



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO PARA DETERMINAR LA ETIOLOGÍA DE LA
SALPINGITIS EN VAQUILLAS DE UNA EXPLOTACIÓN LECHERA
UBICADA EN EL VALLE DE MÉXICO

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

Katherin Dubara Tenorio Cedeño

ASESOR:

MVZ Rafael Ordoñez Medina



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE

1. RESUMEN	2
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1 Anatomía y fisiología del aparato reproductor de la hembra bovina	5
2.2 Salpingitis	9
2.3 Micoplasmosis	12
2.4 ¿Cómo llegar a establecer el diagnóstico definitivo de una enfermedad?	17
3. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	23
4. OBJETIVOS	24
5. MATERIALES Y METODOLOGÍA	25
6. RESULTADOS	28
7. DISCUSIÓN	34
8. CONCLUSIONES	36
9. BIBLIOGRAFÍA	38

RESUMEN

La infertilidad en el ganado bovino ocasiona graves pérdidas económicas. Esta patología puede estar ocasionada por la inflamación de los oviductos (salpingitis), la cual es más común en vacas que en vaquillas debido a la presencia de infecciones que se instalan durante el parto y el puerperio. En este trabajo se estudiaron 6 vaquillas diagnosticadas con salpingitis. El estudio se realizó en un hato lechero del Estado de México, con la finalidad de determinar la causa de la salpingitis por medio del estudio histológico y la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), para proponer las medidas de control y prevención. Durante la realización de la necropsia, se confirmó la salpingitis y se tomaron muestras de los oviductos, ovarios y tejido pulmonar. El examen histológico reveló diversos grados de salpingitis crónica, hidrosalpinx y la presencia de un luteoma, neoplasia ovárica benigna. En el tejido pulmonar de las seis vaquillas se reportaron lesiones neumónicas crónicas. En la prueba PCR practicada en los oviductos y ovarios, se determinó la presencia de material genético del *Mycoplasma spp* en las muestras de dos vaquillas, por lo que se concluye que la micoplasmosis es la causa de la salpingitis y por lo tanto de la infertilidad. Los resultados obtenidos se compararon con los reportados en la literatura especializada, siendo coincidentes las lesiones reportadas con las descritas en este trabajo. Varios autores reportan que el *M. bovis* puede afectar diversos tejidos, incluyendo los del tracto reproductor como los oviductos, ocasionándoles inflamación, con la consiguiente pérdida de su luz y la imposibilidad para que la fertilización se lleve a cabo. Debido a que no existe un tratamiento efectivo que revierta las lesiones ocasionadas por la micoplasmosis, las recomendaciones están encaminadas a la prevención.

INTRODUCCIÓN

La reproducción de los bovinos depende del funcionamiento correcto del aparato reproductor y repercute en la producción de leche (24). La infertilidad en las vacas y novillas comprende uno de los problemas más costosos en la producción lechera (16). Las enfermedades ginecológicas son la causa más común de infertilidad en las vacas y vaquillas (35). Anteriormente, la infertilidad era atribuida a las disfunciones uterinas y de los ovarios. Fueron Carpenter y cols (1921), Spriggs (1945) y Lombard y cols. (1951) quienes describieron las anomalías del oviducto al realizar la necropsia de vacas infértiles (20). La mayoría de los problemas se diagnostican en hembras adultas, por lo que las infecciones del tracto reproductor, en especial la contaminación del útero con microorganismos patógenos o potencialmente patógenos posee una gran importancia. Estas infecciones se presentan cuando concurren diversos factores predisponentes, relacionados con la higiene, el manejo, el tipo de parto, la atención del puerperio, entre otros (10).

La infección uterina puede establecerse por cualquiera de las tres vías de transmisión de las infecciones: ascendente, descendente y hematógena, siendo las más importantes la ascendente y la hematógena. La vía ascendente es la más común en las fases tempranas de la gestación. Los microorganismos pueden entrar por la vagina o ser depositados directamente en el útero durante la cópula o la inseminación artificial (10).

La contaminación bacteriana del útero es un evento posparto que ocurre en un porcentaje elevado de las vacas altas productoras en sistemas intensivos y que puede dar lugar al desarrollo de patologías uterinas (metritis aguda séptica, endometritis clínica y subclínica, piometra y salpingitis), con la consecuente disminución de la fertilidad (34).

De acuerdo con Filatova y cols (2021), los estudios realizados han comprobado que las infecciones bacterianas que causan inflamación del útero y oviductos (endometritis y salpingitis) son comunes en las vacas lecheras y afectan la fertilidad. Reportan que la incidencia de estas patologías es de 21% y que en las vacas altas productoras son ocasionadas por los microorganismos que forman parte de la microbiota, los cuáles se asocian con agentes patógenos o potencialmente patógenos y hongos. Encontraron que en un 82% el útero y oviductos están contaminados por varios microorganismos oportunistas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, y *Streptococcus pyogenes*; y aislaron *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* y *Candida crusei* en animales con endometritis y salpingitis (11).

Dentro de las bacterias patógenas que afectan al útero bovino en el posparto están la

Escherichia coli, *Trueperella pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum*, *Prevotella spp* y *Bacteroides spp*. Cuando una bacteria patógena infecta al útero, las células endometriales, así como células inmunitarias, muestran respuestas inflamatorias rápidas a las bacterias patógenas o sus factores de virulencia, tales como el lipopolisacárido (LPS), secretando prostaglandina E2, interleucina (IL)-1, IL-6 e IL-8. Las células epiteliales del oviducto también producen respuestas inflamatorias a los LPS, aumentando la expresión del Factor de Necrosis Tumoral α e IL1B. Las células de la granulosa de los folículos ováricos secretan IL-1B, IL-6 e IL-8 como respuesta a los LPS. Recientemente se ha demostrado que los transcriptomas¹ del endometrio, oviducto y de las células de la granulosa se altera aún después de tres meses de haber inducido la infección uterina a través de la infusión de bacterias patógenas en vaquillas Holstein vírgenes (19).

La vía hematógena adquiere mayor importancia hacia el final de la gestación. El microorganismo patógeno puede entrar al organismo materno a través del aparato digestivo (*Brucella abortus*, *Salmonella*, *Leptospira*, *Listeria*), o de la mucosa nasal o conjuntival (rinotraqueitis infecciosa bovina, leptospirosis, parainfluenza, diarrea viral bovina); en todo caso siempre existe una bacteria o viremia materna antes de que se produzca la invasión al útero, a la placenta y al feto (10).

La vía descendente es la más rara y consiste en el descenso de una infección desde los oviductos hacia el útero, pudiendo ocurrir en casos de peritonitis (10).

Dentro de las patologías del tracto reproductor de las vacas, el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades de los oviductos y estructuras paraováricas no han sido estudiados suficientemente. Hay trabajos que muestran que pasan desapercibidas y no se diagnostican clínicamente. Los datos de prevalencia reportados por varios investigadores que utilizaron a la palpación rectal varían significativamente desde el 1 hasta el 30%, debido a que estos órganos son pequeños y se localizan profundamente en la cavidad pélvica y solamente cuando se incrementa su talla o rigidez de manera significativa pueden ser reconocidos por medio de la palpación rectal. Además, no se ha estudiado suficientemente la histología de estas estructuras en condiciones normales y patológicas, aunque esto tiene particular importancia para el desarrollo práctico de métodos de diagnóstico, tratamiento y prevención de las patologías reproductivas en las vacas (35).

¹ La suma total de todas las moléculas de RNA de los genes del organismo.

Anatomía y fisiología del aparato reproductor de la hembra bovina

El aparato reproductor no solo produce ovocitos, también provee el ambiente necesario para que se fertilicen y se lleve a cabo el desarrollo embrionario y fetal. Entre las funciones del aparato reproductor femenino se encuentran:

- Producir los gametos femeninos
- Producir hormonas para el funcionamiento y control de los órganos reproductivos.
- Transportar el gameto masculino para poder fertilizar el ovocito y brindar un sitio de implantación.
- Facilitar la fertilización.
- Proporciona un lugar seguro y óptimo para el crecimiento del embrión y feto.
- Dar luz a la descendencia
- Nutrir a la descendencia en los primeros días de vida (2).

Está constituido por dos ovarios, dos tubos uterinos u oviductos, el útero, la vagina, el vestíbulo vaginal, y los genitales externos conformados por la vulva y el clítoris. Las glándulas mamarias también forman parte de este sistema, aunque no se encuentran en la cavidad pélvica y dependiendo de la especie tienen diferente localización (2, 12).

Ovarios

Son glándulas anfícrinas, producen hormonas que liberan al torrente sanguíneo y células (ovocitos) que liberan desde su superficie durante la ovulación (12); se localizan en la región lumbar a la entrada de la cavidad pélvica, cranealmente a la arteria ilíaca externa; son de forma elipsoidal parecidos a una almendra, miden 3.5 x 2.5 x 1.5 cm y están suspendidos del mesovario. En el ovario encontramos una zona cortical (parenquimatosa, de superficie irregular donde hay folículos y cuerpos lúteos) y una zona medular vascularizada (3).

Ligamento ovárico y uterino

El mesovario contiene a la arteria ovárica (que sale de la aorta) y emite lateralmente al delgado mesosalpinx que sostiene al oviducto. El borde craneal del mesovario es el ligamento suspensorio del ovario. Caudalmente el mesovario se continúa con el mesometrio. El mesovario, el mesosalpinx y el mesometrio forman el ligamento ancho del útero que contiene músculo liso (3).

La zona parenquimatosa está ocupada por folículos ováricos primarios, secundarios y terciarios (2), además de células intersticiales que tienen una función endocrina (12).

Tubos uterinos

También son llamados oviductos (12). Son órganos tubulares que sirven como conductos para que el ovocito transite del ovario al útero, encontramos un par de ellos, uno conectado al ovario derecho y otro al ovario izquierdo (1).

El oviducto es un conducto delgado, firme y en espiral, tiene 2 a 3 mm de diámetro y 20 a 25 cm de longitud, que vincula al ovario con el extremo del cuerno uterino. El diámetro del oviducto aumenta considerablemente en el polo anterior en forma de embudo para dar lugar al infundíbulo o bolsa ovárica, (7, 13). El oviducto es tortuoso y junto con el mesovario rodea al ovario craneal y lateralmente, formando la bolsa ovárica que tiene una abertura craneoventral amplia (3). Está revestido por una membrana mucosa con muchos pliegues, cubierta primariamente con un epitelio ciliado simple. Durante el estro, las células no ciliadas se tornan activamente secretoras. El resto de la pared del oviducto incluye la submucosa de tejido conectivo y una capa de músculo liso. Tanto los cilios como el movimiento del músculo contribuyen en el movimiento del ovocito y posiblemente en el de los espermatozoides. El oviducto, como el resto del tracto genital, externamente se encuentra revestido de peritoneo, y es sostenido por el mesosalpinx (12), el cual se une al ligamento del mesovario para formar la bolsa ovárica (7).

