

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



MICOPLASMOSIS BOVINA

POR

ISRAEL GARCÍA MARTÍNEZ

MONOGRAFÍA

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN COAHUILA, MÉXICO.

NOVIEMBRE DE 2012

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



MICOPLASMOSIS BOVINA

POR:

ISRAEL GARCÍA MARTÍNEZ

MONOGRAFÍA

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR: M.C. JOSÉ DE JESÚS QUEZADA AGUIRRE

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

NOVIEMBRE DE 2012

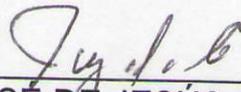
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

MICOPLASMOSIS BOVINA

MONOGRAFÍA

APROBADA POR EL COMITÉ



M.C. JOSÉ DE JESÚS QUEZADA AGUIRRE

PRESIDENTE



M. V. Z. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL

DE CIENCIA ANIMAL

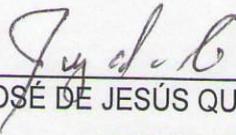


Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

MICOPLASMOSIS BOVINA



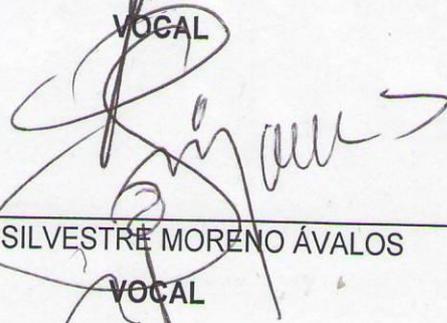
M.C. JOSÉ DE JESÚS QUEZADA AGUIRRE

PRESIDENTE



M.V.Z. CUAUHTÉMOC FÉLIX ZORRILLA

VOCAL



M.V.Z. SILVESTRE MORENO ÁVALOS

VOCAL



M.C. DAVID VILLARREAL REYES

VOCAL SUPLENTE

Índice

Índice.....	i
Resumen.....	ii
Introducción.....	1
1. Definición y Etiología.....	1
3. Características bacteriológicas.....	2
4. Transmisión.....	4
4. Patogenia.....	5
4. Patologías asociadas a <i>M. bovis</i>	8
4.1. Mastitis.....	8
4.2. Neumonía.....	10
4.3. Abscesos subcutáneos.....	11
4.4. Otitis media.....	11
4.5. Desórdenes reproductivos.....	13
4.7. Queratoconjuntivitis.....	13
4.8. Artritis y tenosinovitis.....	13
4.9. Coinfecciones.....	14
6. Diagnóstico.....	14
6.1. Cultivo.....	15
6.2. ELISA.....	16
6.3. PCR.....	17
7. Tratamiento.....	19
8. Vacunación.....	21
9. Control y Prevención.....	22
10. Potencial zoonótico.....	23
Literatura citada.....	24

Resumen

Mycoplasma bovis es un patógeno causante de una variedad de enfermedades en el ganado vacuno en todo el mundo. Es conocido por veterinarios y ganaderos el impacto tan importante que tiene en la salud, bienestar y productividad del ganado lechero. Las enfermedades ocasionadas por *M. bovis* pueden ser difíciles de diagnosticar y controlar a causa de la expresión inconsistente del padecimiento y de la pobre respuesta a los tratamientos. Existen lagunas en nuestra comprensión acerca del comportamiento de estas enfermedades, así como en las decisiones para el tratamiento y control, este documento está destinado a los veterinarios que se ocupan y se centran en los sistemas de producción de ganado lechero.

Palabras clave: *Mycoplasma bovis*, enfermedades asociadas, diagnóstico, tratamiento, control.

Abstract:

Mycoplasma bovis is a pathogen that causes a variety of diseases in cattle worldwide. It is known for veterinarians and farmers so important impact on the health, welfare and productivity of dairy cattle. Diseases caused by *M. bovis* can be difficult to diagnose and monitor the expression due to inconsistent condition and poor response to treatment. There are gaps in our understanding of the behavior of these diseases as well as in decisions for treatment and control, this document is intended for veterinarians dealing and focus on systems of dairy production.

Key words: *Mycoplasma bovis*, related diseases, treatment, diagnosis, control

Introducción

De todos los micoplasmas que afectan a los bovinos, *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*) es el más patogénico (McCully y Brock, 1992). La bacteria fue aislada por Hale *et al.*, en 1961 en Connecticut, EE.UU., en un caso de mastitis severa (Sickles *et al.*, 2000). Este microorganismo es el agente causal de mastitis en vacas; artritis, otitis media y neumonía en becerras(os) y vaquillas; así como desórdenes genitales en toros y vacas (Berthold *et al.*, 1993), además de abscesos subcutáneos (Behrens *et al.*, 1996) y queratoconjuntivitis (DeBey *et al.*, 2010); dicho proceso ocasiona un impacto importante sobre la salud, bienestar, y productividad del ganado lechero y de carne a nivel mundial (Maunsell *et al.*, 2011).

En un estudio se reportó que los costos por pérdidas en la industria cárnica de los Estados Unidos ascienden a 32 millones de dólares y a 180 millones de dólares en la industria lechera, esto como resultado de la pérdida de las canales y de la mastitis, respectivamente; sin embargo, esos números deben ser interpretados con precaución (Maunsell *et al.*, 2011). En la República Mexicana, la enfermedad ha sido reportada en el Estado de México, Hidalgo y Torreón, Coahuila (Núñez D *et al.*, 2008).

Entre los costos relacionados con la enfermedad se incluye: la reducción de la producción, tratamientos, muerte y/o sacrificio de animales, implementación de medidas de diagnóstico y control. Debido a que los padecimientos asociados a *M. bovis* tienden a ser crónicos, los costos por caso son relativamente altos en relación con los ocasionados por otros patógenos (Maunsell *et al.*, 2011).

1. Definición y Etiología

M. bovis es el agente etiológico causante de mastitis, neumonía, artritis, otitis media, así como una amplia variedad de patologías en el ganado a nivel mundial (Maunsell *et al.*, 2011; Passchyn *et al.*, 2012).

