

PATOLOGIA, BACTERIOLOGIA Y MICOLOGIA DE UTEROS DE VACAS HOLSTEIN ADULTAS NO GESTANTES ^a

GERMAN VALERO ELIZONDO ^b

LOURDES ONTIVEROS ^c

RICARDO FLORES C. ^d

FRANCISCO TRIGO T. ^e

RESUMEN

Se examinaron 85 tractos reproductores de vacas Holstein adultas no gestantes sacrificadas en el rastro de Cuautitlán, Edo. de México. Se tomaron muestras en fijador de Boulin para histopatología y se sembraron cajas de Petri por duplicado con medios de agar sangre, agar tripticasa-soya y agar McConckey para bacteriología aerobia a 37°C. Para micología se sembraron cajas de Petri con medios de Sabureaud y Micosel, que se incubaron a 28°C. De los 35 úteros, 10 presentaron metritis granulomatosa con bacterias ácido-alcohol-resistentes, y de estos casos se aislaron *Corynebacterium bovis*, *Micrococcus luteus* y *Micrococcus* spp. De los 13 úteros clasificados como metritis supurativa moderada o severa se aisló *M. luteus* en dos casos, *Pasteurella haemolytica*, *Alcaligenes faecalis* y *Candida albicans*. En 45 úteros se encontraron diversas lesiones leves y se aislaron *Corynebacterium bovis* en cuatro casos, *Micrococcus luteus* en dos casos, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Escherichia coli*, *Penicillium* spp., *Streptomyces somaliensis*, *Streptomyces* spp y levaduras no identificadas. En 17 casos únicamente se observó degeneración hialina de arterias pericarunculares y se aislaron *Nocardia brasiliensis*, *Corynebacterium bovis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Candida albicans*. No se aisló *Brucella*

abortus. Se encontraron dos neoplasias en útero; un leiomioma y un linfosarcoma. La diversidad de bacterias y hongos aislados tanto en las metritis severas como en los úteros con pocas lesiones sugiere que estos agentes sean oportunistas inespecíficos.

INTRODUCCION

Los trastornos reproductivos pueden ser un problema grave y una causa importante de desecho de vacas lecheras. La baja eficiencia reproductiva puede deberse a agentes infecciosos, trastornos hormonales, factores nutricionales, tóxicos y de manejo, entre otros (6, 12). La metritis infecciosa es un proceso muy común, y puede ser de dos tipos según los gérmenes que la causan: granulomatosa en el caso de la tuberculosis bovina, o purulenta, llamada piometra, causada por bacterias piógenas tales como: estreptococos, estafilococos, corinebacterias, diplococos, bacilos y enterobacterias (1, 6, 7, 12). En el caso del útero de bovino y posparto se ha descrito el aislamiento de bacterias en el 93% de los casos a los 15 días posparto, y el 9% a los 60 días (5). Se ha investigado la presencia de bacterias en ausencia de procesos inflamatorios evidentes en el útero bovino gestantes y no gestantes. Las opiniones al respecto son contradictorias; mientras que algunos autores (10, 13), opinan que en condiciones norma-

a Recibido para su publicación el 26 de febrero de 1986.

b Proyecto Sistema de Referencia en Diagnóstico Veterinario, CENID-Microbiología, INIFAP-SARH.

c Proyecto Enfermedades Bacterianas, CENID Microbiología, INIFAP-SARH.

d Litton de México.

e Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

Téc. Pec. Méx. Vol. 26 No. 3 (1988)

les el útero bovino es bacteriológicamente estéril, otros autores (7) han descrito el aislamiento de bacterias de úteros bovinos aparentemente normales y/o gestantes. Las bacterias aisladas fueron: **Micrococcus spp.**, **Streptococcus spp.**, **E. coli** y **Corynebacterium renale**, a las que consideran como flora saprófita. El objetivo del presente trabajo fue conocer la frecuencia y tipo de lesiones en úteros de vacas lecheras sacrificadas en el Valle de México, y su relación con el aislamiento y hongos.

MATERIAL Y METODOS

Se recolectaron al azar 85 úteros de vacas Holstein adultas no gestantes, sacrificadas en el rastro de Cuautitlán, Estado de México. Transcurrieron aproximadamente tres horas entre la muerte del animal, la toma de las muestras y su procesamiento en el laboratorio. En ocho casos las muestras se mantuvieron en congelación hasta por 24 horas antes de ser procesada la muestra para bacteriología. Para el examen bacteriológico se sembraron las muestras tomadas de la mucosa del cuerpo del útero en agar sangre, agar tripticasa-soya y agar MacConkey, por duplicado; para incubar tanto en aerobiosis a 37°C como en atmósfera enriquecida con 10% de CO₂ a 37°C durante 24 a 48 horas. Para el medio de agar tripticasa-soya se esperaron por lo menos 72 horas para el aislamiento de **Brucella abortus**. A las colonias encontradas se les practicaron tinciones de Gram y pruebas bioquímicas para identificarlas, según las técnicas de Cowan y Steel (2). Para el examen micológico se sembraron las muestras en medio de cultivo en placa de Sabureaud y medio selectivo para hongos patógenos (Micosel*). Los medios se incubaron a 28°C y a las colonias obtenidas se les hizo tinción directa y posteriormente se procedió a identificarlas por medio de la técnica de microcultivo descrita por Rindell (11). Para el examen posmortem se