El tubo uterino se divide en tres porciones: infundíbulo, ampolla e istmo. El infundíbulo es la parte más craneal dirigida al borde libre del ovario, al cual rodea, mide 8 a 12 cm de ancho y 4 a 6 cm de profundidad. Se presenta como un ensanchamiento parecido a un embudo, el borde se encuentra festoneado formando fimbrias algunas de las cuales se adhieren al ovario (2).

El infundíbulo, al parecer es importante durante la ovulación para dirigir al óvulo hacia el tubo uterino (12; 13).

La ampolla forma la parte media y más larga del tubo uterino y caudalmente va reduciendo su calibre para construir el istmo que corresponde a la porción caudal del tubo el cual se conecta con el ápice del cuerno uterino por medio del orificio uterino del oviducto (2).

El oviducto tiene varias tareas cruciales, que incluyen el transporte del espermatozoide y el ovocito, además de brindar un microambiente propicio para la maduración del gameto, la fertilización y el desarrollo temprano del embrión. Cualquier cambio indeseable como la salpingitis (infección e inflamación del oviducto) podría impactar negativamente sus funciones (26, 34).

Útero

Órgano muscular encargado del mantenimiento embrionario y fetal a lo largo de la gestación, es distensible de tal manera que se extiende durante la gestación e involuciona al término de ésta. Su tamaño depende del número de gestación, edad, y tiempo de gestación, y se encuentra casi en su totalidad dentro de la cavidad abdominal. Está suspendido en la cavidad del cuerpo por los ligamentos anchos que se unen a las paredes pélvicas y abdominales. El útero consta de dos cuernos largos, un cuerpo corto y un cuello uterino (2). Los cuernos miden 30 a 40 cm de longitud, se enrollan de craneoventral a caudodorsal y se unen caudalmente formando un doble cilindro de 10 a 15 cm de longitud. Los cuernos están unidos dorsal y ventralmente por el ligamento intercornual. El cuerpo del útero mide solo 2 a 4 cm de longitud (3), se encuentra entre la cavidad abdominal y pélvica, entre el recto (dorsalmente) y la vejiga urinaria (ventralmente), tiene forma cilíndrica y está ligeramente comprimido dorsoventralmente. La pared del útero consta de tres capas: el perimetrio constituido por tejido conectivo, formado por el peritoneo; el miometrio conformado por músculo liso y el endometrio hecho de mucosa, que está salpicado de glándulas uterinas (1). La mucosa del útero forma pliegues longitudinales y transversales, y en cada cuerno uterino hay cuatro filas de 10 a 15 carúnculas ovaladas y de diversas tallas, las cuales pueden alcanzar el tamaño de un puño durante la gestación. El número total de carúnculas en el útero es de 100 aproximadamente (3).

El cuello uterino o cérvix es una estructura similar a un esfínter y se encuentra cerrado de manera normal, exceptuando el momento del estro y el parto, formando una barrera entre el medio ambiente y el útero (1,30). El canal cervical comienza en el orificio interno del útero y termina en el orificio externo, en la porción vaginal del cérvix. Tiene de 8 a 10 cm de longitud, se distingue del cuerpo uterino y la vagina por su consistencia firme (3) y tiene de 2 a 3 anillos anulares (12).

Vagina

Órgano tubular de 25 a 30 cm de longitud, el cual se localiza entre el cérvix y la vulva, denominado el órgano copulatorio y también es el canal de parto; conformado por el fórnix, el vestíbulo vaginal, la vulva y el clítoris. Caudalmente al útero se forma un saco ciego denominado fórnix. La parte que se extiende desde la uretra externa hasta la vulva se denomina vestíbulo vaginal y en él desemboca el uréter (a unos 7 -11 cm de la comisura ventral de los labios vulvares) y es conducto del tracto reproductor y urinario (1). El divertículo suburetral se localiza ventralmente al orificio uretral. Podemos encontrar glándulas vestibulares, las cuales secretan líquido que facilita la cúpula al igual que el parto. La glándula vestibular mayor se encuentra cranealmente al músculo

constrictor del vestíbulo, tiene 3 cm de longitud y 1.5 cm de ancho y tiene 2 a 3 ductos menores que se encuentran en el piso del vestíbulo, cranealmente al clítoris. En el estro el olor de estas glándulas estimula sexualmente al macho (3).

Vulva

La vulva es el primer órgano externo, es la entrada al aparato reproductor femenino, conformada por dos labios musculares unidos ventral y dorsalmente, estos cubren el orificio de entrada denominado abertura vulvar (1).

Clítoris

El clítoris es el homólogo del pene en los machos, se encuentra en la comisura ventral de la vulva, consta de un cuerpo y un glande. Es tortuoso y mide alrededor de 12 cm de longitud (3).

Ubre

Se conforma por cuatro glándulas mamarias (epiteliales modificadas) que solo poseen los mamíferos (3).

Las glándulas mamarias se consideran el principal órgano genital externo de las hembras, desempeñan el papel de nutrir a las crías inmediatamente después del nacimiento. Estas se observan más desarrolladas en los bovinos, debido a que las glándulas se unen para formar un solo aparato, llamado "ubre" (1).

La primera secreción después del parto es el calostro, que tiene una alta concentración de anticuerpos, los cuales brindan inmunidad pasiva al recién nacido. La leche contiene proteínas, grasas, azúcares y minerales (calcio y fósforo). La producción de leche es muy importante desde el punto de vista económico (3).

Las cuatro glándulas mamarias de la ubre están unidas al cuerpo en la región inguinal y cada una tiene un pezón. Las glándulas derechas e izquierdas están separadas por un surco intermamario. La ubre se encuentra suspendida a través de las láminas (fascias) laterales y mediales que dan lugar al ligamento suspensorio (3).

Irrigación e inervación del tracto reproductor

Cranealmente, la arteria ovárica que emerge de la aorta irriga el ovario y emite una rama uterina que va al oviducto y porción craneal del cuerno uterino. El aporte sanguíneo del cuerpo y cuernos uterinos está dado por la arteria uterina, que es una rama de la arteria ilíaca interna. La porción caudal del útero, el cérvix y partes adyacentes de la vagina, reciben sangre de las ramas de la arteria vaginal que provienen de la arteria pudenda

interna. Las ramas más distales de la arteria pudenda interna irrigan la porción caudal de la vagina, la vulva y el ano. Todos estos vasos son bilaterales (12).

El drenaje venoso está dado por las venas que acompañan a las arterias y que drenan en la vena cava caudal. La inervación autónoma simpática llega desde el ganglio mesentérico caudal a través de los nervios hipogástricos. Las fibras parasimpáticas surgen desde algunos segmentos de la médula espinal sacra y llegan a los órganos del tracto reproductor a través de los nervios pélvicos. Los nervios pudendos y perineales (nervios somáticos) proveen inervación motora y sensorial, respectivamente, a los genitales externos (12).

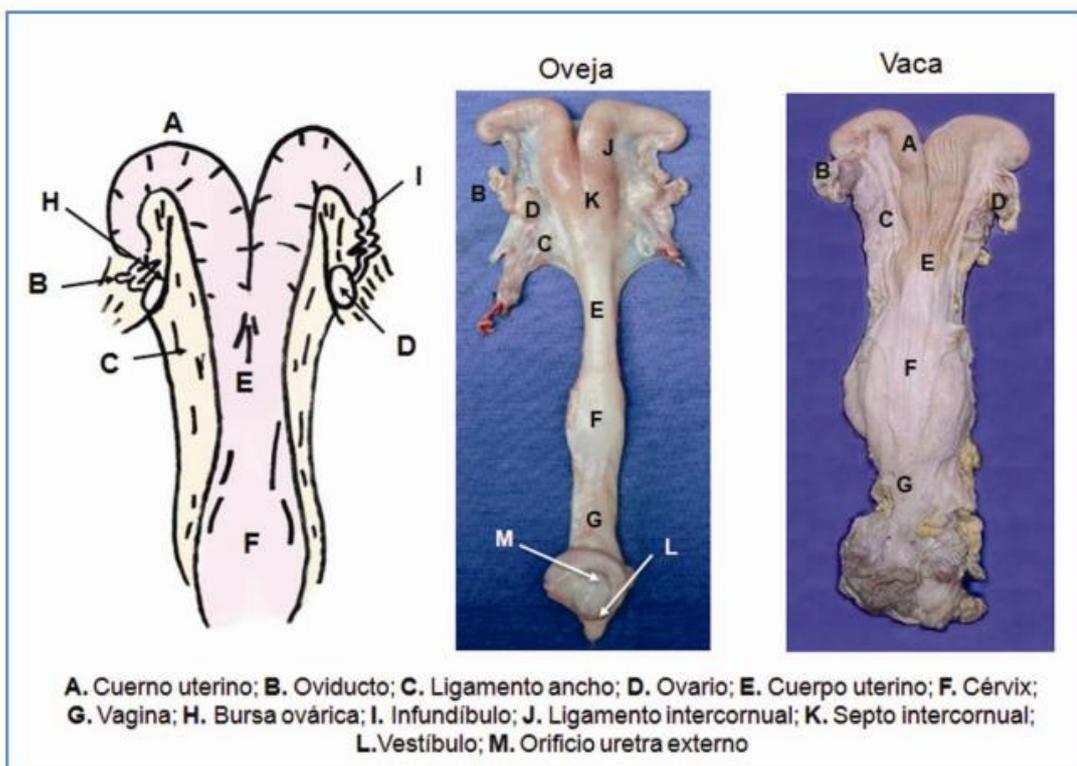


Figura 1. Esquema del aparato reproductor (30).

Salpingitis

Este trastorno es reconocido como la mayor causa de baja fertilidad en los humanos y animales (26) y entre las patologías reproductivas que ocasionan infertilidad en los bovinos están la endometritis y la salpingitis (34).

La salpingitis es la inflamación del oviducto; ocurre en todas las especies, pero es más frecuente en la vaca (14). Se caracteriza macroscópicamente por el engrosamiento de

las tubas uterinas. Las lesiones son frecuentemente bilaterales y microscópicamente se encuentran infiltradas por linfocitos, células plasmáticas y descamación de células epiteliales (36).