3. Características bacteriológicas

M. bovis pertenece a la clase *Mollicutes*, orden *Miycoplasmatales*, familia *Mycoplasmataceae*, género *Mycoplasma* (figura 1). Inicialmente esta bacteria recibió el nombre de *Mycoplasma bovimastitidis*, posteriormente fue clasificada en el grupo 5 con el nombre de *Mycoplasma agalctiae* variedad *bovis*, debido a su similitud metabólica, morfológica y patológica con *M. agalctiae* (agente causal de la agalactia contagiosa ovina); con el avance de las técnicas de identificación basadas en las secuencias del ARN ribosomal de 16S, la bacteria recibiría el nombre de *M. bovis* (Verma *et al.*, 2011).



Figura 1. Colonias de *Mycoplasma* observadas bajo microscopio estereoscópico (Çetinkaya *et al.*, 2010).

Los *Mollicutes* son una clase especial de bacterias, dentro de esta clase han sido descritos ocho géneros, y dentro de esos géneros, más de 200 especies (Stakenborg *et al.*, 2005), de las cuales la mayoría pertenecen al género *Mycoplasma* (cuadro 1) (Li *et al.*, 2011) y muchas de son reconocidas como agentes etiológicos de enfermedades tanto en el humano como en los animales (Lysnyansky *et al.*, 2001a).

Cuadro 1. Algunas características importantes de los micoplasmas, modificado de: (Carter y Wise, 2004).

Género	Requieren esteroides	Presencia de lipoglicanos	Características
<i>Mycoplasma</i>	+	+	Muchas especies patogénicas, anaerobios facultativos
<i>Anaeroplasma</i>	+/-	+	Se encuentran en el rumen de ovinos y bovinos; anaerobios obligados
<i>Spiroplasma</i>	+	-	Células con forma de espiral; patogénicos para las plantas
<i>Ureaplasma</i>	+	-	Células cocoides; reacción fuerte a la ureasa; patógenos de plantas y animales
<i>Acholeplasma</i>	-	+	Generalmente no patogénicos; anaerobios facultativos
<i>Asteroleptoplasma</i>	-	+	Anaerobios obligados; se encuentran en el rumen de ovinos y bovinos
<i>Entomoplasma</i>	-	¿?	Anaerobios facultativos; patógenos de insectos y plantas
<i>Mesoplasma</i>	-	¿?	Ecológicamente y filogenéticamente relacionados a <i>Entomoplasma</i>

Nota: +, positivo o necesario; -, negativo o no requerido; +/-, variable; ¿?, se desconoce

Son los microorganismos más pequeños sobre la tierra con capacidad de autoreplicación (Lysnyansky *et al.*, 2001a). Son bacterias fastidiosas, difíciles de cultivar y con un crecimiento muy lento (McAuliffe *et al.*, 2003; McAuliffe *et al.*, 2004).

Sus extremadamente pequeños genomas, la carencia de una pared celular rígida y la ausencia de muchas vías enzimáticas los definen como unos microorganismos imponentes (Lysnyansky *et al.*, 2001a); estas son propiedades fenotípicas que distinguen a los micoplasmas de otras bacterias (Bower *et al.*, 2003).

Muchos micoplasmas carecen de genes que están involucrados en los mecanismos de biosíntesis, por ejemplo: ciclo del ácido tricarbóxico, fosforilación oxidativa, y mecanismos de síntesis de lípidos y aminoácidos (Bower *et al.*, 2003). Se presume que estos microorganismos pueden sobrevivir con un genoma reducido debido a que han evolucionado de tal manera que pueden obtener sus nutrientes directamente de su hospedero (Bower *et al.*, 2003; McAuliffe *et al.*, 2006).

Los micoplasmas exhiben un estricto rango de hospederos, típicamente muestran especificidad por órganos o tejidos, y usualmente se encuentran en asociación con las superficies de las células eucarióticas, aunque existen evidencias de que algunas especies invaden tejidos (Bower *et al.*, 2003).

Los micoplasmas juegan un papel importante en las enfermedades infecciosas, afectando las superficies mucosas, articulaciones y órganos internos (Bower *et al.*, 2003) de humanos, mamíferos, reptiles, aves, peces y artrópodos (Lysnyansky *et al.*, 2001b; Bower *et al.*, 2003).

Los mecanismos de invasión, adherencia y colonización de los micoplasma se conocen escasamente comparado con otros patógenos bacterianos que pueden ser sometidos más fácilmente a manipulación genética (Bower *et al.*, 2003).

M. bovis es también capaz de sobrevivir en el medio ambiente por largos periodos de tiempo, por ejemplo: 236 días en el estiércol, en leche (2 meses a 4°C, 14 días a 20 °C), así como en la pastura, agua, y orina (ter Laak *et al.*, 1992). Esto se debe a la producción de biopelículas, las cuales lo protegen de los cambios de temperatura y la desecación (van der Merwe *et al.*, 2010).

4. Transmisión

Todo puede comenzar con la introducción de un animal infectado asintomático, el microorganismo puede ser transmitido consumo de leche contaminada (de vacas con mastitis por micoplasma) (Bower *et al.*, 2003), por las secreciones respiratorias vía aerosol, por contacto nariz – nariz, o indirectamente a través del agua y alimento, así como por fómites (Maunsell *et al.*, 2011), y/o durante la inseminación artificial con semen contaminado (Gabinaitiene *et al.*, 2011).

Todos aquellos eventos que provoquen estrés en el animal, tales como transporte, entrada de nuevos animales, cambio de clima, etc. están asociados con el aumento en la excreción nasal de *M. bovis* (Maunsell *et al.*, 2011).

La infección crónica asintomática acompañada de la excreción intermitente de *M. bovis* desempeña un papel crítico en la epidemiología de la enfermedad, especialmente en el mantenimiento de la infección dentro del hato y en la exposición a poblaciones vírgenes (Maunsell *et al.*, 2011).

4. Patogenia

M. bovis coloniza fácilmente las superficies mucosas, en las cuales puede persistir sin causar enfermedad clínica. Posterior a la exposición, la mucosa del trato respiratorio superior y la glándula mamaria son los sitios de predilección para la colonización. Sin importar la vía de exposición, durante los inicios de la infección *M. bovis* puede ser aislado de múltiples sitios del cuerpo, particularmente, el tracto respiratorio superior, glándula mamaria, conjuntiva y tracto urogenital, momento en el cual se ha documentado, existe bacteremia (Maunsell *et al.*, 2011).