* Lab. Difco, México.

procedió a incidir cuernos y cuerpo del útero, Cérvix y vagina por vía dorsal. Se anotaron las alteraciones visibles y se tomaron muestras de útero, cérvix y vagina en general y de cualquier estructura extraña en particular, y estas se fijaron en líquido fijador de Bouin. Las muestras para histopatología se procesaron e incluyeron en parafina mediante la técnica usual (3). Se practicaron cortes de cuatro micras de grosor y se tiñeron con Hematoxilina-eosina. En algunos casos se realizaron tinciones de Gram Ziehl-Neelsen, tricrómica de Masson, Weigert para fibrina y Pearls para hemosiderina. Las lesiones se clasificaron de acuerdo a Jubb y Kennedy (8), Kenney (9), Cupps (4) y Coster (1).

RESULTADOS Y DISCUSION

Las relaciones entre las bacterias y hongos aislados y las lesiones encontradas en el útero se presentan en el Cuadro 1.

De las bacterias aisladas más frecuentemente en este trabajo, **M. luteus** en cinco y **C. bovis** en cuatro, sólo **M. luteus** estuvo asociada con presencia de infiltración mononuclear en la mucosa uterina. El aislamiento de **M. luteus** también se asoció con la presencia de exudado mucopurulento.

Aparentemente **M. luteus** estaría asociado tanto con metritis crónicas (caracterizada por la infiltración mononuclear) como con metritis aguda (con exudado mucopurulento). Sin embargo, hay que tomar en cuenta que de los nueve úteros que presentaban exudado mucopurulento, ocho presentaron también infiltración mononuclear moderada y siete presentaron infiltración por eosinófilos; esto es, se encontraron tanto lesiones de tipo agudo como crónico en los mismos casos, lo que podría sugerir la persistencia del agente bacteriano en el útero, o bien, la complicación aguda de un caso crónico. El hallazgo frecuente de granulo-

CUADRO 1

RELACION ENTRE EL TIPO DE REACCION INFLAMATORIA
Y LOS AISLAMIENTOS A PARTIR DE MUCOSA UTERINA
(85 vacas)

REACCION	No. DE CASOS	AGENTES AISLADOS ^(a) (Número de veces)
Metritis granulomatosa ^(b)	10	<u>Corynebacterium bovis</u> , <u>Micrococcus</u> spp, <u>M.luteus</u> .
Metritis supurativa moderada o severa	13	<u>M.luteus</u> (2), <u>Pasteurella haemolytica</u> , <u>A.faecalis</u> , <u>Candida albicans</u> .
Lesiones diversas leves	45	<u>C.bovis</u> (4), <u>M.luteus</u> (2), <u>C.albicans</u> , <u>Aspergillus fumigatus</u> , <u>Streptomyces</u> spp, <u>E.coli</u> , <u>Penicillium</u> spp, <u>Streptomyces somalensis</u> . Levaduras no identificadas.
Degeneración hialina de ^(c) arterias pericarunculares	17	<u>Nocardia brasiliensis</u> , <u>C.bovis</u> , <u>M.luteus</u> , <u>C.albicans</u> , <u>Staphylococcus epidermidis</u> .

a) Algunos úteros presentaron varias lesiones; los microorganismos aislados se enlistan para cada lesión.

b) En los 10 casos se observaron bacterias ácido-alcohol resistentes.

c) Se consideró normal para la vaca post-parto.

mas con células gigantes tipo langhans y bacterias ácido-alcohol-resistentes sugiere una muy alta frecuencia de tuberculosis bovina. Sin embargo, como no se intentó el cultivo específico de micobacterias no fue posible determinar la(s) especie(s) responsable(s) en estos casos. El hecho de que se hayan aislado bacterias y hongos que no estaban asociados con lesiones importantes del útero podría explicarse

como contaminación posmortem, o bien como flora uterina saprófita (6). También es interesante señalar los 17 casos que presentaron infiltración mononuclear (que variaba de leve a moderada) en los que no se obtuvieron aislamientos. En el único caso con infiltración mononuclear severa en ausencia de aislamiento, se encontró además necrosis superficial del epitelio uterino, y en las laminillas de

histopatología teñidas con Gram se observaron bacterias Gram positivas. En los demás casos en los que no se encontraron bacterias podría tratarse de metritis crónicas en proceso de resolución o que posiblemente recibieron tratamiento con antibióticos. En 14 casos se encontraron infiltraciones por leucocitos eosinófilos en ausencia de aislamientos. Se ha descrito que la cantidad de eosinófilos en el endometrio bovino varía normalmente durante el ciclo estral (6, 1). El único caso encontrado con infiltración severa por eosinófilos en ausencia de aislamiento bacteriano presentó además necrosis focal del endometrio con presencia de pequeñas bacterias (¿o levaduras?) Gram positivas. Se desconocen las causas por las que no se obtuvieron aislamientos en estos casos. Se ha mencionado que en algunas ocasiones, por ejemplo con *Candida albicans*, se puede aislar el microorganismo de úteros de vacas que no muestran lesiones; o bien, puede observarse en las laminillas de histopatología del útero sin poderse aislar (7). El hecho de que no se haya aislado *Brucella abortus* en ningún caso de éste trabajo contrasta con los reportes de la gran frecuencia de brucelosis por la prueba de Huddleson en vacas en México. Es importante recordar que *Brucella abortus* puede permanecer intracelularmente en macrófagos de nódulos linfáticos (13).