Etiología. La mayoría de las salpingitis obedecen a infecciones uterinas. Las salpingitis necróticas y granulomatosas se producen durante infecciones por *Truperella pyogenes*, *Mycobaterium tuberculosis* y *Brucella abortus*. La inflamación leve de las trompas uterinas que no suele ocasionar un daño permanente se da en infecciones uterinas por *Campylobacter fetus* subespecie *venerealis* y *Tritrichomonas foetus*. La salpingitis puede constituir una secuela de manipulaciones de los ovarios y trompas uterinas mediante palpación transrectal, recogida transvaginal del óvulo, e irrigación agresiva del útero infectado, o tratamiento inapropiado con hormonas estrogénicas (36).

Gustafsson, basado en hallazgos bacteriológicos y patológicos en novillas diagnosticadas clínicamente con infertilidad, atribuyó el origen de la salpingitis a la extensión directa de la endometritis a través del cérvix (10).

Los organismos pertenecientes al grupo de los micoplasmas se aislaron del tracto genital de los bovinos por primera vez en 1947 y se ubicaron en dos grupos: el patógeno (P) relacionado con la enfermedad y el saprófito (S) que contamina y no es patógeno. La cepa P fue identificada como *Mycoplasma* y la S como *Acholeplasma* (8).

Signos clínicos. La anamnesis habitual asociada a las enfermedades de las trompas uterinas revela infertilidad. Otros datos son las infecciones uterinas o los tratamientos traumáticos, como la irrigación uterina, enucleación de cuerpos lúteos o administración de estrógenos durante el funcionamiento del cuerpo lúteo. El piosálpinx se caracteriza por la acumulación segmentaria de pus dentro de la luz del oviducto tras el taponamiento mecánico de cualquiera de los extremos. Sigue normalmente a infecciones uterinas graves y puede complicarse con perimetritis y peritonitis localizada. El hidrosálpinx se caracteriza por la acumulación de moco fino dentro de la luz del oviducto. El hidrosálpinx y las adherencias a los tejidos peritubáricos constituyen secuelas comunes de la salpingitis crónica (36).

Diagnóstico. El diagnóstico de las lesiones moderadas se puede dificultar durante el examen físico, pero los hallazgos en los mataderos sugieren que las lesiones en los oviductos no son raras. Las adherencias entre el infundíbulo, el oviducto y los tejidos que le rodean pueden ser identificadas por palpación rectal. Las lesiones consistentes en adherencias entre el ovario, la bolsa ovárica, el oviducto y los tejidos circundantes se

pueden reconocer introduciendo dos o tres dedos en la bolsa ovárica a través del recto y rotando el oviducto entre los dedos y el pulgar. La identificación sencilla del oviducto durante la palpación transrectal se considera a veces indicativa de una anomalía. Pese a que la anamnesis de infertilidad después de algunas de las causas predisponentes pueda apuntar una lesión oviductal, el diagnóstico se establece mediante laparotomía exploratoria, peritoneoscopia o necropsia (36). Contrariamente a la palpación rectal, la ecografía no permite el estudio de los oviductos ni de las bolsas ováricas (7). En el estudio histológico se observan cambios inflamatorios en el ámpula y el infundíbulo, además de otras alteraciones como la extravasación de eritrocitos, la infiltración celular, la descamación epitelial, y la proliferación o dilatación de los oviductos (20). La salpingitis, piosalpinx, hidrosalpinx, oclusión, aplasia y otras microlesiones no son palpables por vía rectal y pueden ser la falla en la reproducción manifestándose como hembras repetidoras de causa desconocida, por lo que se requiere realizar la prueba de permeabilidad (22). La prueba consiste en introducir 60 ml de solución de rojo fenol (0.3g de rojo fenol y 4.2g de bicarbonato de sodio anhidro en 100ml de agua destilada) en cada cuerno uterino con intervalos de tiempo y con la ayuda de una sonda de dos vías para evitar la salida. Se recolecta la orina cada cierto tiempo y se observa si está teñida o no.

Diagnóstico diferencial. Las lesiones de los tejidos oviductales o perisalpingiales deben diferenciarse de otras causas de dilatación anómala como neoplasias ováricas, quistes paraováricos, enfermedad ovárica quística, y hematomas ováricos. Las neoplasias de los oviductos de los animales domésticos son extraordinariamente raras (36).

Pronóstico. El pronóstico de la salpingitis es reservado, principalmente cuando se acompaña de otras alteraciones como las adherencias, quistes, perimetritis o parametritis (14).

Tratamiento. El tratamiento de las enfermedades oviductales no suele resultar satisfactorio. Hay que instituir un tratamiento adecuado de las infecciones uterinas asociadas. Vale la pena establecer un período de reposo sexual si el animal tiene valor. La fecundación in vitro de óvulos recogidos de hembras afectadas constituye una opción terapéutica. Las hembras afectadas también pueden actuar como receptoras de embriones (36).

Prevención y control. Hay que evitar la manipulación traumática de los ovarios, la irrigación de la cavidad endometrial con grandes volúmenes de líquido (más de 100 ml en terneras o de 150 ml en vacas) o de sustancias químicas irritativas, y la administración de estrógenos a hembras en la fase lútea. Dada la frecuencia con que las anomalías oviductales se asocian a infecciones uterinas, la reducción en la prevalencia de estas últimas disminuye también el número de infecciones tubáricas (36).

Micoplasmosis

El *Mycoplasma bovis* se aisló por primera vez en Estados Unidos de Norteamérica en el año 1961 de un caso severo de mastitis. Debido a la movilización de ganado se ha diseminado la micoplasmosis a otros países y sólo Noruega y Nueva Zelanda se encuentran libres de esta enfermedad (23). En Nueva Zelanda, la importación de ganado se detuvo en el año 2014 para prevenir la importación del *M. bovis*, pero a pesar de esta medida se identificaron hatos positivos, por lo que el gobierno neozelandés ordenó el sacrificio de todos los animales de esos rebaños, medida que logró la eliminación del patógeno en ese país (28).

Los micoplasmas son microorganismos pertenecientes a la clase *Mollicutes*. Se caracterizan por carecer de pared celular. Tienen nueve géneros de los cuales 5 incluyen especies de interés veterinario. El género *mycoplasma* es el que recoge la mayoría de los patógenos animales (31). Los micoplasmas son las células procariotas más pequeñas y elementales capaces de autoreplicarse (5). La alta contagiosidad de algunos micoplasmas, la escasa respuesta al tratamiento y el desecho en los hatos, hacen que la rapidez del diagnóstico sea importante para que se establezcan las medidas de control y prevención durante los brotes (27).

Etiología. El *M. bovis* es un importante patógeno oportunista asociado con el Complejo Respiratorio Bovino (28). El *M. bovis* ocasiona enfermedad respiratoria que afecta la producción como resultado de la morbilidad, mortalidad, retraso en el crecimiento y como consecuencia provoca pérdidas económicas. Pero además está involucrado en otras patologías como la mastitis, artritis, otitis, queratoconjuntivitis y afecciones reproductivas (4, 23) como ooforitis, salpingitis, endometritis, aborto, seminovesiculitis (29, 33), vulvovaginitis, infertilidad y distocia, aunque estas manifestaciones se han reportado con menor consistencia. Otras especies de micoplasmas que son de interés en el ganado incluyen al *M. californicum*, *M. bovisgenitalium*, *M. bovirhinis*, *M. bovoculi*, *M. leachii*, *M. dispar*, *M. canis*, *M. canadense*, *M. alkalescens*, *M. argini* y *M. wenyonii* (27).

La primera prueba convincente de la patogenicidad del micoplasma en el tracto reproductor del bovino fue demostrada por Hartmann y col. (1964), quienes de manera experimental produjeron lesiones (varios grados de endometritis, salpingitis y salpingoperitonitis) en 7 de 8 vaquillas vírgenes inoculadas con *M. bovis* previamente aislado de la glándula mamaria (18).

Factores de virulencia del *M. bovis*. Un análisis de la secuencia genómica de algunos *M. bovis* revelan que carece de factores de virulencia como las toxinas, pero en su superficie poseen proteínas (que pueden jugar un papel importante en la evasión del sistema inmune) y adhesinas. Algunos micoplasmas producen biopelículas (una matriz compleja de polisacáridos y proteínas extracelulares) que lo protegen de la desecación, cambios de temperatura y en algunos casos, de la actividad antimicrobiana. Las estrategias que usa el *M. bovis* para evadir el sistema inmune incluyen la habilidad de penetrar y sobrevivir en numerosas células, incluyendo las células mononucleares de la sangre periférica, los macrófagos alveolares, eritrocitos y células epiteliales. El *M. bovis* modula el sistema inmune del huésped alterando la expresión de citoquinas, inhibiendo la proliferación de células mononucleares en la sangre periférica y reduciendo la apoptosis de éstas, de los monocitos y los macrófagos alveolares (28).

El estrecho contacto de los micoplasmas con las células del huésped, es crucial para su supervivencia, ya que al ser incapaces de sintetizar sustancias esenciales como los aminoácidos, nucleótidos y lípidos, las adquieren del huésped. En los terneros infectados con *M. bovis* se han encontrado los micoplasmas en el citoplasma de varios tipos de células: macrófagos, neutrófilos, hepatocitos, células epiteliales de los ductos biliares, células de los túbulos renales y en axones de los nervios faciales. El plasminogeno del *M. bovis* adicionalmente se ha detectado en monocitos, nódulos linfáticos y ocasionalmente en células del epitelio bronquiolar. El *M. bovis* libera metabolitos secundarios como el peróxido de hidrógeno que ocasiona la muerte celular, e inhibe la acción de los cilios y la peroxidación de los lípidos. Además, se sinergiza con otros agentes bacterianos (*Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Histophilus somni*) o virales como el virus respiratorio sincitial bovino (BRSV), herpesvirus bovino 1 (BHV-1), virus de la diarrea viral bovina (BVDV) y virus de parainfluenza 3 (4).

Signos clínicos. Los micoplasmas han sido asociados con las enfermedades tanto de humanos como de animales. Estos microorganismos tienden a localizarse y propagarse en el tracto reproductor, líquido articular y tracto respiratorio. En el ganado, el micoplasma se ha aislado del semen, descargas vaginales, descargas endometriales, oviducto, fetos abortados, secreciones de la ubre inflamada, descargas nasales y pulmones neumónicos. Los abortos, la fertilidad y tasas de concepción bajas, la

vulvogainitis, salpingitis y mastitis han sido asociados con la presencia de micoplasmas en el tracto reproductor de hembras y machos (15).