La mucosa del tracto respiratorio superior y la glándula mamaria parecen ser los sitios más importantes de persistencia y excreción del patógeno. Muchos de los afectados suelen excretar el microorganismo por unos cuantos meses o menos, y algunos otros suelen excretarlo de manera intermitente por muchos mese o años (Maunsell *et al.*, 2011).

Existe una gran variedad de factores que desempeñan un papel importante en el desarrollo de la enfermedad ocasionada por la infección con *M. bovis*; desafortunadamente, falta por esclarecer muchos de los mecanismos específicos involucrados en este proceso (van der Merwe *et al.*, 2010).

Existen datos que indican presencia un mecanismo de escape basado en la modulación de la expresión de ciertas proteínas para evadir la

opsonización de anticuerpos específicos, lo cual puede ser considerado como parte de la estrategia del patógeno para trastornar al sistema de defensa del hospedero ante la presencia de anticuerpos afines (Sachse *et al.*, 2000).

La persistencia patogénica de los micoplasmas dentro de sus hospederos, así como su habilidad para evadir el sistema inmune por largos periodos de tiempo se atribuye en parte al hecho de que dichos microorganismos (al igual que otros patógenos) son poseedores de una remarcable capacidad para la diversificación de sus antígenos de superficie (Lysnyansky *et al.*, 2001a).

Su capacidad de unión y activación al plasminógeno es un factor de virulencia importante que provee los medios para la invasión de la glándula mamaria (Bower *et al.*, 2003).

Algunos estudios sugieren que, junto con la invasión de las células circulantes del sistema inmune, la invasión de los eritrocitos puede potencialmente ayudar como mecanismo de transporte de los micoplasmas hacia los diferentes tejidos de su hospedero (van der Merwe *et al.*, 2010).

M. bovis carece de organelos especializados para su fijación, pero en lugar de estos, expresa unas proteínas variables de superficie – PVS (variable surface membrane protein: *Vsps*) (van der Merwe *et al.*, 2010). Estas PVS están asociadas también a la virulencia de *M. bovis* (Lysnyansky *et al.*, 2001b; Hermeyer *et al.*, 2012); de estas proteínas se conocen las PVSa, PVSb y PVSc; que a su vez están asociadas a la alta frecuencia de reorganización de sus cromosomas (Lysnyansky *et al.*, 2001a), lo que da como resultado una multitud de fenotipos en las poblaciones del micoplasma (Sachse *et al.*, 2000). En un aspecto más funcional e importante, las PVS están involucradas en la citoadhesión de *M. bovis* a las células de sus hospederos (Sachse *et al.*, 2000; van der Merwe *et al.*, 2010).

Así pues, el elaborado sistema genético *M. bovis* contiene múltiples genes que codifican las PVS las cuales funcionan como un interruptor

espontáneo, regulando la proliferación de los linfocitos (van der Merwe *et al.*, 2010) aumentando la habilidad del microorganismo para evadir el sistema inmune de su hospedero (Nussbaum *et al.*, 2002).

Además de las PVS, otro mecanismo de evasión inmune es la habilidad de *M. bovis* para inhibir a los neutrófilos mediante un mecanismo que involucra la acción de la proteína cinasa C (van der Merwe *et al.*, 2010).

Entre otras cosas, *M. bovis* contiene la enzima Procariótica α -enolasa, que es una sustancia ligada a los plasminógenos y se encuentra en muchas bacterias; algunas investigaciones han demostrado que la presencia de la α -enolasa en la superficie bacteriana está estrechamente relacionada con los factores que promueven la adherencia hacia la célula del hospedero, y puede contribuir al proceso fisiopatológico (Song *et al.*, 2012).

Otros factores que se cree son importantes en el papel de la virulencia, incluyen la producción de peróxido de hidrógeno y una toxina antiinflamatoria que puede resultar en un aumento de la permeabilidad vascular y en la activación del complemento (van der Merwe *et al.*, 2010).

Las infecciones por micoplasmas raramente son fulminantes, pero la mayoría de ellas tienen un curso crónico y la variación en los componentes de superficie juega un papel crucial en el establecimiento de dichos procesos, lo cual es indicativo de una falla en los mecanismos de defensa del hospedero para erradicar los parásitos (Lysnyansky *et al.*, 2001b).

Por otra parte, en las crías existe una fuerte asociación entre la falla en la transferencia de inmunidad pasiva y el aumento en el riesgo y la severidad de la infección. Sin embargo, se desconoce el papel de la inmunidad materna en la protección contra la enfermedad asociada a *M. bovis*. En un estudio se encontró que no existe asociación entre los títulos séricos de anticuerpos post-calostrales contra *M. bovis* y un brote de neumonía ocasionado por el microorganismo (Maunsell *et al.*, 2011).

4. Patologías asociadas a *M. bovis*

De todos los micoplasmas conocidos, *M. bovis* es el más invasivo, patogénico y destructivo (Adegboye *et al.*, 1995; Behrens *et al.*, 1996). En contraste con las otras especies, las cuales colonizan las superficies mucosas y establecen infecciones crónicas localizadas, este organismo tiene el potencial de cruzar las barreras mucosas y causar infecciones sistémicas viajando por el torrente sanguíneo (Behrens *et al.*, 1996). Es el agente causal de mastitis en vacas; artritis, otitis media y neumonía en becerras(os) y vaquillas, así como desórdenes genitales en toros y vacas (Berthold *et al.*, 1993), además de abscesos subcutáneos (Behrens *et al.*, 1996), artritis (Walz *et al.*, 1997; Lechtenberg *et al.*, 2001) y queratoconjuntivitis (Alberti *et al.*, 2006).

