

ESTUDIO DE MICOPLASMAS Y BACTERIAS AEROBIAS EN LA VAGINA CRANEAL DE HEMBRAS CANINAS CLÍNICAMENTE SANAS

M. A. Stornelli^{1,3}, R. O. Cerdá², M.C. Gobello³, M.S. Arauz¹, N.O. Stanchi²

¹Laboratorio Central. ²Cátedra de Microbiología. ³Cátedra de Clínica de Pequeños Animales. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata

RESUMEN: La flora bacteriana presente en la vagina de hembras caninas posee un discutido rol en las enfermedades reproductivas de esta especie, por lo tanto y para contribuir al esclarecimiento de este aspecto, se realizó un estudio de los microorganismos vaginales en 33 perras sanas. Las muestras fueron tomadas mediante hisopo cubierto y procesadas siguiendo las marchas bacteriológicas indicadas para bacterias aerobias y Micoplasmas. Se aislaron microorganismos a partir de 30 muestras, siendo 3 negativas. En 12 muestras se aislaron Micoplasmas, estando en 8 asociados a otras bacterias. Los resultados obtenidos se correlacionaron con los mencionados en la bibliografía. La flora microbiana vaginal podría jugar un rol activo en la fertilidad canina.

PALABRAS CLAVES: Canino flora vaginal Micoplasma.

STUDY OF MYCOPLASMAS AND AEROBIC BACTERIA IN THE CRANIAL VAGINA OF HEALTHY BITCHES

ABSTRACT: Assuming the controversial role of vaginal bacterial flora in reproductive diseases of the bitch, a bacteriological study of the vagina of 33 healthy bitches was carried out. Samples were taken by covered swabs and processed as usual indication for aerobic bacteria and mycoplasma. Microorganisms were isolated from 30 of the sample, 3 resulted negative. Mycoplasmas were isolated from 12 bitches in which 8 were associated with bacteria. Result were correlated with those mentioned in bibliography. Vaginal microflora could play a central role in canine fertility

KEY WORDS: bitch, vaginal flora, Mycoplasma.

Fecha de Recepción: 15/07/99

Fecha de Aprobación: 18/05/00

Dirección para correspondencia:

M.A. Stornelli, Laboratorio Central. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata CC 296 (B1900AVW) La Plata, Argentina. Tel/Fax: (0221) 4257980 E-mail: astornel@fcv.medvet.unlp.edu.ar.

INTRODUCCIÓN

La flora bacteriana normal de la vagina canina está representada por una gran variedad de especies entre las que se encuentran: *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp* (α , β hemolíticos y no hemolíticos), *Escherichia coli*, *Pasteurella spp*, *Proteus spp*, *Corynebacterium spp*, *Pseudomonas spp*, *Klebsiella spp* y *Mycoplasmas spp*. (1, 2, 3)

Aproximadamente el 60 % de las perras normales alberga bacterias aeróbicas en la vagina craneal y el 90 % en la vagina caudal (1). Si bien se considera que los microorganismos mencionados son potencialmente patógenos no se han encontrado diferencias entre los gérmenes aislados de perras normales o infértiles (4).

El desarrollo de gérmenes en cultivo puro puede relacionarse con su implicancia en procesos de enfermedad (3, 4). Tanto los Micoplasmas, como los Ureaplasmas han sido relacionados con infertilidad, muerte embrionaria, aborto y mortalidad neonatal, (4, 5, 6). La única bacteria aislada de vagina que debe ser considerada patógena estricta es *Brucella canis* (3, 6).

El objetivo de este trabajo fue estudiar la relación existente entre el aislamiento de Micoplasmas en forma pura y asociado a microorganismos aeróbicos en la vagina de hembras caninas normales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales. El estudio se realizó sobre 33 hembras caninas clínicamente sanas que fueron atendidas en el consultorio externo de la Cátedra de Clínica de Pequeños Animales de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata.

El examen clínico de rutina se llevó a cabo con especial atención al aparato genital. Se realizó un hemograma completo a cada animal, encontrándose todos ellos dentro de los parámetros normales.

Muestras. Se tomaron 2 muestras del fondo de vagina de cada perra, mediante el uso de hisopos cubiertos (Britania, Argentina), los cuales se colocaron en medio de transporte de Stuart hasta su procesamiento en el laboratorio. Un hisopo se destinó al aislamiento de Micoplasmas y el restante al de bacterias aeróbicas.