El *M. bovis* es capaz de producir inflamación subaguda y aguda en varios órganos como la ubre, las articulaciones (en terneros y ganado joven), y en el tracto respiratorio y reproductor. No hay evidencia de que los factores medioambientales influyen en el curso de la enfermedad, especialmente en los casos de mastitis y artritis. El cuadro de las patologías respiratorias y reproductivas causadas por *M bovis* es indistinguible de la neumonía enzoótica y de trastornos comunes de la fertilidad. Generalmente la severidad de la neumonía se incrementa cuando prevalecen infecciones secundarias por pasteurellas, estafilococos o estreptococos. En estas condiciones la neumonía es resistente a la terapia antimicrobiana. El período de incubación es de dos a seis días y no está claro por qué ciertos animales pueden portar la enfermedad sin desarrollar síntomas. Mientras que la incidencia de la neumonía puede ser del 100%, la infección del tracto reproductor solo se presenta en algunos individuos. De cualquier manera, la reducción en la ganancia de peso y la infertilidad ocasionan pérdidas económicas (29). Adicionalmente al *M. bovis*, otros micoplasmas incluyendo al *M. dispar*, *M. canis* y *M. bovigentialium* han estado implicados directamente en los cuadros de micoplasmosis. Otras bacterias como *Mannheimia haemolytica* e *Histophilus somni* contribuyen significativamente a los signos clínicos y lesiones patológicas del tracto respiratorio, pero la infección adicional por *M. bovis*, demostrada por la presencia del antígeno en lesiones crónicas, puede incrementar la mortalidad (23).

La infección natural con *M. bovis* produce bronconeumonía exudativa, con focos de necrosis exudativa ocasionalmente (4).

Transmisión. Experimentalmente y a través de los estudios de campo se ha revelado que hay una estrecha relación entre la infección de la vaca, del feto, del recién nacido y de los animales jóvenes, con la siguiente generación. Las vacas con mastitis le transmiten la enfermedad al feto a través del útero. Además, los terneros pueden infectarse a través de la leche o del medio ambiente. El agente es capaz de persistir en el tracto respiratorio, donde permanece en estado infectivo desde que el animal es joven hasta que madura y así lo transmite a la siguiente generación. Por otro lado, existe la posibilidad de transmisión horizontal en cualquier etapa. Parece que los micoplasmas conservan su virulencia todo el tiempo y se debe enfatizar que el *M bovis* se disemina principalmente por el comercio sin control de terneros y animales jóvenes infectados o el traslado de animales durante la cadena de producción, infectando de manera gradual a las poblaciones de una región en particular (29).

Diagnóstico. La aparición de las lesiones, signos clínicos y el diagnóstico morfo patológico descritos, es el primer indicio de la infección por micoplasma en un hato; los hallazgos postmortem también contribuyen al diagnóstico de esta enfermedad, pero solo con las pruebas específicas de laboratorio se llega al diagnóstico definitivo (29).

La identificación del micoplasma por medio del cultivo tiene serias limitaciones ya que si no se colectan y almacenan las muestras adecuadamente puede dar falsos negativos. Debido a su simplicidad estructural, el micoplasma es incapaz de sintetizar aminoácidos y es parcial o totalmente inhábil para sintetizar ácidos grasos, por lo que tiene una alta demanda nutricional y requiere de un medio de cultivo específico (enriquecido con una infusión de corazón de res, suero, extracto de levadura, peptona y otros suplementos con buffers para obtener el pH de requerido de 7.3 a 7.8). El aislamiento de los micoplasmas se ve comprometido por el sobrecrecimiento de otras bacterias, por lo que se deberán incorporar antimicrobianos o antibióticos. El medio inoculado se cultiva durante 7 a 10 días a 37.8°C y 5% de CO₂, lo que resulta en el crecimiento de microcolonias (visibles con el microscopio) con apariencia de “huevo frito” para la mayoría de las especies de micoplasma. Esta apariencia se da porque la porción central de la colonia se incrusta en el agar rodeado por un crecimiento superficial (27).

El cultivo se realiza en casos individuales, es de utilidad para la detección de varias especies de micoplasmas y se recomienda el medio de cultivo modificado de Hayflick, pero al ser una prueba que demora varios días en dar resultados, retrasa la implementación de las medidas de control (29).

El aislamiento de los micoplasmas a partir de las muestras clínicas, no confirma necesariamente su responsabilidad etiológica, ya que algunos micoplasmas se encuentran distribuidos ampliamente en la naturaleza. En aquellas zonas en las que las enfermedades por micoplasmas son endémicas, las características clínicas pueden hacer sospechar la presencia de un micoplasma patógeno determinado (31). Gran parte de los micoplasmas requiere colesterol o esteroles análogos para proliferar y son incapaces de sintetizar pirimidinas (5), por tal motivo requieren medios complejos, además de inhibidores de proliferación bacteriana tales como la penicilina para bacterias gram positivas y acetato de talio para gramnegativas. Los micoplasmas son anaerobios facultativos, y gracias a estas cualidades los cultivos pueden dar negativos o falsos positivos (31).

Para confirmar que el germen aislado es el *M. bovis*, se recurre a los métodos serológicos, de preferencia la epi-inmunofluorescencia o la prueba de inhibición de crecimiento. Los anticuerpos en la leche o la sangre pueden ser detectados por medio de hemaglutinación indirecta, a través de la técnica de inhibición de la película o del ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). La sensibilidad de esta última es

mayor que la de las otras y los resultados están disponibles en dos días. Hay dos factores que limitan el uso de ELISA: 1) los títulos de anticuerpos aparecen 10 a 14 días después del inicio de la enfermedad, por lo que el agente no puede ser detectado durante el período de incubación y 2) la sensibilidad de este método es insuficiente para identificar portadores (29).

El método diagnóstico más económico y rápido es la serología, en particular el de ELISA indirecta. El diagnóstico, con la utilización de los exámenes moleculares, actualmente es rápido. La prueba PCR, incluyendo RT-PCR (PCR con transcriptasa inversa) permite un diagnóstico en menor tiempo (menos de 24 horas) y confiable, pero solo es capaz de detectar una especie de micoplasma a la vez. La combinación PCR con DGCE (denaturing gradient gel electrophoresis), ha permitido la detección simultánea de cultivos mixtos así como de especies nuevas o no cultivables, aunque es un método laborioso. La tecnología de micromatrices de ADN brinda muchas de las ventajas de la DGCE, pero en un formato más amigable para el usuario que permite una detección altamente específica de diferentes especies bacterianas y/o genes al mismo tiempo, con buena sensibilidad, facilidad de operación y costos asequibles comparables con la PCR (23).

Ventajas y desventajas de los métodos de diagnóstico de los micoplasmas

Método diagnóstico	Ventajas	Desventajas
Cultivo	<ul style="list-style-type: none"> ● Económico ● Puede detectar la mayoría de las especies de Micoplasma 	<ul style="list-style-type: none"> ● . Requerimientos complejos para el crecimiento ● . Incapaz de distinguir entre Mycoplasma spp y Acholeplasma spp, lo que da como resultado falsos positivos ● . Incapaz de distinguir entre las diferentes especies de Micoplasma ● . Alta exigencia en el almacenamiento y manejo de las muestras para mantener la viabilidad del microorganismo ● . El animal debe estar eliminando el organismo al momento del muestreo

<p>PCR</p>	<ul style="list-style-type: none"> • El organismo no tiene que estar viable porque se detecta su DNA • Rápido • Puede diferenciar diferentes especies de micoplasmas • Puede diferenciar al Micoplasma del Acholeplasma 	<ul style="list-style-type: none"> • Costosa • Muchas PCR son específicas de una especie de micoplasma por lo tanto no detectan otras especies • El animal debe estar eliminando el organismo al momento de tomar la muestra
<p>ELISA</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Mide la respuesta de los anticuerpos, por lo que el animal no necesita estar eliminando al organismo al momento de tomar la muestra • Solo se requieren muestras de sangre o leche para evaluar la respuesta inmune • Los anticuerpos permanecen durante varios meses 	<ul style="list-style-type: none"> • Incertidumbre alrededor de la reacción cruzada con otros organismos • La seroconversión puede tomar 2 a 3 semanas antes de que los anticuerpos sean detectados • Se sugiere que tiene pobre sensibilidad

Modificado de Parker et al, 2018 (27).

Tratamiento, prevención y control. El tratamiento y control son complicados debido a que los antibióticos como las penicilinas y las cefalosporinas no son eficaces contra el micoplasma porque carece de pared celular. Numerosos estudios demuestran que hay cepas que han incrementado su resistencia a los antibióticos comúnmente utilizados, incluyendo las fluorquinolonas. Los dos factores más importantes en el tratamiento de la neumonía por micoplasma son el diagnóstico temprano y la aplicación de antibióticos durante 10 a 14 días para evitar las recaídas. Otro enfoque es la metafilaxia, en la que el tratamiento se aplica a todo el grupo de animales cuando 10% al 20% muestran signos clínicos, los cuales incluyen orejas caídas, descarga nasal, fiebre, ojos llorosos y tos seca (23).

La identificación, aislamiento o desecho de los animales que portan el agente es importante para evitar que se disemine la enfermedad (29). No existen vacunas eficaces para prevenir la micoplasmosis, por lo que las medidas de manejo y tratamiento son cruciales para el control. Ya que la enfermedad se disemina por el contacto directo y continuo, una correcta ventilación y densidad de población, puede interrumpir el brote. Debe considerarse el desecho, o al menos el aislamiento de los animales con enfermedad crónica (23). La prevención y control solo se han logrado al reemplazar

totalmente el ganado infectado con animales provenientes de áreas libres de *M. bovis* (28).

¿Cómo llegar a establecer el diagnóstico definitivo de una enfermedad?

El diagnóstico es una de las tareas fundamentales de los médicos y la base para una terapéutica eficaz. En sí mismo no es un fin sino un medio, e indispensable para establecer el tratamiento adecuado (9).

Para hacer un diagnóstico, el profesional de la salud seguirá un cuidadoso proceso paso a paso para descartar trastornos que comparten los síntomas hasta determinar cuál es la causa más probable de la enfermedad. Este proceso se llama hacer un diagnóstico diferencial. (*Diagnóstico Diferencial: Prueba De Laboratorio De MedlinePlus*, 2023).

El diagnóstico se basa en el análisis de datos seguros. El razonamiento sólo será válido cuando descanse sobre nociones exactas y hechos precisos. Es indispensable exponer algunas premisas básicas sobre las que se apoya el diagnóstico médico:

La anamnesis: es la base fundamental para el diagnóstico de los problemas de salud de nuestros pacientes. Del 50 al 75 % de los diagnósticos se hacen por el interrogatorio.

El examen físico: complementa al interrogatorio, los signos físicos son "marcas" objetivas y verificables de la enfermedad y representan hechos sólidos e indiscutibles. Su significado es mayor cuando confirman un cambio funcional o estructural ya sugerido por la anamnesis.