4.1. Mastitis

La mastitis por micoplasma es una enfermedad altamente devastadora debido a que: 1) es una enfermedad altamente contagiosa, 2) el tratamiento es inefectivo, 3) los signos clínicos persisten por periodos variables de tiempo, 4) las vacas con mastitis subclínica crónica pueden permanecer infectadas durante meses o años y diseminar la infección a otras vacas y 5) está demostrado que la mastitis por micoplasma es la causa más alta de pérdidas económicas por caso y por lactancia en comparación a las mastitis causadas por otros patógenos (Sickles *et al.*, 2000).

La mastitis por *M. bovis* puede ser clínica, subclínica o crónica. Las vacas con ubres infectadas pueden continuar diseminando el micoplasma y tener problemas de disminución de la producción en las lactancias subsecuentes o pueden incluso, tener una curación espontánea (Sickles *et al.*, 2000).

Los signos clínicos de mastitis aparecen días después de la infección (figura 2), la cual puede darse en cualquier fase de lactancia; el antecedente es una mastitis aguda en uno o más cuartos, que a la palpación se perciben

calientes, hinchados, edematosos o duros, las secreciones varían en su aspecto. Por lo regular, la primera secreción puede ser acuosa y tener “copos” de un material arenoso. Transcurridos varios días, las secreciones se pueden convertir en un exudado purulento. Si la enfermedad progresa, los conductos galactóforos desarrollan metaplasia escamosa, y algunos conductos y acinis se llenan de exudado granulomatoso (figura 3) (Núñez D *et al.*, 2008).

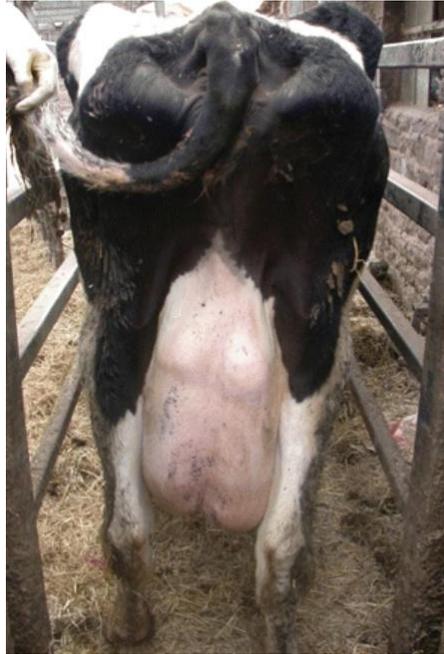


Figura 2. Inflamación de los nódulos linfáticos supramamarios en una vaca con mastitis causada por *M. bovis* (van der Burgt *et al.*, 2008).



Figura 3. Galactoforitis piogranulomatosa necrosupurativa crónica multifocal y fibrosis parenquimal marcada en un caso de mastitis por *M. bovis* (Radaelli *et al.*, 2011).

4.2. Neumonía

M. bovis es causante de neumonías, principalmente en animales jóvenes (Adegboye *et al.*, 1995). Se pueden observar signos tales como fiebre, aumento de la frecuencia respiratoria, descarga nasal (figura 4), tos y disminución del apetito (Hermeyer *et al.*, 2012).



Figura 4. Descarga nasal inducida mediante desafío con *M. bovis* en una becerria (Tenk, 2005).

Las lesiones provocadas por *M. bovis* por sí solo han sido descritas como áreas de necrosis coagulativa focal, rodeadas de células mononucleares (cuadro 2) (Adegboye *et al.*, 1995) y bronquiolitis supurativa (Adegboye *et al.*, 1995; Hermeyer *et al.*, 2012), neumonía caseonecrótica y/o bronquiolitis obliterativa, así como abscesos y fibrosis (figura 5) (Hermeyer *et al.*, 2012).

Cuadro 2. Reacciones inmunopatológicas en los abscesos asociados a *M. bovis* (Adegboye *et al.*, 1995).

-
1. Microabscesos compuestos primeramente por neutrófilos y macrófagos en el lumen terminal de los bronquiolos
 2. Acúmulo de neutrófilos y macrófagos en el lumen bronquiolar
 3. Desorganización del epitelio bronquiolar por infiltración de neutrófilos y macrófagos, acumulación peribronquiolar de células mononucleares y encapsulación
 4. Pérdida del epitelio bronquiolar con lesiones caracterizadas por focos de tejido coagulativo necrótico, especialmente en la periferia
 5. Necrosis coagulativa focal
-

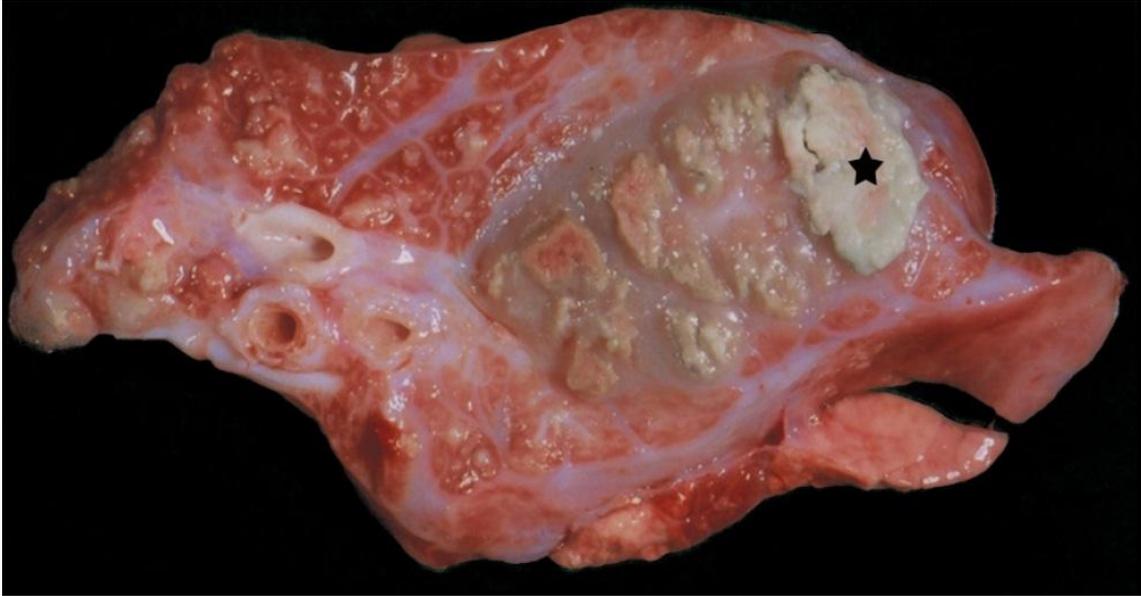


Figura 5. Lesiones macroscópicas de neumonía caseonecrótica ocasionada por *Mycoplasma bovis* en la que pueden observarse lesiones de varios tamaños, así como una marcada fibrosis interlobular y bronconeumonía supurativa (Hermeyer *et al.*, 2012).