Aislamiento de Micoplasmas. Uno de los hisopos utilizados en la toma de muestra, se inoculó en una placa con medio de Frey la cual se incubó a 37° C en cámara húmeda durante 4 a 7 días hasta la observación de colonias típicas de Micoplasmas mediante el uso de lupa estereoscópica. Las cepas aisladas se clonaron 3 veces y se conservaron en medio líquido de Frey a 20° C (7).

Aislamiento y caracterización de bacterias aerobias. Con el segundo hisopo obtenido de cada animal, se realizó un extendido para la observación microscópica directa mediante tinción de Gram. Posteriormente se sembraron placas de agar eosina azul de metileno (EMB) y de agar sangre (ovina) las que se incubaron a 37 °C (8). Las placas de Petri que no presentaron desarrollo bacteriano al cabo de 48 horas se consideraron negativas. A partir de las placas en las cuales se observó desarrollo bacteriano, se siguió la marcha bacteriológica para su identificación de acuerdo a Barrow *et al* (8).

Aislamiento y caracterización de *Mycoplasmas sp*.

Pruebas bioquímicas. Sobre las cepas clonadas se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas de acuerdo a los métodos ya descriptos (9, 10): ensayo de requerimiento de colesterol, fermentación de la glucosa, hidrólisis de la arginina, actividad de la fosfatasa, reducción del tetrazolium, detección de la producción de «film & spot».

Pruebas serológicas. Para la caracterización final de las cepas aisladas se llevó a cabo la prueba de Inhibición del Crecimiento (IC) descripta por Clyde (11), en la cual se emplearon sueros anti *M. canis* PG14 y anti *M. spumans* PG13 preparados en conejos con cepas de referencia NTCC de acuerdo a la técnica descripta por Senterfit (12).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos se expresan en los gráficos I y II. De un total de 33 muestras procesadas, 16 (48,5 %) desarrollaron un solo tipo de bacteria aeróbica, 2 (6,1 %) desarrollaron más de un tipo de bacteria aeróbica, 8 (24,2 %) desarrollaron Micoplasmas asociados a estos microorganismos, 4 (12,1 %) desarrollaron Micoplasmas en forma pura y 3 (9,1 %) no desarrollaron bacterias.

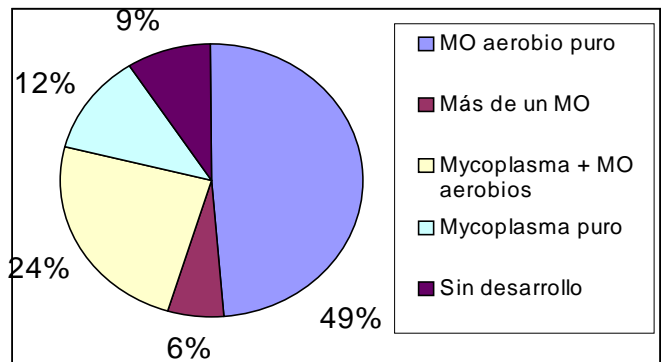


Gráfico I: Resultado de aislamiento vaginal. MO: Microorganismo

Graphic II: Results of vaginal isolation. MO: Microorganism

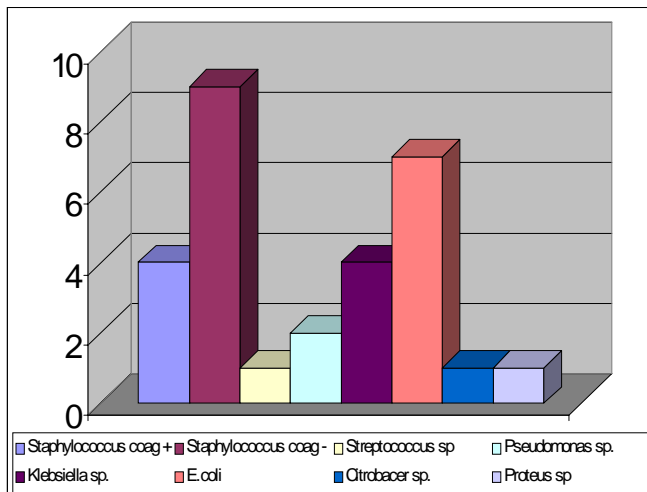


Gráfico II: Porcentaje de aislamiento de bacterias aeróbicas

Graphic II: Isolation of aerobics bacteria in percentage.

