

AISLAMIENTO DE MYCOPLASMA SPP EN VAGINITIS GLANDULAR  
 EN GANADO HOLANDO EN RODEOS LECHEROS DEL URUGUAY

Carlos Morón(1)  
Oscar González(2)  
J. Carlos Resbani(3)

RESUMEN

Se puso de manifiesto la presencia de Mycoplasma en ganado lechero Holando en casos de infertilidad y aborto. Se chequearon las vacas afectadas y dieron negativas a trichomoniasis, vibrosis (en feto abortado) brucelosis (muestras sangre), IBR (hisopados vaginales y sangre).

REVISION LITERARIA

A. Taxonomia

Los micoplasmas se conocen desde los trabajos de Roux y Nocord en 1898. En 1937 Dicues y Etsall consiguen aislar el primer espécimen humano en una bartolinitis.

El primer aislamiento de Ureaplasma fue en 1967 en Inglaterra. La primera descripción de la vulvitis granular fue en 1887 en Suiza por Issepon.

Afshar, Stuart y Huck fue el primero en asociar Mycoplasmas y la vulvitis granular en 1967.

En 1974 se publicó el primer reporte de Ureaplasma asociado a desórdenes reproductivos en Canadá.

Primeramente denominados P.P.L:0: (pleuro pneumonian like organisms) viven en estado libre y han sido encuadrados en la clase de los Mollicutes o bacterias sin pared.

---

1Médico Veterinario. Jefe de la Regional V. Rodríguez, Dpto. Veterinario. CONAPROLE

2Doctor en Medicina. Jefe de Laboratorio Microbiológico del Dpto. de Control de Calidad de CONAPROLE

3Medico Veterinario. Laboratorio de Microbiologia del Dpto. de Control de Calidad de CONAPROLE

c.c.7.1

CLASE		MOLLICUTES	
ORDEN		MYCOPLASMATALES	
FAMILIA	GENEROS	ESPECIES	
MYCOPLASMATACEAE	MYCOPLASMA	BOVIGENITALUM	
		BOVIS	
		CAPRICOLUM	
		SP. SUBGRUPO 7	
		DE LEACH	
		ARGININI	
		CANADENSE	
		CALIFORNICUM	
	UREAPLASMA	DIVERSUM	
ACHOLEPLASMATACEAE			
SPIROPLASMATACEAE			

### B. Biología de los micoplasmas

1. Ausencia de pared. Poseen una membrana citoplasmática trilamelar con elevada tasa de colesterol. No poseen pared y no elaboran peptidoglicano ni sus precursores. Esto les permite: morfología variable (formas cocoides, filamentosos en rosario, etc.). Este pleomorfismo les permite atravesar filtros y deslizarse sobre soportes húmedos. Son muy sensibles a las condiciones del medio: pH, temperatura, Presión Osmótica, rayos ultravioletas y tensioactivos. No se tiñen con GRAM. Resiste a los antibióticos que actúan sobre las paredes de las bacterias.

#### 2. Exigencias de cultivos. Necesitan:

- a. Colesterol para elaborar su membrana citoplasmática
- b. Factores de crecimiento
  - precursores de ácidos nucleicos
  - clorhidrato de cistina
  - extracto de levadura
  - derivados aminados

3. Caracteres antigénicos La membrana citoplasmática es la sede de los antígenos. Existen tanto sea para micoplasmas como para ureaplasmas varios serotipos.

ESPECIE	SITIO DE AISLAMIENTO
M. Bovigenitalium	Tracto reproductivo, fetos abortados, útero, prepucio, semen fresco.
M. Canadense	Tracto reproductivo
M. Bovis	Mastitis. Infecciones reproductivas. Aislado del útero, fluido amniótico. Semen congelado.
M. Capricolum	Aislado semen toro (Portugal).
M. Colifornicum	Brotos graves de Mastitis en Irlanda del Norte. Semen Vagina (Alemania Federal). Tracto genital femenino.
M. SP Subgrupo 7 de Leach (Pg 50)	(Pg50) aislado en semen (Portugal)
M. Arginini	Semen
Ureaplasma diversum	Semen fresco. Toros normales. Vesiculitis. Pulmón de fetos abortados.

### C. Epidemiología

Habitante del tracto reproductor femenino y masculino. Se aisló en vacas infértiles. Se aisló de toros normales y enfermos. Sobreviven en semen congelados a -196 °C por 18 meses. Se transmite por toro o por IA. Se observó que la época de mayor incidencia en el hemisferio norte es el invierno por el confinamiento de los animales.