4.3. Abscesos subcutáneos

En un estudio en el que se realizaron pruebas con los aspirados de los abscesos de unas becerras, se aisló *M. bovis*. Se desconoce la ruta de entrada a las lesiones; sin embargo, se tienen tres hipótesis: 1) que la infección ocurrió por contacto directo de las descargas nasales con el tejido desvitalizado cuando el animal hacía por lamer las lesiones, 2) que durante el periodo de bacteremico el microorganismo haya encontrado las condiciones ideales para la colonización, desencadenando la formación de abscesos y 3) que la ruta de entrada del micoplasma haya sido por vía lactógena (Petty *et al.*, 1993). En otro estudio, se aisló *M. bovis* de los abscesos subcutáneos de becerras, de los cuales se realizaron cultivos, siendo esto negativos tanto para bacterias aerobias y anaerobias, como para hongos (Adegboye *et al.*, 1995).

4.4. Otitis media

M. bovis ha sido reportado como el agente causal de otitis media en becerras previo y posterior al destete. La enfermedad se ha presentado en animales de 4 – 10 días de edad (pre-destete) y en un rango de los 4 – 18

meses. Se especula que las crías suelen contagiarse cuando se alimentan con calostro o leche contaminados; como resultado de esto *M. bovis* coloniza la naso-faringe y a partir de ahí el microorganismo infecta el conducto auditivo (Walz *et al.*, 1997; Fox *et al.*, 2008).

La otitis puede ser uni- o bilateral, entre los hallazgos clínicos podemos encontrar exudado purulento en el canal auditivo y pabellón auricular, cabeza ladeada, parálisis facial (figura 6). Ocasionalmente, la enfermedad puede progresar a otitis interna y meningitis, la cual puede estar caracterizada por ataxia, recumbencia, nistagmos, opistótonos y muerte (Walz *et al.*, 1997).



Figura 6. Ejemplos de las manifestaciones clínicas de la otitis por *M. bovis* (Maunsell y Donovan, 2009).

Las lesiones macroscópicas de la bulla timpánica afectada incluyen hiperemia, edema, ulceración de la mucosa timpánica, exudado seroso, purulento o caseoso y desechos espesos, así como remodelación del hueso temporal (figura 7). Histológicamente, las lesiones incluyen lisis de los osículos timpánicos y engrosamiento de la mucosa timpánica debido a la proliferación de tejido de granulación con células plasmáticas y linfocitos (Walz *et al.*, 1997).

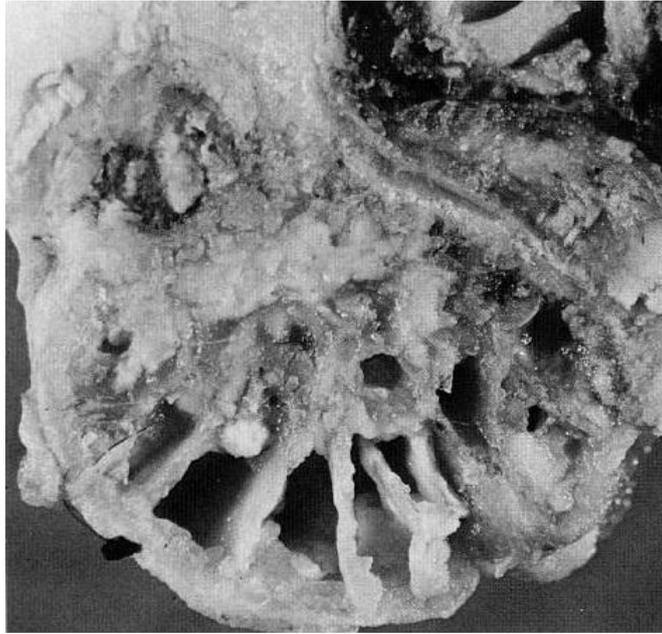


Figura 7. Corte de la bulla timpánica de una becerro en la que se puede observar exudado supurativo en los espacios aéreos (Walz *et al.*, 1997).

4.5. Desórdenes reproductivos

Entre las patologías que *M. bovis* causa en el tracto genito-urinario encontramos abortos, endometritis, salpingitis, ooforitis y seminovesiculitis (Rosenbusch *et al.*, 2005).

4.7. Queratoconjuntivitis

En un estudio realizado en Italia, en el cual se presentó un brote inusual de queratoconjuntivitis infecciosa, posterior al padecimiento de neumonía y artritis, se determina que el agente causal era *M. bovis*, donde la bacteria mostró un 100% de identidad con dos cepas europeas (Alberti *et al.*, 2006).

4.8. Artritis y tenosinovitis

Mediante infección natural y experimental, se ha encontrado que *M. bovis* es capaz de causar sinovitis, artritis y tenosinovitis fibrinosupurativa necrotizante, las lesiones se presentan en el hombro, codo, carpo, articulaciones del corvejón (figura 8), y vainas de los tendones (Caswell *et al.*, 2006; Dyer *et al.*, 2008).



Figura 8. Inflamación de las articulaciones del carpo y del tarso derecho en un becerro afectado por *M. bovis* (Byrne *et al.*, 2001).

4.9. Coinfecciones

La infección con *M. bovis* ha sido implicada en la potencial exacerbación e intensificación de la neumonía, a este proceso se le conoce como: Enfermedad Respiratoria Bovina (ERB) y los principales patógenos involucrados son: *Histophilus somni*, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Acrinobacterium pyogenes*, VRSB, DVB y PI3, lo cual sugiere un importante sinergismo en el desarrollo de la enfermedad (Lechtenberg *et al.*, 2001; van der Merwe *et al.*, 2010).