Asociación de los síntomas y signos: los médicos tratamos de agrupar los síntomas y signos para realizar el ejercicio diagnóstico, para ello construimos determinadas asociaciones: tríadas, tétradas, y sobre todo, síndromes (9).

La aparición de una patología en el hato genera pérdidas económicas debido al desecho y al costo del diagnóstico, por lo que el clínico debe aplicar un método eficiente para determinar los factores que contribuyen al desarrollo de la enfermedad, proponer medidas de control y prevenir pérdidas futuras:

- Inicialmente, el clínico debe definir el problema para determinar la importancia de los factores de riesgo. Esta definición se reevalúa y afina conforme se vaya obteniendo más información, realizando una historia clínica detallada, examinando los registros o material fotográfico, observando las instalaciones y el manejo, y analizando los resultados de los estudios practicados.
- Luego se elabora una hipótesis para enumerar las posibles causas de la enfermedad y avanzar en la investigación, con la finalidad de identificar los factores de riesgo determinantes que deben ser manejados, considerando las

características de los animales afectados (edad, sexo, raza), cuando y en donde se enfermaron. El clínico debe recabar toda la información relevante de cada uno de los animales afectados: número de identificación, edad, raza, origen, tipo de alimentación y alojamiento, antecedentes patológicos, vacunas y tratamiento aplicados.

- El examen clínico, la toma de muestras y la necropsia brindan datos adicionales para probar la hipótesis.
 - Durante el examen clínico se identifican los signos y lesiones de la enfermedad a través de los métodos de exploración física o por medio de ecografía y se toman muestras para enviar al laboratorio (sangre, orina, heces, secreciones, etc.). La correcta toma e identificación de muestras reduce el riesgo de perder información relevante.
 - Es importante realizar la necropsia ya que los resultados del examen macroscópico y del estudio histopatológico pueden ser críticos para llegar al diagnóstico. Se deben enviar los tejidos de todos los sistemas de importancia para el estudio histopatológico, en vez de muestrear solo las anormalidades evidentes. Las muestras se deben enviar en cantidad suficiente, dentro de recipientes adecuados y en condiciones de almacenamiento o preservación apropiados. Es importante fotografiar las lesiones.
- Los resultados obtenidos se analizan para realizar un reporte final de la investigación, el cual deberá incluir el diagnóstico y las recomendaciones para resolver y prevenir el problema. Dentro de las recomendaciones se puede incluir cambios a las instalaciones, la capacitación, la cuarentena de los animales afectados o sospechosos, la vacunación, el tratamiento y en casos extremos el desecho (37).

Estudio histológico

Es de utilidad practicar el estudio histológico para investigar las enfermedades, ya que provee de información crucial para llegar al diagnóstico definitivo porque se puede visualizar al agente, confirmar las lesiones ocasionadas por un agente (como las ocasionadas en los pulmones u otros tejidos que fueron positivos a la PCR para un determinado agente patógeno, o para proveer de información adicional como el grado de cronicidad (17).

El clínico debe considerar que el manejo y la fijación apropiada del tejido permite un examen histopatológico eficiente, por lo que debe:

- Obtener el número de muestras necesarias (en caso de pulmones muestrear el tejido lesionado, tejido sano y límites de la lesión, lo que ayuda a determinar el proceso de la enfermedad).
- Fijar el tejido en suficiente formalina.
- Proporcional al patólogo una historia clínica con suficiente información.
- Fijar las muestras de 10 mm de grosor en formalina al 10%. La cual penetra aproximadamente 1 mm de tejido por hora. El tejido debe quedar sumergido en el formol, para lo cual por cada volumen de tejido se deben agregar 10 volúmenes de formalina.
- Tomar primero las muestras de los tejidos que se lisan con mayor rapidez, por ejemplo, intestino (17).

Diagnóstico molecular

De las cuatro clases de moléculas orgánicas que componen la estructura física básica de todos los seres vivos, los ácidos nucleicos son las únicas moléculas que transportan información con instrucciones replicables. Dichos ácidos se diferencian de los lípidos, los hidratos de carbono e incluso de las proteínas por su capacidad para organizar la unidad básica de la vida: la célula. Alteraciones muy leves en las moléculas de ADN o ARN pueden romper el delicado equilibrio entre salud y enfermedad. El diagnóstico molecular intenta identificar las variaciones y mutaciones en el material genético que causa un posible trastorno en la complicada organización del organismo. Desde una perspectiva amplia, la era del diagnóstico molecular de las enfermedades infecciosas se inició en 1983, cuando el Dr. Kary Mullis, de Cetus Corporation, conceptualizó por primera vez la reacción en cadena de la polimerasa o PCR por sus siglas (6).

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Fue descubierta a mediados de 1980 y permanece como uno de los desarrollos más importantes de la biología molecular (21). Desde la introducción de la PCR, el diagnóstico de las enfermedades infecciosas se ha situado al frente de la medicina molecular, con el compromiso de detectar los patógenos contagiosos de un modo más

seguro y sensible y con el fin de ayudar a controlar su dispersión (6). La adaptación de esta técnica para ser usada con tinciones fluorescentes y sondas etiquetadas, que permite la medición de la amplificación de ácidos nucleicos en tiempo real (PCR en tiempo real) ha tenido un gran impacto en los laboratorios de diagnóstico veterinario. La PCR en tiempo real (PCRtr) aplicada en el diagnóstico veterinario es compleja e incluye la toma y envío de muestras, preparación de las muestras, extracción del ácido nucleico, amplificación, análisis y reporte. Una ventaja de la PCRtr es que no requiere de un paso adicional para visualizar la amplificación, lo cual disminuye el tiempo de análisis y reduce el riesgo de contaminación; los objetivos amplificados no necesitan un proceso o manejo adicional. La sensibilidad extrema de la técnica, que puede detectar pocas copias de ácido nucleico, requiere un estricto control de calidad para asegurar precisión, como recientemente lo explican Loyd y colaboradores:

- Las técnicas de PCRtr han sido desarrolladas para la detección de numerosos patógenos, muchas de las cuales son ensayos multiplexados que permiten examinar varios objetivos en la misma muestra, por lo que simplifican los informes y reducen los costos de la prueba. Sin embargo, existen algunas limitaciones, ya que se debe llevar a cabo una optimización robusta para asegurar que no se produzca una amplificación del objetivo preferencial. Puede dar resultados falsos negativos para algunos objetivos de pocas copias, cuando se amplifica en presencia de un positivo fuerte, lo que ocurre con frecuencia en algunos síndromes de enfermedades como las bacterias asociadas con la enfermedad respiratoria bovina.
- Para garantizar un rendimiento uniforme del ensayo, los laboratorios de diagnóstico veterinario suelen incluir un control positivo interno de pocas copias que es una fuente exógena de ácido nucleico que se puede medir para garantizar que no haya inhibidores en la muestra y que la extracción de ácido nucleico se realizó como se esperaba. Este control positivo interno también es útil para evaluar la presencia de amplificación preferencial en ensayos multiplexados, ya que se puede evaluar la amplificación del control de copia baja.
- La extensión del desarrollo, validación y accesibilidad de la PCRtr han hecho que estén disponibles numerosas pruebas para el diagnóstico en rumiantes en los laboratorios de diagnóstico veterinario. La investigación continúa brindando datos significativos al asociar los resultados de estas pruebas tanto con las pruebas clásicas como con las investigaciones a nivel de campo.
- La interpretación de los resultados varía de acuerdo con la enfermedad, el patógeno y tipo de muestra. Los resultados pueden no estar directamente relacionados con

el diagnóstico clínico o los resultados del cultivo, especialmente cuando hay patógenos oportunistas en sitios con flora normal (21).

Ventajas de las pruebas moleculares

Las pruebas diagnósticas como la PCR permiten proceder a una determinación más rápida y precisa de la presencia de un agente infeccioso, lo que facilita la consecución de un mejor pronóstico, favorecido por la instauración temprana de un tratamiento más etiológico y la posibilidad de proceder a un control cuantitativo de la supervisión del tratamiento, aunque las pruebas de base molecular son más costosas que las tradicionales, su impacto global dará lugar a una reducción de los costes terapéuticos generales. Las indicaciones básicas para el uso de una prueba molecular son su rapidez y su exactitud. En comparación con los cultivos tradicionales para bacterias, rickettsias, hongos y virus, las pruebas moleculares permiten detectar el patógeno diana en un tiempo mucho menor. Debido a su rapidez, las técnicas de PCR permiten reemplazar a los cultivos de agentes infecciosos de cultivo difícil o, de hecho, inviables. Las pruebas moleculares aventajan a las pruebas serológicas, porque detectan un agente infeccioso antes de que se produzca una respuesta inmunitaria y de que se desarrolle un título de anticuerpos detectable. Los métodos de análisis molecular son más fiables a la hora de detectar la replicación temprana de los virus y permiten proceder a una valoración epidemiológica más rápida y a establecer de forma más inmediata el tratamiento (6).

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Las producciones lecheras tienen que contar con un programa reproductivo para mantener el nivel de producción, ya que debe existir una gestación para posteriormente tener un parto y así llegar a la producción láctea. La salpingitis es un trastorno inflamatorio de los oviductos que puede producir la pérdida de la luz del tubo uterino ocasionando infertilidad, debido a que no permite el paso de los espermatozoides o impide que el gameto llegue a la zona de implantación.

Considerando que en las producciones lecheras intensivas los problemas reproductivos (infertilidad) son de gran impacto debido a las grandes pérdidas económicas, es que se buscó detectar el agente causal de la salpingitis para proponer las medidas de control y prevención de la salpingitis en las novillas.

Este trabajo se realizó a petición del propietario del Rancho Cantarranas ubicado en el municipio de Teoloyucan Estado de México, quien solicitó se determinara la causa de la salpingitis en vaquillas vírgenes diagnosticadas a través de la palpación rectal y ecografía.

Se practicó la necropsia a las seis novillas de la raza Holstein diagnosticadas con salpingitis, anotando las lesiones macroscópicas del salpinx y estructuras anexas, así como del tejido pulmonar.

En el manejo reproductivo que se da en el rancho se practica una revisión semanal, la cual se realiza por medio de la palpación rectal y por ecografía. Al momento de revisar a las becerras se palpó aumento de volumen en los tubos uterinos y a través de la ecografía se confirma la inflamación. Debido a este problema se decide enviar al rastro a las novillas, y así realizar la necropsia, y envío de muestras para su estudio. En el examen macroscópico se observaron lesiones crónicas en el pulmón y oviducto, por lo que se solicita realizar las pruebas de PCR para determinar la presencia de material genético de *Mycobacterium sp.* y el examen histológico para determinar las características de las lesiones.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Determinar la etiología de la salpingitis en las novillas, mediante ensayos de biología molecular, y diagnosticar la salpingitis mediante examen histológico.