### D. Formas clínicas

D.1 Vacas Produce vulvitis granular (V.G.). Produce endometritis y salpingitis. Las pérdidas económicas resultan de:

- La muerte embrionaria precoz anterior al día 14 post-servicio.
- Muerte embrionaria entre el día 40 y 90 post-servicio.
- Aborto en cualquier estado.
- Nacimiento de terneros débiles.

#### D.1.1 Vulvitis granular:

a. La forma aguda presenta hiperemia, vulvitis granular, descarga purulenta y quiste de inclusión epitelial. Los gránulos son de 1 - 2 mm. Los gránulos se encuentran en la parte interna de la mucosa vulvar, alrededor del clitoris y en la comisura dorsal de la vulva. Nosotros encontramos la misma ubicación para la vulvitis granular en los casos estudiados. La descarga purulenta persiste por 7 a 10 días.

b. Forma crónica hay ausencia de granulosidad, e hipertermia así como ausencia de descarga purulenta. Se menciona que ocasionalmente puede haber una descarga vaginal de moco claro que hace difícil la detección del celo para los productores.

La granulosidad desaparece gradualmente en unas semanas en más de 60% a 70%. Retorna a la normalidad a las 6 a 18 semanas.

En un estudio realizado en la República Federal Alemana se aisló Ureaplasma del 34% de 40 vacas. Se aisló Ureaplasma del 22% de las muestras de vagina

16% de las crevix, 16 de la de útero y 6 de oviducto.

Kreplin menciona un estudio en el cual 5 vaquillonas fueron inoculadas con  $1,09 \times 10^8$  a  $1,4 \times 10^9$  CFU (Colony Forming Units) de U. Diversum

Los abortos aparecen en el primer tercio de la preñez y se asociaron explícitamente con placentesis crónica y pneumonitis fetal.

D.2 Toros. Los Micoplasmas son habitantes normales de la cavidad prepucial. Ureaplasma persiste en semen congelado. La colonización también puede ser vesical y uretral. Se encontró una correlación positiva entre débil motilidad de los espermatozoides y la presencia de M. Bovigenitalum. En los toros afectados se observó disminución de la libido, fertilidad y vesiculosis.

M. bovis sobrevivió en semen congelado con penicilina G y Dihidroestreptomocina a  $-196^\circ\text{C}$  por 18 meses.

En un estudio en 25 lavados prepuciales se encontró 80% positivos a Mycoplasma y/o ureaplasma en tanto que en el semen fresco 46% y en el procesado 31%.

Las cepas de Micoplasma y Ureaplasma en semen fueron detectados cultivándolos en agar Hayflick suplementado con 15% de suero de caballo o suino y Shepard agar respectivamente.

En Polonia de 301 toros estudiados, 235 (78,1%) fueron positivos a Ureaplasma. Muchos de esos toros tenían inflamación de pene y prepucio. En ese mismo estudio se estudiaron los lavados prepuciales de 90 toros con signos clínicos mostraron la presencia de Ureaplasma a 76 (84,4%) y de mycop. 21 (23,3%).

Los datos aportados por el estudio de los registros reproductivos, de los tambos evaluados aportan algunos datos.

#### Casuística

1. Establecimiento E D M. Sin motivo de consulta, se concurre por una visita rutinaria de control post-parto en un establecimiento lechero. Se revisan 17 vacas que tienen entre 40 y 60 días post-parto. Se hace tacto rectal con palpación del aparato reproductivo y revisión de mucosa vaginal (clitoris, paredes laterales y techo) y vaginoscopia.

El establecimiento no tiene alterado sus valores de evaluación reproductiva.

HIPEREMIA VULVAR	6
VULVITIS GRANULAR	0
VULVA NORMAL	4
TOTAL VACAS CHEQUEDAS (*)	17

2. Establecimiento M. L. Motivo de la consulta. Aborto de 3 vacas servidas por toro.

Se revisan los animales. No hay alteraciones visibles. Se remite al laboratorio un feto recién abortado dando negativo a trichomoniasis y vibriosis. Se realiza extracción de sangre y se remite al laboratorio para descarte de Brucelosis y Leptospirosis. Se repite a los 20 días la extracción de sangre para leptospirosis. Se saca sangre por la vulvovaginitis para IBR al igual que un hisopado vaginal, dando también negativo. Se revisan la mucosa vulvar y presentan vulvovaginitis e hiperemia vulvar. Se hace biopsia e la vulvitis granular remitiéndose a Anatomía Patológica.

\* Hay vacas que presentan hiperemia y vulvitis.

**Vaca No. 8** 05.02.89 pare macho. Se seca 08.11.89. Pare un macho en enero 1990. Servicio 31.03.90. Se seca 06.11.90. Aborto el 08.11.90.