6. Diagnóstico

La identificación de los micoplasmas se encuentra obstaculizada por la falta de pruebas de diagnóstico rápidas, el diagnóstico está basado en la identificación de los organismos en las secreciones o tejidos; los métodos convencionales son: (i) cultivo, (ii) las pruebas serológicas (ELISA) y (iii) la PCR (cuadro 3) (Brank *et al.*, 1999; McAuliffe *et al.*, 2003).

Cuadro 3. Aproximaciones diagnósticas de las infecciones por *M. bovis* (Berthold *et al.*, 1993).

Enfermedad	Diagnóstico	Métodos de diagnóstico	Control
Mastitis	Detección de vacas que estén excretando el patógeno vía leche (diagnóstico individual)	Aislamiento y cultivo Captura de antígenos ELISA PCR	Sacrificio de los excretores
Artritis/Neumonía	Detección y seguimiento (diagnóstico de hato)	Anticuerpos ELISA (Aislamiento y cultivo)	Restricción de las entradas al hato (no sacrificar a los excretores)
Enfermedad genital	Detección de vacas que estén excretando el patógeno vía tracto urogenital (diagnóstico individual)	Aislamiento y cultivo Captura de antígenos ELISA, PCR	Descontaminar el semen

6.1. Cultivo

Los micoplasmas requieren de una a dos semanas para crecer en el cultivo (figura 9) y son fácilmente desplazados por bacterias contaminantes, aún y cuando se utilizan las condiciones y los medios de cultivo apropiados (McCully y Brock, 1992; Berthold *et al.*, 1993).

El aislamiento de *M. bovis* a partir de muestras de pulmón puede ser difícil, particularmente en los animales con afección crónica ya que los tratamientos con antibióticos, la autólisis o el crecimiento de otras bacterias pueden inhibir el proceso (Prescott *et al.*, 2005). En un estudio se observó que de las muestras de leche conservadas a 5, -30 y -80°C, esta última es la más adecuada para la supervivencia de la célula, obteniendo así un mayor número de colonias (Vyleťlová, 2010).



Figura 9. Cultivo de *M. bovis*, obsérvese la forma de huevo frito característica de las colonias (Marouf *et al.*, 2011).

6.2. ELISA

Por medio de esta técnica se detectan anticuerpos contra *M. bovis* en sangre y leche, es menos laboriosa y tardada que el cultivo y permite trabajar un gran número de muestras, pueden tenerse resultados en dos días. La aplicación de la técnica es limitada, pues los títulos de anticuerpos emergen entre 10 – 14 días posteriores al inicio de la enfermedad, por lo que el patógeno no puede ser detectado durante el periodo de incubación. La sensibilidad es insuficiente para la identificación confiable de todos los animales que se encuentran excretando la bacteria. No obstante, la utilización de esta técnica es de gran ayuda como método de monitoreo general (Berthold *et al.*, 1993). Los títulos de anticuerpos utilizados para diagnosticar la infección por *M. bovis* pueden ser mal interpretados debido a que el microorganismo produce bajos títulos de anticuerpos séricos posterior a una infección respiratoria (McCully y Brock, 1992; Tambuwal *et al.*, 2011).

6.3. PCR

La PCR se emplea en la identificación de algunos micoplasmas de interés veterinario (figura 10), esta técnica puede ser particularmente útil, especialmente ante la dificultad de distinguir a los micoplasmas mediante cultivo y técnicas serológicas (cuadro 4) (McAuliffe *et al.*, 2003).

Existen métodos moleculares mediante los cuales se detecta e identifica directamente a *M. bovis* en muestras de tejido y leche, las cuales son mejores alternativas que el aislamiento, para esto puede utilizarse la reacción en cadena de la polimerasa, incluyendo la PCR anidada y la PCR en tiempo real (Prescott *et al.*, 2005; Clothier *et al.*, 2010; Marion *et al.*, 2010; Higuchi *et al.*, 2011; Marouf *et al.*, 2011), las pruebas moleculares con cebadores específicos son la mejor herramienta para la detección del microorganismo tanto en las infecciones agudas como en las crónicas (Verma *et al.*, 2011).