CONCLUSIONES

La gran cantidad de variedad de lesiones histopatológicas uterinas no mostraron asociaciones evidentes con las diferentes bacterias y hongos aislados. La elevada frecuencia de metritis granulomatosas y metritis supurativas crónicas sugiere un inadecuado control sanitario general de las vacas, por lo que tal vez sean más importantes las condiciones generales de manejo sanitario de la vaca que la

especie particular de bacteria u hongo para la producción de metritis en la vaca adulta. Futuros estudios en vacas con historia clínica conocida permitirán confirmar esta posibilidad.

SUMMARY

The reproductive organs of 85 non-pregnant adult Holstein cows were examined at the Cuautitlan slaughter house in the state of Mexico. Tissue samples for histopathology were fixed in Bouin's. Duplicate Petri dishes with blood agar, trypticase-soy-agar and McKonkey agar were incubated at 37°C for aerobic bacteriology. Sabureaud and Micosel Petri dishes were incubated at 28°C for mycology. Ten of the 85 uteri had a granulomatous metritis with acid-fast bacteria; *Corynebacterium bovis*, *Micrococcus luteus* and *Micrococcus* spp. were isolated. From the 13 uteri with a moderate suppurative metritis, *M. luteus* was isolated twice, and *Pasteurella haemolytica*, *Alcalygenes faecalis* and *Candida albicans* were isolated once. From the 45 uteri with miscellaneous lesions, *Corynebacterium bovis* was isolated in four samples, *M. luteus* in two samples, and *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Escherichia coli*, *Penicillium* spp., *Streptomyces somaliensis*, *Streptomyces* spp. and un-identified yeasts were isolated in one sample each. In 17 cases the only lesion found was a hyaline degeneration of pericaruncular arteries; *Nocardia brasiliensis*, *Corynebacterium bovis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Candida albicans* were isolated. In no case was *Brucella abortus* isolated. Two uterine neoplasias were found: one leiomyoma and one lymphosarcoma. The diversity of bacterial and fungal isolations in both severe metritis and uteri with few lesions suggests that these microorganisms are unspecific opportunistic.

LITERATURA CITADA

- 1 COSTER, R., 1977. Etude histologique des endométrites infectieuses non spécifiques chez la bête bovine, *Ann. Méd. Vet.* 121:491.
- 2 COWAN, S.T. y STEEL, K.J., 1979. Manual para la identificación de bacterias de importancia médica, CECSA, México.
- 3 CULLING, C.F.A., 1974. Handbook of histopathological and histochemical techniques. *Butterworths*, London.
- 4 CUPPS, P.T., 1973. Uterine changes associated with impaired fertility in dairy cows, *J. Dairy Sci.* 56:879.

- 5 ELLIOT, L., MCWAHON, K.J., GIER, H.T. and MARION, G.B., 1968. Uterus of the cow after parturition: Bacterial content. *Am. J. Vet. Res.* 29 (1):77.
- 6 HARTIGAN, P.J., MURPHY, J.A., NUNN, W.R., and GRIFFIN, J.F.T., 1970. An investigation into the causes of reproductive failure in dairy cows: Gross and microscopic observations on the genitalia of slaughtered nonpregnant cows, *Irish Vet. J.* 25 (11):225.
- 7 HEIST, C.E. and TANABE, T. Y., 1974. The nature of subfertility in dairy heifers, VII: Prevalence and types of uterine microflora, *Penn St. U. Bull.* 794:5.
- 8 JUBB, K.V.F. and KENNEDY, P.C., 1970. Pathology of domestic animals. 2nd. ed. *Academic Press*, London, Vol. 1.
- 9 KENNEY, R.M., 1978. Cyclic and Pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. *J. Am. Vet. Med. Assc.* 172:241.
- 10 MAENTEE, K., 1980. Reproductive pathology course notes. Cornell U., Ithaca, N.Y.
- 11 RIDELL, R.W., 1950. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. *Mycologia*, 42:265.
- 12 SAGARTZ, J.W. and HARDENBROOK, H.J., 1971. A clinical, bacteriologic and histologic survey of infertile cows. *J. Am. Med. Assc* 158 (5):619.
- 13 WOOLCOCK, J.B., 1979. Infection and immunity in domestic animals *Elsevier*, Amsterdam 41, 42, 80, 123, 124.