Objetivos específicos

- Proponer las medidas de control y prevención de la salpingitis en novillas para evitar el desecho prematuro del ganado y las pérdidas económicas.
- Evaluar las lesiones histopatológicas de la salpingitis.

MATERIALES Y METODOLOGÍA

MATERIALES

- 6 vaquillas de la raza Holstein diagnosticadas con salpingitis a través de la palpación rectal y la ecografía
- Guantes de nitrilo
- Bisturí, tijeras y pinzas de disección
- Frascos de vidrio con tapa hermética
- Formol 10%
- Bolsas resellables 26.8 cm x 27.3 cm
- Etiquetas

METODOLOGÍA

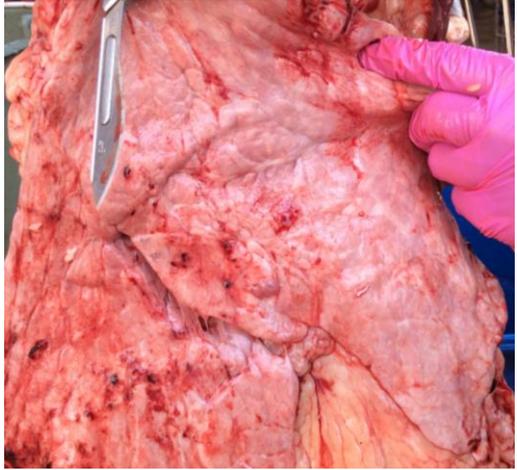
- Este trabajo se realizó en un hato lechero ubicado en San Bartolo Teoloyucan, Estado de México, en el que se han presentado problemas de infertilidad en vaquillas de 13 o más meses de edad. Se estudiaron seis novillas diagnosticadas con salpingitis a través de la palpación rectal y la ecografía.
- Se practicó la necropsia a las seis novillas de la raza Holstein diagnosticadas con salpingitis, anotando las lesiones macroscópicas del salpinx y estructuras anexas, así como del tejido pulmonar. Tablas 1 y 2.
- Del tracto reproductor se tomaron muestras de ambas uniones útero-tubales, oviductos y ovarios; una se colocó en un frasco con formol 10% y la otra en una bolsa de plástico resellable para someterla a congelación.
- Del tejido pulmonar con lesiones visibles se tomaron muestras de 1.5 cm cuadrados, las cuáles se colocaron en frascos con formol 10%.
- Las muestras fijadas en formol y las sometidas a congelación fueron remitidas al laboratorio de diagnóstico veterinario (Dimevet) para que se practicara estudio histológico y prueba PCR, respectivamente.
- Los resultados obtenidos se analizaron y compararon con la información encontrada en las fuentes bibliográficas.

Tabla 1. Datos de las vaquillas de la raza Holstein diagnosticadas con salpingitis y a las que se les practicó la necropsia.

Número de identificación	Edad	Antecedentes clínicos y tratamientos aplicados	Lesiones encontradas durante la necropsia	
			Tracto reproductor	Tracto respiratorio
3859	19 meses	Se inseminó en 6 ocasiones sin quedar preñada Se diagnosticó con salpingitis por medio de ecografía	Salpingitis* bilateral	Pleuritis Zonas de atelectasia en lóbulo craneal derecho Enfisema en lóbulo craneal izquierdo
3866	19 meses	Se inseminó en 8 ocasiones sin quedar preñada. Se diagnosticó con salpingitis por medio de ecografía.	Salpingitis bilateral.	adherencias del lóbulo craneal izquierdo, atelectasia pulmonar.
3874	19 meses	Se diagnosticó neumonía a los dos meses de edad. Tratamiento con florfenicol y tilosina. Se inseminó en 7 ocasiones sin quedar preñada. Se diagnosticó salpingitis por medio de ecografía.	Salpingitis bilateral.	Enfisema pulmonar, congestión.
4068	17 meses	Se inseminó en 5 ocasiones sin quedar preñada Se diagnosticó salpingitis por medio de ecografía	Salpingitis.	Adherencias pleurales, congestión y atelectasia del lóbulo craneal derecho.
4071	17 meses	Se inseminó en 6 ocasiones sin quedar preñada Se diagnosticó salpingitis por medio de ecografía	Salpingitis bilateral	Adherencias pleurales
4084	17 meses	Se inseminó en 6 ocasiones sin quedar preñada Se diagnosticó salpingitis por medio de ecografía	Salpingitis bilateral	Zonas atelectásicas. Adherencias de la pleura pulmonar al pericardio.
3472	22 meses	Se diagnosticó neumonía a los 2 meses de edad. Se inseminó en 7 ocasiones sin quedar preñada.	Salpingitis	Pleuritis y enfisema pulmonar

		Se diagnosticó salpingitis por medio de ecografía.		
--	--	--	--	--

*salpingitis = oviductos cuyo diámetro está visiblemente incrementado, de consistencia fibrosa a la palpación.

LESIONES MACROSCÓPICAS	
OVIDUCTOS	PULMONES
	
Salpingitis (vaquilla 4084)	Atelectasia pulmonar (vaquilla 4084)
	
Salpingitis bilateral (vaquilla 4071)	Adherencias pleurales (vaquilla 4071)

	
Salpingitis (vaquilla 3859)	Pleuritis, atelectasia y enfisema (vaquilla 3859)

Tabla2. Imágenes macroscópicas de las necropsias realizadas.

RESULTADOS

Tabla 3. Resultados del examen histológico del tracto reproductor

Número de identificación	Descripción microscópica	Diagnóstico morfológico
3472	<p><u>Ovario:</u> SCPA</p> <p><u>Oviducto:</u> El epitelio presenta hiperplasia difusa, leve, acompañada de ocasionales linfocitos. El citoplasma de las células epiteliales en ocasiones se encuentra distendido por múltiples vacuolas. La submucosa del oviducto se encuentra expandida por abundante infiltrado inflamatorio difuso compuesto por linfocitos y macrófagos. Además, se observan focos de fibrosis difusa leve en la submucosa. Existe congestión y engrosamiento marcado de la túnica media de los vasos sanguíneos.</p>	Salpingitis linfocítica difusa severa crónica
4068	<p><u>Ovario:</u> Se encuentran múltiples folículos atrésicos, además existen folículos marcadamente dilatados (quísticos) que contienen en su luz un material homogéneo eosinofílico.</p> <p><u>Oviducto:</u> La submucosa del oviducto presenta múltiples dilataciones quísticas que a menudo contienen un material homogéneo eosinofílico, en ocasiones son visibles focos inflamatorios con leve a moderada cantidad de linfocitos y macrófagos.</p>	Hidrosalpinx Quistes foliculares ováricos Salpingitis linfocítica difusa leve, crónica.
4407	<u>Ovario:</u> Sustituyendo el tejido normal del ovario, se	Luteoma

	<p>encuentra abundante celularidad, parcialmente delimitada, no encapsulada organizada en nidos frecuentemente separados por un fino estroma fibrovascular. Las células son de apariencia epitelioide, redondas a ovaladas, el núcleo es ovalado a redondo, ocasionalmente pleomórfico, de cara abierta con 1-3 nucleolos evidentes, el citoplasma es escaso a moderado, eosinofílico, vacuolado y de bordes indistinguibles. Existe anisocitosis y anisocariosis moderada, así como una cuenta mitótica de 3-4 mitosis por campo (40x). Así mismo, se aprecia una zona extensa de necrosis coagulativa y hemorragias.</p> <p><u>Oviducto:</u> La submucosa muestra dilataciones quísticas de diferentes tamaños, cuyo contenido es homogéneo y eosinofílico.</p>	Hidrosalpinx
3859	<p><u>Oviducto:</u> El epitelio presenta hiperplasia difusa. El citoplasma de las células epiteliales en ocasiones se encuentra distendido por múltiples vacuolas. La submucosa del oviducto se encuentra expandida por moderado infiltrado inflamatorio difuso compuesto por linfocitos y macrófagos, este mismo infiltrado en ocasiones se encuentra en la zona perivascular. Existe congestión y engrosamiento marcado de la túnica media de los vasos sanguíneos.</p>	Salpingitis linfocítica difusa leve crónica vasculitis linfocitaria leve.
4071	<p><u>Oviducto:</u> El epitelio presenta denudación y focos de hiperplasia moderada. La submucosa se encuentra engrosada por abundante infiltrado inflamatorio compuesto por linfocitos y macrófagos.</p>	Salpingitis linfocítica difusa severa crónica.
4084	<p><u>Oviducto:</u> La submucosa se encuentra expandida por múltiples estructuras quísticas que contienen un material homogéneo y eosinofílico.</p>	Hidrosalpinx

Tabla 4. Resultados del examen histológico del tracto respiratorio

Número de identificación	Descripción microscópica	Diagnóstico morfológico
3472	<p>Pulmón: Se observa hiperplasia focal moderada del tejido linfoide asociado a bronquios. El espacio intersticial exhibe leve infiltrado linfocitario difuso, hiperplasia de neumocitos tipo 2 difusa moderada, así como edema y congestión multifocal moderada</p>	<p>Neumonía Broncointersticial linfocítica difusa severa crónica activa con hiperplasia del tejido linfoide asociado a bronquios</p> <p>Edema y congestión difuso moderado.</p>

4068	<p>Pulmón: Existe hiperplasia multifocal moderada del tejido linfoide asociado a bronquios, hiperplasia de epitelio bronquial y bronquiolar y desprendimiento del epitelio. Los septos alveolares se encuentran engrosados por infiltrado linfocitario difuso moderado, también se aprecia hiperplasia de neumocitos tipo 2 y atelectasia.</p>	Neumonía broncointersticial linfocítica difusa moderada crónica con hiperplasia del tejido linfoide asociado a bronquios.
4407	<p>Pulmón: Se aprecian focos discretos con hiperplasia del tejido linfoide asociado a bronquios, hiperplasia del epitelio bronquial y bronquiolar. Existe edema focal moderado, congestión difusa e infiltrado inflamatorio multifocal leve compuesto por neutrófilos y células mononucleares. De forma difusa se encuentra hiperplasia de neumocitos tipo 2</p>	Neumonía broncointersticial supurativa difusa leve crónica activa
3859	<p>Pulmón: Los alvéolos presentan hiperplasia difusa leve de neumocitos 2. Existe un foco de necrosis coagulativa, mezclada con células mononucleares y ocasionales neutrófilos. Se observa edema y congestión focal.</p> <p>Nódulo linfático: SCPA</p>	Neumonía broncointersticial linfocítica difusa, moderada crónica. necrosis coagulativa difusa moderada.
4071	<p>Pulmón: Los alvéolos exhiben hiperplasia multifocal moderada del tejido linfoide asociado a bronquios, hiperplasia del epitelio bronquial, así como hiperplasia leve de neumocitos tipo 2, infiltrado mononuclear difuso y atelectasia.</p> <p>Nódulo linfático: El parénquima del nódulo linfático presenta edema e hipoplasia linfoide difusa moderada.</p>	<p>PULMÓN: Neumonía broncointersticial linfocítica difusa moderada crónica con hiperplasia del tejido linfoide asociado a bronquios.</p> <p>NÓDULO LINFÁTICO: hipoplasia linfoide difusa moderada, edema difuso moderado.</p>
4084	<p>Pulmón: Engrosamiento de las paredes alveolares por hiperplasia de neumocitos tipo 2 moderada e infiltrado linfocitario leve.</p> <p>Nódulo linfático: El parénquima del nódulo linfático muestra edema difuso e hipoplasia moderada difusa.</p>	<p>PULMÓN: neumonía intersticial linfocítica difusa leve crónica.</p> <p>NÓDULO LINFÁTICO: hipoplasia linfoide difusa moderada. edema difuso moderado</p>

Anexo 1.