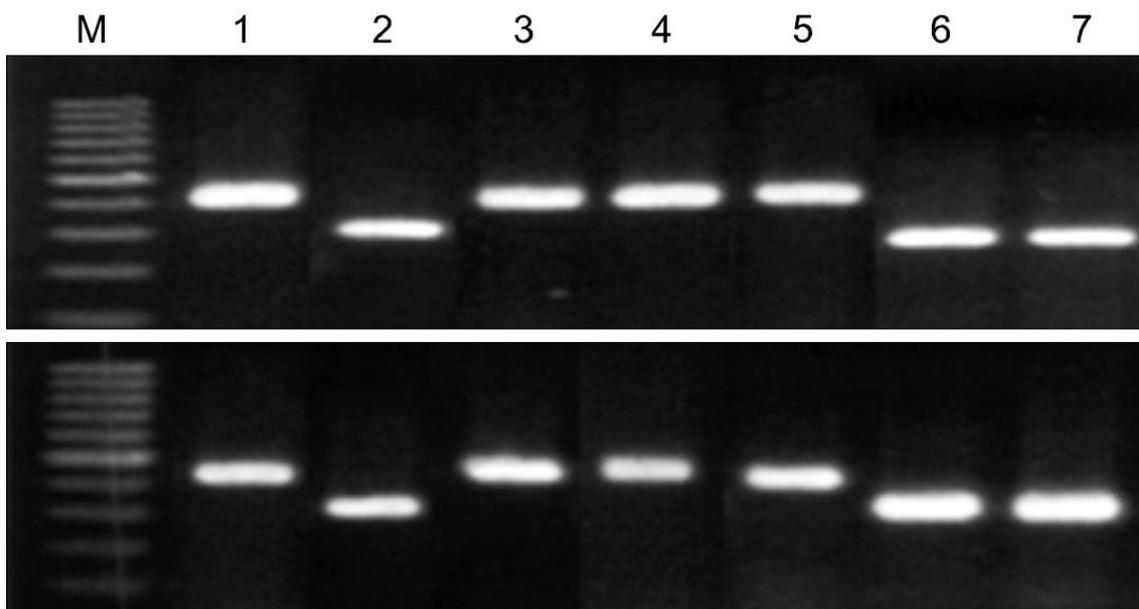


Figura 10. Detección de las principales especies de *Mycoplasma* causantes de mastitis mediante PCR simplificado (superior) y PCR estándar (inferior). M. marcador, 1: *Mycoplasma (M.) bovis* (ATCC 25523), 2: *M. arginini* (ATCC23838), 3: *M. bovirhinalium* (ATCC 19852), 4: *M. californicum* (ATCC 33461), 5: *M. bovirhinalis* (ATCC 27748), 6: *M. alkalescens* (ATCC29103), 7: *M. canadense* (ATCC 29418) (Higuchi *et al.*, 2011).

Cuadro 4. Comparación de los métodos de diagnóstico de *M. bovis* (Berthold *et al.*, 1993).

Parámetros	Convencionales		Métodos Proteínas de antígenos		Ácidos nucleicos	
	Cultivo	ELISA Detección de anticuerpos	Captura de antígeno ELISA (MAb)	Patrón de proteínas	Hibridización ARN – ADN	PCR
Tipo de información	Presencia de gérmenes viables	Presencia de anticuerpos contra <i>M. bovis</i>	Presencia del antígeno de superficie de 26 kDa	Repertorio del antígeno de una cepa individual	Presencia de secuencias específicas de ARN o ADN	Presencia de secuencias específicas de ADN
Especificidad	++	+	+	++	++	++
Sensibilidad (UFC/mL)	10 ¹ – 10 ²	Aumento de 100 veces	10 ⁵ – 10 ³	10 ⁶	10 ⁵ – 10 ⁶	Tan bajo como 10 ⁰
Tiempo requerido	5 – 10 días	2 días	1 – 3 días	Cultivo más 4 – 5 horas	2 días	1 día
Facilidad de operación	+	++	+	±	±	+
Ventaja	Detección simultánea de otros micoplasmas	Procesamiento rápido de muchas muestras	Procesamiento rápido de muchas muestras	Las cepas pueden ser identificadas y clasificadas	Especificidad alta y definida	Rapidez y especificidad
Desventajas	Contaminación	No se puede utilizar como base para controlar la enfermedad	Requiere preincubación para una buena sensibilidad	Estandarización difícil	Problemas de fondo con el material biológico	Peligro de contaminación exterior
Análisis directo de muestras biológicas	Sí	Solo suero	Sí	No	Posible	Sí
Conveniencia para uso rutinario en el laboratorio	++	++	+	-	-	+

MAb: Anticuerpos monoclonales

IHA: Ensayo de hemoaglutinación indirecta

++ Muy bueno

+ Bueno

± Adecuado

- Malo

7. Tratamiento

Las infecciones suelen ser tratadas con antimicrobianos, los cuales frecuentemente no eliminan la infección (Soehnlén *et al.*, 2011) y debido a que el microorganismo es resistente a varias clases de antibióticos (Wise *et al.*, 2011; Qi *et al.*, 2012) los animales suelen ser sacrificados, ya que la susceptibilidad *in vitro* no necesariamente corresponde a los resultados *in vivo* (Soehnlén *et al.*, 2011).

La falta de pared celular en los micoplasmas ocasiona que los antimicrobianos β -lactámicos no sean efectivos contra este tipo de bacterias. Por otra parte, el hecho de que estas bacterias no sintetizan ácido fólico las hace intrínsecamente resistentes a las sulfonamidas, así como a la eritromicina (Maunsell *et al.*, 2011).

Se ha encontrado que los micoplasmas como clase, son generalmente susceptibles a las drogas que interfieren con las proteínas, por ejemplo: florfenicol, lincosamidas, macrólidos y tetraciclinas; sin embargo, deben de realizarse pruebas para determinar la susceptibilidad del microorganismo en pruebas de hato o en tratamientos a nivel individual (Maunsell *et al.*, 2011).

Otro antibiótico aprobado para su utilización en el ganado en Europa es la valnemulina, este pertenece al grupo de las pleuromutilinas y actúa inhibiendo el inicio de la síntesis proteica en los ribosomas bacterianos; el cual bajo condiciones de campo ha demostrado controlar la neumonía provocada por *M. bovis* (Rosenbusch *et al.*, 2005).

Las fluoroquinolonas son antimicrobianos de amplio espectro utilizados frecuentemente para el tratamiento de las infecciones por *M. bovis* en el ganado bovino; sin embargo, se ha observado que la susceptibilidad de algunas cepas de esta bacteria a esta clase de antibióticos puede disminuir, reduciendo las opciones del manejo terapéutico de este tipo de infecciones. Esto se debe a un mecanismo de resistencia de los procariontes (incluyendo los Mollicutes) que involucra alteraciones en las enzimas DNA girasa y DNA topoisomerasa IV, las cuales alteran la afinidad hacia esta droga (Ben Shabat *et al.*, 2010).

En Estado Unidos, dos antibióticos cuentan con autorización para su uso en el tratamiento de este padecimiento, el florfenicol y la tulatromicina, y uno más en Canadá, la gamitromicina (Maunsell *et al.*, 2011).

La gamitromicina es una azalida, perteneciente al grupo de los macrólidos semisintéticos; la cual ha demostrado mediante estudios de farmacodinamia y farmacocinética que administrada a dosis de 6 mg/Kg de peso corporal por vía subcutánea en una sola dosis, provee una actividad rápida y persistente en el control y tratamiento de la enfermedad respiratoria bovina, en la que participa *M. bovis* (Lechtenberg *et al.*, 2011a; Lechtenberg *et al.*, 2011b).

En un estudio experimental en que se utilizó tulatromicina, los animales tratados no mostraron fiebre y desarrollaron menos lesiones pulmonares que los del grupo control. En otro estudio en el cual se utilizó tilmicosina se aisló *M. bovis* en bajas cantidades del tejido pulmonar de los afectados, al igual que en otros experimentos en los que se empleó valnemulina y enrofloxacin por vía oral (Maunsell *et al.*, 2011).

