., Turk, R., Gračner, D., Maćešić, N., Valpotić, H., & Mrljak, V., 2021. Integrated metabolomics and proteomics dynamics of serum samples reveals dietary zeolite clinoptilolite supplementation restores energy balance in high yielding dairy cows. *Metabolites*, 11(12):842. <https://doi.org/10.3390/metabo11120842>
- Masia, F., Molina, G., Vissio, C., Balzarini, M., de la Sota, R. L., & Piccardi, M. (2022). Quantifying the negative impact of clinical diseases on productive and reproductive performance of dairy cows in central Argentina. *Livestock Science*, 259(March), 104894. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.104894>
- Narváez, M.R., Mendoza, N.X., Galarza, D.A., Perea, F.P., & Garzón, J.P., 2022. La suplementación de clinoptilolita en la dieta basal reduce las células somáticas de vacas lecheras multiparas durante el periodo de transición. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 30(Supl. 2):51-4. <https://doi.org/10.53588/alpa.300605>
- Pascottini, O. Bogado, Aurich, C., England, G., & Grahofer, A. (2023). General and comparative aspects of endometritis in domestic species: A review. *Reproduction in Domestic Animals*, 58(S2), 49-71. <https://doi.org/10.1111/rda.14390>



- Pascottini, Osvaldo Bogado, Leroy, J. L. M. R., & Opsomer, G., 2022. Maladaptation to the transition period and consequences on fertility of dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 57(Suppl. 4):21-32. <https://doi.org/10.1111/rda.14176>
- Pavelić, S.K., Medica, J.S., Gumbarević, D., Filošević, A., Pržulj, N., & Pavelić, K., 2018. Critical review on zeolite clinoptilolite safety and medical applications in vivo. *Frontiers in Pharmacology*, 9:1-15. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01350>
- Pinedo, P.J., De Vries, A., & Webb, D.W., 2010. Dynamics of culling risk with disposal codes reported by Dairy Herd Improvement dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 93(5):2250-61. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2572>
- Polat, B., Cengiz, M., Çolak, A., & Cannazik, O., 2015. Comparison of intrauterine ozone and rifaximine treatment in cows with subclinical endometritis. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21(5):773-76. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2015.13690>
- Puga-Torres, B., Aragón Vásquez, E., Ron, L., Álvarez, V., Bonilla, S., Guzmán, A., Lara, D., & De la Torre, D., 2022. Milk Quality Parameters of Raw Milk in Ecuador between 2010 and 2020: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis. *Foods*, 11(21): 3351. <https://doi.org/10.3390/foods11213351>
- Quintela Arias, L., Vigo Fernández, M., José Becerra González, J., Barrio López, M., & José García Herradón and Ana Isabel Peña Martínez, P. (2018). Subclinical Endometritis in Dairy Cattle. *IntechOpen*. doi: 10.5772/intechopen.80229
- Ribeiro, E.S., Gomes, G., Greco, L.F., Cerri, R.L.A., Vieira-Neto, A., Monteiro, P.L.J., Lima, F.S., Bisinotto, R.S., Thatcher, W.W., & Santos, J.E.P., 2016. Carryover effect of postpartum inflammatory diseases on developmental biology and fertility in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(3):2201-20. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10337>
- Ribeiro, E.S., Lima, F.S., Greco, L.F., Bisinotto, R.S., Monteiro, A.P.A., Favoreto, M., Ayres, H., Marsola, R.S., Martinez, N., Thatcher, W.W., & Santos, J.E.P., 2013. Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. *Journal of Dairy Science*, 96(9):5682-97. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6335>
- Richter KS, Bugge KR, Bromer JG, Levy MJ. 2007. Relationship between endometrial thickness and embryo implantation, based on 1294 cycles of in vitro fertilization with transfer of two blastocyst-stage embryos. *Fertility and Sterility*, 87(1):53-9.