Fotomicrografías caso: DXE23-061-066

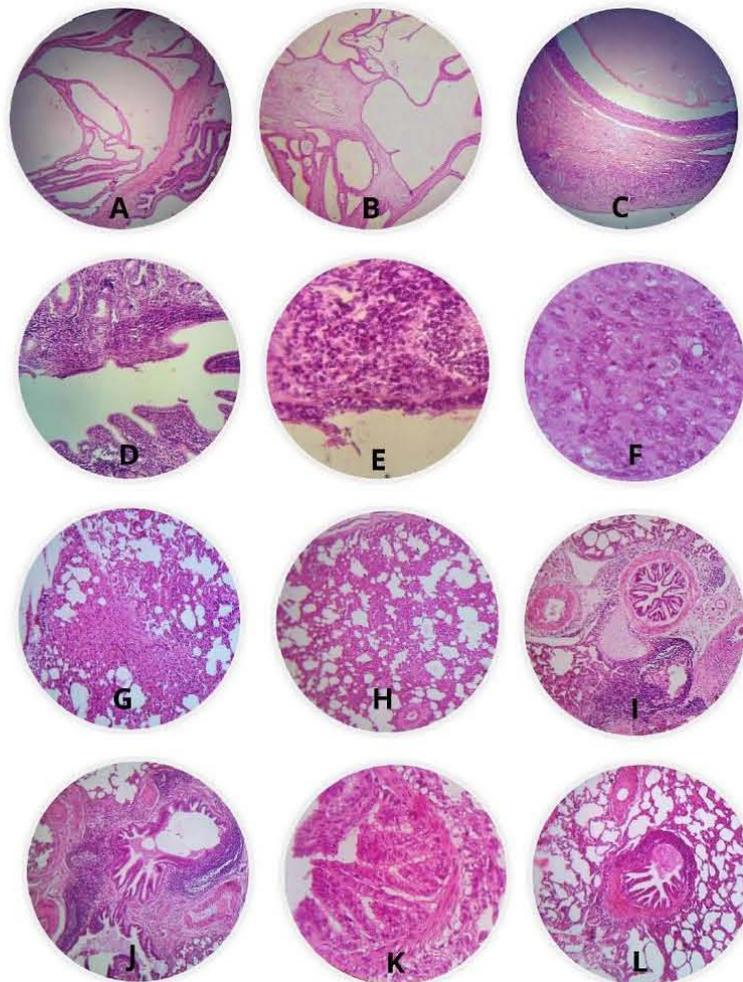


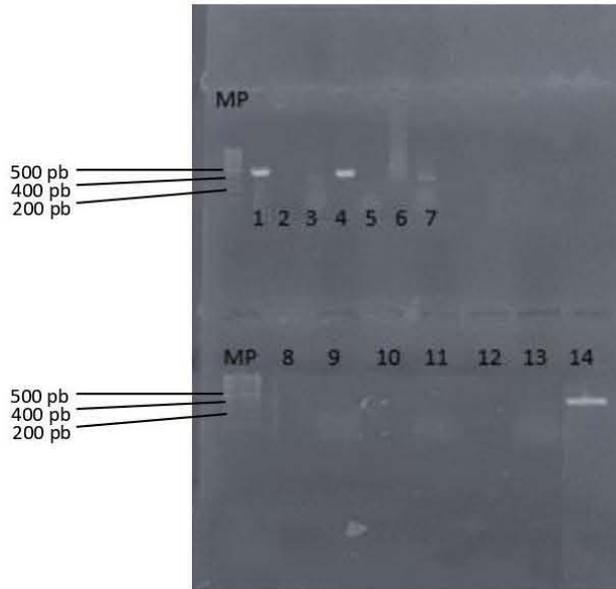
Fig1. A-L, Fotomicrografía de secciones histológicas de pulmón y ovario H&E. A y B: Hidrosalpinx. **C:** Quiste folicular en ovario **D:** Infiltrado inflamatorio linfocitario difuso severo. **E:** Salpingitis con desprendimiento de la mucosa. **F:** Luteoma. **G y H:** Infiltrado inflamatorio mononuclear difuso severo y engrosamiento de la pared alveolar por hiperplasia de neumocitos tipo 2. **I, J y K:** Hiperplasia moderada del tejido linfoide asociado a bronquios, hiperplasia del epitelio bronquial. **L:** Peribronquiolitis linfoplasmocítica severa.

Página 6 de 6

N° de identificación	Indicadores (primers)	Tamaño del fragmento	Ovario	Pool de oviducto y útero
3472	5'-TATTGGATCAACTGCTGGAT-3' 5'-AGATGCTCCACTTATCTTAG-3'	447 Pb	Negativo (M5)	Negativo (M6)
4068			Negativo (M3)	Negativo (M4)
4407			Negativo (M1)	Negativo (M2)
3859			Negativo (11)	Positivo (M12)
4071			Negativo (M9)	Negativo (M10)
4084			Positivo (M7)	Negativo (M8)

Tabla 5. Resultados de la PCR para diagnóstico de Micoplasmosis del tracto reproductor

Anexo 1. Gel teñido con Bromuro de Etidio; se muestran reacciones positivas, Marcador de peso (MP) y control positivo.



Distribución de muestras:

MP. Marcador de peso

1. 4084 (M7)
2. 4084 (M8)
3. 3859 (M11)
4. 3859 (M12)
5. 4068 (M3)
6. 4068 (M4)
7. Control negativo
8. 3472 (M5)
9. 3472 (M6)
10. 4407 (M1)
11. 4407 (M2)
12. 4071 (M9)
13. 4071 (M10)
14. Control positivo

DISCUSIÓN

El diagnosticar micoplasmosis en el examen clínico inicial es sumamente difícil ya que como se citó anteriormente es una bacteria que se encuentra en el tracto respiratorio y actualmente muchas enfermedades presentan signos similares, por tal motivo es importante realizar estudios precisos para su diagnóstico.

Doig (1981) reporta que hay evidencia de la correlación que existe entre la micoplasmosis diagnosticada serológicamente y la infertilidad, lo que coincide con lo encontrado en este estudio.

Hirth y cols (1966) encontraron lesiones microscópicas en los oviductos de vaquillas inoculadas con *M. bovis* similares a las de este estudio: engrosamiento de la submucosa y mucosa con presencia de focos linfocíticos, pequeños quistes con exudado y presencia de tejido conectivo fibroso, que dan lugar a la salpingitis crónica e hidrosalpinx.

Mohammed y Amin (2015), estudiaron vacas con patologías en los oviductos, y para el caso de la salpingitis crónica, encontraron alteraciones histológicas similares a las de este estudio: erosión de la capa mucosa de revestimiento ocasionada por la infiltración de células inflamatorias (linfocitos) en la lámina propia.

En uno de los ovarios de la vaquilla 4407 se determinó la presencia de un luteoma, que como describe Rojas y cols. (2021), se trata de una neoplasia benigna del estroma de los cordones sexuales, que se origina a partir de células especializadas del ovario (encargadas de la producción de estrógenos y progesterona); que se presentan generalmente de forma unilateral y usualmente son de aspecto lobulado, de consistencia firme y tienen una coloración blanco-amarillenta en la superficie. Esta neoplasia puede ser hormonalmente activa, cursando con comportamientos reproductivos anormales, tales como anestro persistente, estro intermitente o continuo y/o masculinización. Histológicamente se trata de una neoplasia cortical multilobulada, bien delimitada y no encapsulada, que comprime parcialmente el parénquima y estroma adyacente. Está compuesta por islotes de células poligonales que se distribuyen entre septos finos de colágeno. Las células neoplásicas tienen citoplasmas amplios y finamente vacuolados, con núcleos ovoides, moderadamente cromáticos y homogéneos, que no exhiben atipia ni mitosis.

Pfützner y Sachse (1996) reportan que el *M. bovis* ha sido aislado a partir de muestras de órganos internos (útero) de vacas sacrificadas y de fetos abortados durante y después de la mastitis, pero no asocian las lesiones neumónicas ocasionadas por *M. bovis* con aquellas presentes en los oviductos.

En 1997, Nunoya y col. describieron los hallazgos histopatológicos en un brote ocasionado por *M. gallisepticum* en gallinas, que provocó salpingitis en ciertos animales. Entre las lesiones que observaron se destaca el engrosamiento de la pared del oviducto asociada al edema, la hiperplasia epitelial y la intensa infiltración linfocitaria de la mucosa, la muscular y la serosa. Además, encontraron lesiones en los sacos aéreos y la tráquea. Estos investigadores sugieren que la infección por *M. gallisepticum* se transfirió a los oviductos probablemente de manera mecánica desde la aerosaculitis abdominal, aunque los animales afectados no mostraron enfermedad respiratoria significativa. El estudio referido coincide de cierta manera con los resultados de este trabajo de tesis, ya que a pesar de que las novillas no mostraban un cuadro respiratorio, en el tejido pulmonar se encontraron lesiones de carácter crónico que sugieren la infección por *Mycoplasma sp*, por lo que, las lesiones encontradas en el oviducto de las aves estudiadas coinciden con las del estudio histopatológico practicado en los oviductos de las novillas.

Bürki y col. (2015) sugieren que la invasión de las células epiteliales y del sistema inmune puede contribuir a la diseminación del *M. bovis* a diferentes sitios del huésped y a alterar el control de la infección con antimicrobianos, por lo que recomiendan analizar los mecanismos moleculares involucrados en la persistencia de este patógeno en diferentes tipos de células bovinas, lo que podría explicar la presencia del *M. bovis* en los oviductos.