**Vaca No. 166** Secado 17.02.89. Pare macho el 24.04.89. El 08.03.90 pare una hembra. Aborto el 12.12.90.

**Vaca No. 24** Servicio 23.10.90. Aborto 02.08.90

En el análisis de los datos reproductivos de los años 1989 y 1990 podemos observar:

	1989	1990
Número de vacas con servicios	76	71
Vacas preñadas al 1er. servicio	30 (39%)	31 (44%)
Total de vacas preñadas	51 (67%)	60 (85%)
Total e servicios	77	118
Servicios por preñez	1,50	2
Abortos	0	2
No. vacas repetidoras	7	10
Días sin preñez entre servicios en vacas repetidoras	509	978

A las vacas No. 8, 24 y 166 se les hace un hisopado vaginal como forma de poner de manifiesto la presencia de Mycoplasma y/o Ureaplasma.

La vaca No. 8 dió positiva a Mycoplasma fermentando la arginina y virando el color del medio.

La vaca No. 166 fermentó la urea y dió positivo a Ureaplasma.

A los 35 días se les vuelve a sacar otra muestra y sólo la vaca No. 166 vuelve a dar positivo a Ureaplasma.

A los 60 días la vulvitis granular a las vacas No. 8 y 24 disminuyó notoriamente, no así en la 166.

3. Tambo del Sr. M. A. Tambo con servicio con toro prestado por el vecino. Se le hace revisión ginecológica y da s/p. Mucosa vulvar con lesiones e vulvitis granular severas.

La vaca no tolera la monta con el toro. Los datos reproductivos anteriores fueron:

**Vaca No. 11** Servicio 17.04.90. Servicio 20.11.90. Servicio 02.01.91. Servicio 25.01.91. Servicio 15.02.91.

4. Tambo del Sr. L. B. Tambo con IA solamente. Aborto en vaca No. 54. Mucosa vulvar con hiperemia y lesiones de vulvitis granular. Se saca sangre para IBR, Brucelosis y Leptospirosis (a los 20 días otra vez). Se hace hisopo vaginal para Mycoplasma dando positivo.

5. Tambo del Sr. E. En una revisión vaginal de las vacas del tambo arrojó los siguientes resultados:

TOTAL VACAS	VULVITIS GRANULAR	HIPEREMIA VULVAR
127	39 (30,7%)	29 (22,83%)

	VAQUILLONAS	VULVITIS GRANULAR	HIPEREMIA VULVAR
TOTAL VACAS CHEQUEADAS	41	13 (31,7%)	4 (9,75%)
127	VACAS 86	26 (30,23%)	23 (26,74%)

Del total de vacas revisadas con vulvitis granular se estudiaron los servicios anteriores y observamos lo siguiente:

POR TORO	
TORO	%
866 - (M.C.)	60,86%
877 - (M.C.)	21,73%
1.117 - (I.A.)	8,69%
8,69 - (I.A.)	2%

I.A. Inseminación Artificial - M.C. Monta a Corral

6. Establecimiento de A.P. De 50 vacas en ordeño chequeadas para revisión post-parto a los 45-60 días observamos los siguientes resultados:

TOTAL VACAS	50
V. GRANULAR	40

### E. Materiales y métodos

Previo lavado con suero fisiológico esteril, se procede a retirar exudado de la zona lesional con hisopo estéril, que se incluye en caldo urea-arginina para Mycoplasma Biomerieux(R)\* y se escurre. El caldo es enfriado y empleado para transporte del material. (Conservación de la muestra: máx. 5 hs. a temperatura ambiente y 48 hs. a 2-8 °C).

En el laboratorio se mezcla con jeringa el contenido del tubo de la muestra y se dejan caer 5 gotas repasados sobre la superficie de agar Mycoplasma Bio-Meriex (R)\* y se deja secar 5 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se incluye en un sistema de anaerobiosis (Generbag) y se incuba a 37 °C.

Al cabo de 5 días, se observa la placa con microscopio (objetivo x 10) y se constata la presencia o ausencia de colonias profundas con aspectos de huevo frito características de Mycoplasma, y las colonias como erizo marrón propias de Ureaplasma.

### F. Diagnóstico

Los motivos de consulta pueden ser variados y van desde aborto y repetición de celos hasta flujo purulento. Los datos clínicos relevantes aportados por la semiología son la vulvovaginitis y el corrimiento purulento.

A. El diagnóstico diferencial por el aborto incluye las siguientes afecciones:

- a - Tricomoniiasis.
- b - Vibriosis.
- c - Rinotraqueitis bovina (IBR)
- d - Brucelosis.
- e - Leptospirosis.