- Rutter, B., 2015. Diagnóstico de endometritis subclínica en vacas lecheras. *Maskana*, 6:131-42. https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/23794/1/Actas_Producción_Animal_10.pdf
- Santos, J.E.P., & Ribeiro, E.S., 2014. Impact of animal health on reproduction of dairy cows. *Animal Reproduction*, 11(3):254-69. <https://www.animal-reproduction.org/article/5b5a6040f7783717068b465c>
- Samardžija M, Turk R, Sobiech P, Valpotić H, Harapin I, Gračner D, Đuričić D., 2017. Intrauterine ozone treatment of puerperal disorders in domestic ruminants: a review. *Veterinarski Arhiv*, 87(3):363-75. <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.160119a>
- Sharun, K., Dhama, K., Tiwari, R., Gugjoo, M. B., Iqbal Yattoo, M., Patel, S. K., Pathak, M., Karthik, K., Khurana, S. K., Singh, R., Puvvala, B., Amarpal, Singh, R., Singh, K. P., & Chaicumpa, W., 2021. Advances in therapeutic and managerial approaches of bovine mastitis: a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*, 41(1):107-36. <https://doi.org/10.1080/01652176.2021.1882713>
- Sheldon, I. Martin, Lewis, G.S., LeBlanc, S., & Gilbert, R.O., 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65(8):1516-30. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.08.021>
- Sheldon, I.M, Molinari, P.C., Ormsby, T.J., & Bromfield, J.J., 2020. Preventing postpartum uterine disease in dairy cattle depends on avoiding, tolerating and resisting pathogenic bacteria. *Theriogenology*, 150:158-65. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.017>
- Simona, M & Camelia, T., 2019. Zeolites Applications in Veterinary Medicine. *Intech*, 13. <https://doi.org/DOI:10.5772/intechopen.87969>
- Sinchi, F.I., Zuin, J.F., Garzón, J.P., López, G.E., Calle, G.R., Quito, F., Galarza, D.A., & Perea, F.P., 2022. Addition of clinoptilolite in the diet reduces uterine PMN leukocytes and open days in multiparous lactating dairy cows managed in a mountain tropical pasture-based system. *Tropical Animal Health and Production*, 54(5). <https://doi.org/10.1007/s11250-022-03308-2>
- Soto P, Natzke RP, Hansen PJ. 2003b. Identification of possible mediators of embryonic mortality caused by mastitis: Actions of lipopolysaccharide, prostaglandin F2a, and the nitric oxide generator, sodium nitroprusside dihydrate, on oocyte maturation and embryonic development in cattle. *American Journal of Reproductive Immunology*,

- Stanek, P., Zolkiewski, P., & Janus, E., 2024. A Review on mastitis in dairy cows research: Current status and future perspectives. *Agriculture*, 14(8):1292. <https://doi.org/10.3390/agriculture14081292>
- Stevens, M., Piepers, S., & De Vlieghe, S., 2016. Mastitis prevention and control practices and mastitis treatment strategies associated with the consumption of (critically important) antimicrobials on dairy herds in Flanders, Belgium. *Journal of Dairy Science*, 99(4):2896-903. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10496>
- Stocco, G., Summer, A., Cipolat-Gotet, C., Zanini, L., Vairani, D., Dadousis, C., & Zecconi, A., 2020. Differential somatic cell count as a novel indicator of milk quality in dairy cows. *Animals*, 10(5):1-15. <https://doi.org/10.3390/ani10050753>
- Suzuki C., Yoshioka K, Iwamura S, Hirose H. 2001. Endotoxin induces delayed ovulation following endocrine aberration during the proestrous phase in Holstein heifers. *Domestic Animal Endocrinology*, 20, 267–278.
- Ural, D.A., 2014. Efficacy of clinoptilolite supplementation on milk yield and somatic cell count. *Revista MVZ Córdoba*, 19(3):4242-48. <https://doi.org/10.21897/rmvz.86>
- Uričić, D., Lipar, M., Samardžija, M., Đuričić, D., Lipar, M., & Samardžija, M., Đuričić Lipar, M., & Samardžija, M., D., Uričić, D., Lipar, M., Samardžija, M., & Đuričić, D., Lipar, M., & Samardžija, M., 2014. Ozone treatment of metritis and endometritis in Holstein cows. *Veterinarski Arhives*, 84(2), 103-10. <https://hrcak.srce.hr/118938>
- Đuričić, D., Valpotić, H., & Samardžija, M., 2015. Prophylaxis and therapeutic potential of ozone in buiatrics: current knowledge. *Animal Reproduction Science*, 159:1-7. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.05.017>
- Valpotić, H., Gračner, D., Turk, R., Đuričić, D., Vince, S., Folnožić, I., Lojkić, M., Žaja, I. Ž., Bedrica, L., Maćešić, N., Getz, I., Dobranić, T., & Samardžija, M., 2017. Zeolite clinoptilolite nanoporous feed additive for animals of veterinary importance: potentials and limitations. *Periodicum Biologorum*, 119(3):159-72. <https://doi.org/10.18054/pb.v119i3.5434>
- Williams EJ, Fischer DP, Pfeiffer DU, England GC, Noakes DE, Dobson H, Sheldon IM. 2005. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, 63(1), 102–117
- Zobel, R., & Tkalčić, S. (2013). Efficacy of Ozone and Other Treatment Modalities for Retained Placenta in Dairy Cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 48(1), 121-125. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02041.x>
- Zobel, Robert, Martinec, R., Ivanović, D., Rošić, N., Stančić, Z., Žerjavić, I., Flajsig, B., Plavec, H., & Smolec, O. (2014). Intrauterine ozone administration for improving fertility rate in Simmental cattle. *Veterinarski Arhiv*, 84(1), 1-8.