Las cepas de Micoplasmas aisladas fueron 10 *Mycoplasma canis* (83,3 %) y 2 *Mycoplasma spumans* (16,7 %).

DISCUSIÓN

De las muestras procesadas a partir de animales clínicamente sanos se obtuvo un 36,4 % de aislamientos de *Mycoplasmas spp.*, los cuales fueron caracterizados como *M. canis* (83 %) y *M. spumans* (17 %). Si bien la cantidad de animales estudiados puede considerarse escasa, los resultados se correlacionan con los obtenidos por Koshimizu *et al* (5).

Las bacterias aerobias más frecuentemente aisladas fueron *Staphylococcus spp.* (39 %) y *Escherichia coli* (21 %). Estos hallazgos coinciden con las bacterias aisladas más frecuentemente en el tracto genital distal (2, 4).

La acción patógena de *Mycoplasma canis* sobre neonatos fue observada por Cerdá *et al* (9). Por lo que el aislamiento de esta especie de micoplasma junto con un sólo tipo bacteriano, observado en este estudio, podría indicar la relación de estos microorganismos con alteraciones de la fertilidad o enfermedad neonatal. De las muestras a partir de las cuales se aislaron Micoplasmas estos microorganismos desarrollaron en forma pura en el 33 % de las mismas, junto con *Staphylococcus coagulasa negativo* en el 50 %, con *Escherichia coli* en el 40 % y con otras bacterias en el 10 % restante. Esto podría indicar la interrelación entre micoplasmas con *Escherichia coli* y *Staphylococcus coagulasa negativo* y el posible rol de esta asociación en la producción de enfermedad.

Los factores predisponentes juegan un rol importante en el desarrollo de la patogenicidad de Mi-

coplasmas y bacterias aeróbicas en las enfermedades neonatales y en los casos de infertilidad canina (2, 3, 4). Debido a lo mencionado anteriormente y al discutido rol de estos microorganismos como causales de enfermedad neonatal y trastornos reproductivos caninos, se recomienda continuar el estudio sobre su acción, interrelación e implicancia con los procesos de enfermedad mencionados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Purswell BJ. Vaginal Disorders. En: Ettinger SJ, Feldman EC. Textbook of Veterinary Internal Medicine. WB Saunders. Philadelphia. 1995: 1642-1648.
2. Van Duijkeren E. Significance of the vaginal bacterial flora in the bitch: a review. Vet Record. 1992: 131, 367-369.
3. Watts JR, Wright PJ, Whithear KC. Uterine, cervical and vaginal microflora of the normal bitch throughout the reproductive cycle. Journal of Small Animal Practice. 1996: 37, 54-60.
4. Olson PN, Jones RL, Mather EC. The use and misuse of vaginal culture in diagnosing reproductive diseases in the bitch. En Morrow DA (ed). Current Veterinary Theriogenology. 2nd. W.B. Saunders. Philadelphia. 1986: 469-475.
5. Koshimizu K, Ogata M.. Characterization and Differentiation of Mycoplasmas of Canine Origin. Jap J vet Sci. 1974. 36: 391-406.
6. Lein DH. Canine Mycoplasma, Ureaplasma and Bacterial Infertility. En: Kirk RW (ed). Current Veterinary Therapy IX. W.B. Saunders. Philadelphia.. 1986. 1240-1242.
7. Frey MC, Hanson RP, Anderson DP. A medium for the isolation of avian Mycoplasmas. Am J Vet Res. 1968: 29, 2164-2171.
8. Barrow G, Feltham RK, Cow N, Stell SS. Manual for identification of medical bacteria. 3rd. (Ed) Great Britain University. 1993: 50-150.
9. Cerdá R, Stornelli A, Gobello C, Moredo F. Description of a case of puppy neonatal death associated to *Mycoplasma canis* infection. XV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Campo Grande, MS. Brasil, Abstracts del congreso 1996. pag. N° 247.
10. Koshimizu K, Saito T, Shinozuka Y, Tsuchiya K, Cerdá R. Isolation and Identification of *Mycoplasma* strain from various species of wild rodents. J Vet Med Sci. 1993: 55 (2): 323-324.
11. Clyde E. Mycoplasma species identification based upon growth inhibition by specific antisera. J Immunol. 1994: 92: 958-965.
12. Senterfit L. Preparation of antigen and antisera, en Methods in Mycoplasmaology. First edition. Academic Press Inc. New York (USA) 1983. Vol. I: 401-404.