Todas las muestras dieron negativas. Tricomoniiasis y vibriosis se estudiaron en fetos abortados. Brucelosis en muestras de sangre. Leptospirosis en muestras de sangre con 30 días de intervalo. En el caso de IBR se sacaron hisopados vaginales y muestras de sangre dando negativo.

B. La Anatomía Patológica se realizó de la mucosa vaginal afectada observándose hiperplasia de folículos linfoides dermicos con presencia de úlcera a nivel epitelial.

El diagnóstico diferencial de la vulvovaginitis se debe hacer con IBR. La rinotraqueitis da aborto sólo en la forma respiratoria, lo cual no presentaban ninguna de las vacas afectadas. La vulvovaginitis de IBR no da abortos.

### G. Tratamiento y control

1. Las bases del tratamiento apuntan a:

a - Minimizar la transmisión uterina por intermedio de protectores de cánulas de nylon o con una sobrecánula rígida con un opérculo en la punta.

b - Terapia antibiótica vulvar o como infusiones uterinas. Tetraciclina o Rolitetraciclina 1 a 2 gr.

c - En semen: agregado de ATB

La combinación de ATB, gentamicina (500 mg/ml), tilosina (100 mg/ml) y lincopectina (300-600 mg/ml) fue más efectiva para el control de Mycoplasma y ureaplasma.

Otros antibióticos recomendados para uso en semen son:

Shin y Col. de la Universidad de Cornell llegaron a la conclusión de que la combinación de gentamicina (500 mg/ml), Tilosina (100 mg/ml) y linco-spectin (300/600 mg/ml) fue más efectivo para el control de mycoplasmas y ureaplasmas e igualmente efectivo para control de c. foetus subesp. veneralis y haemophilus sommus que la combinación de penicilina dihidroestreptomina y polimixina B.

\* Donado por Reactivos del Uruguay Limitada.

H. Conclusion

En todos los animales con vulvovaginitis se aisló Mycoplasma en concentraciones superiores a  $10^4$ , límite considerado significativo para patología en humanos.

## SUMMARY

MYCOPLASMA ISOLATION FROM GRANULAR VAGINITIS IN HOLSTEIN COWS. From cases of abortion and infertility in Holstein cows Mycoplasma was detected. Affected cows checked for trichomoniasis campylobacteriosis (in an aborted fetus), leptospirosis and brucellosis (from blood samples) and IBR (blood samples and vaginal exudates) with negative results.

## BIBLIOGRAFIA

1. RAZIN, S.; BARILE, M.F. The Mycoplasmas Vol. IV. Academic Press. Inc. 1985.
2. Recent advances in micoplasmology. Proceedings of the 7th Congress of the international organization for mycoplasmaology. Baden Near Vienna. 1988. Ed.G.Fischer Verlag.N.York 1990.
3. MARTEL, J.L. Micoplasmoses bovines. Revue de Medicine Veterinaire. 1987. 138. 10, 799-806.
4. DOIG; RUHNKE; MACKAY and PALMER. Bovine Granular Vulvitis Associated with Ureaplasma infection. The Canadian Veterinary Journal. Vol. 20, April 1979. No. 4. Pag. 89-94.
5. KOBISCH; RENAUDIN; MADEC y Col. Recherche D'Ureaplasmes dans le tractus genital de truies et dans le sperme de verrats. Recueil de Medicine Veterinaire. 1989, 165 (1) 39-43.
6. LEIN, AL-AUBAIDI. Mycoplasmas as agents in reproductive failure. report of N.York S. Veterinary College. J. 95. 1966.
7. BALL, J. Use of bovine sheath for screening for mycoplasmas. Veterinary Record. (1990). 127, 16-17.
8. BALL, H.J.; ARMSTRONG y Col. Experimental intrauterine inoculation of cows at oestrus with mycoplasma bovigenitalum. Veterinary Record (1990). 126, 486.
9. SHIN, LEIN, PATTEN, RUHNKE. A new antibiotic combination for frozen bovine semen. Control of mycoplasmas, ureaplasmas, Campylobacter foetus suesp. venerealis and Haemophilus sommus. Theriogenology. March 1988. Vol. 29. No. 3.
10. FREIS, THODE JENSEN. Serological Comparison of type strains of porcine, bovine and ovine mycoplasmas with atypical colony morphology. Acta Vet Scand. 1984. 25, 29-35.
11. KREUSEL, S.; BOCKLISCH, H. Experimental infection of bulls with Mycoplasma bov or M. bovigenitalium (1989) 43(5) 705-712. Institut Veterinarwesen German democratic Republic.