Contrariamente a lo que cita DesCôteaux acerca de que “la ecografía no permite el estudio de los oviductos”, el diagnóstico ecográfico de salpingitis realizado en las vaquillas estudiadas, se valida con los hallazgos macroscópicos de la necropsia y las alteraciones histológicas reportadas en este trabajo.

CONCLUSIONES

Las lesiones encontradas en el examen histopatológico: salpingitis linfocitaria crónica e hidrosalpinx son las lesiones asociadas a la infertilidad en las vaquillas incluidas en este estudio.

Las seis vaquillas presentaban lesiones pulmonares crónicas, compatibles con neumonía por micoplasma.

Se determinó la presencia de material genético de *Mycoplasma sp* en dos muestras de tracto reproductor (salpinx y ovario), lo que indica que este microorganismo se encuentra involucrado en los cuadros de salpingitis e infertilidad en las novillas incluidas en el presente trabajo.

Haber hallado material genético de *Mycoplasma sp* en el hisopado nasal de una becerra de 4 meses de edad nos indica que la micoplasmosis está presente en el hato. Esto sugiere que la infección por micoplasma puede extenderse hacia otros aparatos incluyendo el reproductor.

Con los resultados obtenidos en este estudio podemos apreciar que, a pesar de los avances en las técnicas diagnósticas veterinarias, particularmente la biología molecular, el practicar el estudio histológico es de mucha utilidad, ya que permite identificar lesiones características producidas por un agente determinado.

Para comprobar la causa de las patologías presentes en un hato es importante además del diagnóstico clínico, realizar la necropsia y toma de muestras para su estudio, con la finalidad de determinar con precisión la causa de la enfermedad y así establecer los tratamientos y medidas preventivas adecuados.

Cabe destacar que en vaquillas que presentaron otros problemas reproductivos como quistes foliculares o leuteoma y dieron negativo a micoplasma el agente causal de la infertilidad puede o no puede ser micoplasma.

RECOMENDACIONES

La micoplasmosis es una enfermedad compleja para la cual en estados avanzados de diseminación generalizada no hay tratamiento. Cuando se diagnostica de manera temprana y no se observa diseminación a otros órganos o sistemas es de difícil tratamiento, por lo que se debe dar prioridad a las medidas de control y prevención.

1. Para evitar la diseminación de la enfermedad deberá evitarse en lo posible la introducción de animales.
2. Los animales que manifiesten signos clínicos de neumonía, otitis, artritis, afecciones reproductivas o mastitis deberán ser aislados y estudiados.
3. Uso de desinfectantes (cloro, clorhexidina o yodo) en los utensilios e instalaciones.
4. Buenas prácticas de manejo para disminuir el estrés y preservar la inmunidad.
5. Programas de vacunación para evitar coinfecciones.
6. Tratamiento de animales enfermos (procesos agudos) con tulatromicina 2.5 mg/kg por vía subcutánea, dosis única; florfenicol 20 mg/kg, por vía intramuscular, 2 dosis con intervalo de 48 horas; o marbofloxacin 2 mg/kg, por vía intramuscular, cada 24 horas, 3 a 5 aplicaciones. Y aplicación de antiinflamatorio no esterooidal (meloxicam, ketoprofeno o meglumina de flunixin).

BIBLIOGRAFÍA

1. Ashdown, R. R., Done, S. H. (2011) Atlas en color de anatomía veterinaria. Rumiantes. 2ª ed. Barcelona: Elsevier.
2. Bhamburkar, V. R. (2021). Veterinary Anatomy: The Regional Gross Anatomy of Domestic Animals. New Delhi, New India Publishing Agency.
3. Budras, K. D., Habel, R. E., Wünsche, A. & Buda, S. (2003). Bovine Anatomy, An Illustrated Text. Hannover: Schlütersche GmbH & Co.
4. Bürki, S., Frey, J., Pilo, P. (2015). Virulence, persistence, and dissemination of *Mycoplasma bovis*. Veterinary Microbiology 179: 15–22.
5. Carter, G. R., Chengappa, M. M. (1994). Bacteriología y Micologías Veterinarias. Aspectos Esenciales, 2ª ed. México: El Manual Moderno.
6. Crossley, B. M., Hietala, S. K. Molecular testing for infectious diseases in Cattle, Sheep, and Goats in Smith, B.P. (2015) Large Animal Internal Medicine. St Louis Missouri: Elsevier. Pp. 422-425.
7. DesCôteaux, L. (2009). Guide pratique d'échographie pour la reproduction des ruminants. Paris: éditions MED'COM.
8. Díaz, J., Gallego, B., León, A. (2006). El diagnóstico médico: bases y procedimientos. Rev Cubana Med Gen Integr 22(1).
9. Doig, P. A. (1980). Bovine Genital Mycoplasmosis. Can Vet J 22: 339-343.
10. Fernández, A., Silveira, E. A., López. O. F. (2006). Las infecciones uterinas en la hembra bovina. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET Vol. VII (10).
11. Filatova, A. V., Firsov, G. M., Loshchinin, S. O., Akhmadov, V. T., and Fayzulina, N. S. (2021). Bacterial and mycotic factors in the pathogenesis of latent endometritis and salpingitis in cows and a decrease in the sanitary quality of milk. BIO Web of Conferences 36, 06036. Disponible en: [Bacterial and mycotic factors in the pathogenesis of latent endometritis and salpingitis in cows and a decrease in the sanitary quality of milk \(bio-conferences.org\)](https://www.bio-conferences.org/conferences/36/06036) Consultado el 18 de julio de 2023.
12. Frandson, R. D., Wilke, W. L. & Dee Fails, A. (2009). Anatomy and Physiology of Farm Animals, 7th ed. Wiley-Blackwell.
13. Getty, R (1975). The Anatomy of Domestic Animals, 5th ed. Philadelphia: WB Saunders. Pp. 946.
14. González, E., Márquez, M (2015). Compendio de Fisiopatología de la Reproducción Animal. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Agraria. Nicaragua.
15. Hamdy, A. H & Miller C.C. (1971). Antibiotics for Bovine Mycoplasmas. Journal of Dairy Science 54(10): 1541-1544.

16. Herrera, A. (2013). Problemas reproductivos en bovinos [Tesis de Licenciatura]. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
17. Hille, M. M., Sillman, S. J., & Brodersen, B. W. (2023). The Role of Histopathology in Ruminant Diagnostics. *Vet Clin Food Anim* 39: 73 – 91.
18. Hirth, R. S., Nielsen, S. W., & Plastridg, W. N. (1966). Bovine Salpingo-oophoritis Produced with Semen Containing a *Mycoplasma*. *Path. vet.* 3: 616-632.
19. Horlock, A. D., Piersanti, R. L., Ramírez, R., Yu, F., Ma, Z., Jeong, K. C., Clift, M. J., Block, j., Santos, J. E., Bromfield, J. J. (2020). Uterine infection alters the transcriptome of the bovine reproductive tract three months later. *Reproduction* 160, 93– 107.
20. Koike, T. & Kawata, K. (1959). Studies on the tubal patency of the cow I. Experiments made with slaughterhouse materials. *Jap J Vet Res* 7(2): 61-70.
21. Loy, J. D., Clawson, M. L., Adkins, P. R. F., Middleton, J. R. (2023). Current and Emerging Diagnostic Approaches to Bacterial Diseases of Ruminants. *Vet Clin Food Anim* 39: 93–114.
22. Mohammed, M. O. & Amin, F. A. S. M. (2015). Retrospective study of uterine tubes pathological abnormalities in slaughtered non pregnant cows in Sulaimani Province. *Assiut Vet. Med. J.* 61(147): 164-170.
23. Nicholas, R. A. J. (2011). Bovine mycoplasmosis: silent and deadly. *Veterinary Record*, 168: 459-462.
24. Noakes, D. E., Parkinson, T. J., England, G. C.W. (2001). *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*, 8th ed. China: Saunders.
25. Nunoya, T., Kanai, K., Yagihashi, T., et al. (1997). Natural case of salpingitis apparently caused by *Mycoplasma gallisepticum* in chickens. *Avian Pathology* 26: 391-398.
26. Owbor, L. E., Reese, S., Kölle S. (2019) Salpingitis Impairs Bovine Tubal Function and Sperm-Oviduct Interaction. *Sci Rep* 9: 10893. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6659645/> Consultado el 25 de enero de 2023.
27. Parker, A. M., et al. (2018). A review of mycoplasma diagnostics in cattle. *J Vet Intern Med* 32: 1241-1252.
28. Perez, J. (2020). Pathogenesis and Virulence of *Mycoplasma bovis*. *Vet Clin Food Anim* 36: 269–278
29. Pfützner, H. & Sachse, K.(1996). *Mycoplasma bovis* as an agent of mastitis, pneumonia, arthritis, and genital disorders in cattle. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 15 (4), 1477-1494.

30. Porras A, I. Paramo R, M. Manual de prácticas de reproducción animal, (2009) Universidad Nacional Autónoma de México, Pp14.
31. Quinn, P. J. (2005). Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias, 2ª. Ed. Zaragoza, Acribia.
32. Rojas, M., Peña, J., Buitrago, D., Henao, A. M. (2021). Neoplasia ovárica (Luteoma) en una Suricata (*Suricata suricatta*). Rev MVZ Córdoba 26(2):e1994. Disponible en: <https://revistamvz.unicordoba.edu.co/article/view/e1994/3362> Consultado el 18 de julio de 2023.
33. Rosenbusch, R. F., Kinyon, J. M., Apley, M., et al. (2005). In vitro antimicrobial inhibition profiles of *Mycoplasma bovis* isolates recovered from various regions of the United States from 2002 to 2003. J Vet Diagn Invest 17:436–441.
34. Sadeghi, M., Azari, M., Kafi, M., Nourani, H., Ghaemi, M., Najafi, M., Eshghi, D. (2022). Bovine salpingitis: Histopathology, bacteriology, cytology and transcriptomic approaches and its impact on the oocyte competence. Animal Reproduction Science 242. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2022.107004> Consultado el 15 de enero de 2023.
35. Skovorodin, E., Bogolyuk, S., Yurina, A. (2022). Clinical, laboratory, and morphological diagnosis of diseases in the oviducts and paraovarian structures of cows. Can Vet J 86: 194-202.
36. Troedson, M. H. T & Christiensen, B. W. Diseases of the Reproductive System in Smith, B. P. (2015) Large Animal Internal Medicine. St Louis Missouri: Elsevier. Pp. 1233-1234.
37. Waldner, C. L., & Campbell, J. R. (2015). Herd Health Investigations in P. D. Cockcroft (Ed.) *Cattle Practice in Bovine Medicine*, 3rd ed. pp 117-123. Oxford: Wiley Blackwell.