A pesar de que las fluoroquinolonas, las tetraciclinas y los macrólidos tienden a tener una buena distribución dentro de las articulaciones, se ha observado que los animales afectados con artritis tienen una respuesta pobre a los tratamientos (Maunsell *et al.*, 2011).

En un estudio se observó que una pequeña molécula llamada sal de tetrazolio fue capaz de inhibir el crecimiento de *M. bovis*, los resultados sugieren que esta pequeña molécula tiene el potencial para su uso profiláctico o terapéutico en campo como una alternativa a los agentes antimicrobianos tradicionales (Jayarao *et al.*, 2011).

8. Vacunación

En Europa no existen vacunas comerciales disponibles, solo en los Estados Unidos se encuentran disponibles algunas bacterinas que pueden utilizarse para hacer frente a los problemas de neumonías, y una más para mastitis; sin embargo, no existen datos que demuestren su eficacia en campo, y esto representa un desafío, pues cuando estas vacunas se han utilizado en estudios de campo, exacerban la severidad de los problemas respiratorios y de la mastitis clínica (Maunsell *et al.*, 2011), lo cual le confiere una pobre eficacia y pocas opciones clínicas a las vacunas contra *M. bovis* (Soehnlén *et al.*, 2011), por lo que se puede concluir que no existe una vacuna comercial efectiva (Ben Shabat *et al.*, 2010; Wise *et al.*, 2011; Zhu *et al.*, 2011; Qi *et al.*, 2012).

9. Control y Prevención

Debido a que las enfermedades ocasionadas por *M. bovis* son refractarias al tratamiento, las medidas de salud de los animales deberán dar prioridad a la prevención y control. Dichas medidas ayudarán a prevenir la diseminación del agente evitando la ocurrencia de una epizootia (Pfutzner y Sachse, 1996). La mejor manera de prevenir las infecciones por *M. bovis* es mantener el hato lo más herméticamente posible (Maunsell *et al.*, 2011). En el siguiente cuadro se enumeran algunas de las acciones encaminadas a la prevención y control de las infecciones ocasionadas por el microorganismo.

Cuadro 5. Medidas de protección frente *M. bovis* (Pfutzner y Sachse, 1996; Maunsell *et al.*, 2011).

-
1. Revise el historial de los cultivos de tanque del establo de origen de los nuevos animales (en lo posible investigue acerca sobre los problemas de otitis y/o artritis en becerras-vaquillas)
 2. Muestree todas las vacas secas y vaquillas, principalmente los animales provenientes de otros lugares
 3. Realice cultivos de leche de las vacas con mastitis subclínica (altos conteos de células somáticas), así como cultivos mensuales de la leche del tanque
 4. Mantenga asilados a todos aquellos animales que ingresen al hato, hasta que se tengan los resultados de los cultivos, ELISA o PCR
 5. Todos los animales infectados deberán ser segregados y ordeñados en un grupo aparte
 6. Si la intención es terminar con la enfermedad, pero por ciertas cuestiones los animales no pueden ser sacrificados, se recomienda la segregación estricta de los animales infectados
 7. Evite la alimentación con calostros provenientes de vacas infectadas, así como mezclar los calostros de vacas sanas con los de vacas enfermas
 8. Evite la alimentación con leche infectada, puede utilizar sustituto o en su defecto , pasteurice a 65°C por 10 minutos, a 70°C por 3 minutos o a 72°C (ultra-pasteurización)
 9. Las becerras, vaquillas y vacas infectadas pueden desechar el microorganismo en grandes cantidades, en lo posible manténgalas hospitalizadas por separado para disminuir contagios
 10. Las medidas higiénicas juegan el papel más importante, utilice desinfectantes en todos los utensilios (tinajas para el agua, máquinas de ordeño, etc.), el microorganismo es altamente susceptible al cloro, clorhexidina y yodo
 11. Factores inespecíficos tales como la calidad del aire y una buena nutrición, pueden ayudar a limitar el impacto producido por la enfermedad
 12. Siga al pie de la letra los programas de vacunación, para disminuir el riesgo de coinfecciones, evite la sobrepoblación y otros factores que desencadenen estrés en los animales
 13. Una vez que se detecten casos de artritis, otitis, mastitis o neumonías resistentes a las terapias, envíe muestras al laboratorio para diagnóstico inmediato
 14. Si se tienen toros, haga un muestreo de rutina
-

10. Potencial zoonótico

En una mujer de 34 se presentó un caso en el cual se aisló *M. bovis* a partir de una muestra de esputo, dicha paciente presentó un cuadro clínico con neumonía severa, sicosis, miocarditis, nefritis y anemia hemolítica. En la historia clínica, la paciente manifestó que había utilizado estiércol como fertilizante y negó haber tenido contacto alguno con ganado (Madoff *et al.*, 1979). Se sabe que *M. bovis* es capaz de sobrevivir hasta 236 días en el estiércol (ter Laak *et al.*, 1992), el hecho de no tener contacto con el ganado, a excepción del contacto con el excremento, se desconoce la fuente exacta de la cual la paciente pudo adquirir el microorganismo; sin embargo, este caso representa el primer aislamiento del microorganismo a partir de una fuente humana (Madoff *et al.*, 1979).

Literatura citada

- Adegboye, D. S., P. G. Halbur, D. L. Cavanaugh, R. E. Werdin, C. C. L. Chase, D. W. Miskimins y R. F. Rosenbusch (1995). Immunohistochemical and pathological study of *Mycoplasma bovis*-associated lung abscesses in calves. *J Vet Diagn Invest* 7: 333-337.
- Alberti, A., M. F. Addis, B. Chessa, T. Cubeddu, M. Profiti, S. Rosati, A. Ruiu y M. Pittau (2006). Molecular and antigenic characterization of a *Mycoplasma bovis* strain causing an outbreak of infectious keratoconjunctivitis. *J Vet Diagn Invest* 18: 41-51.
- Behrens, A., F. Poumarat, D. L. Grand, M. Heller y R. Rosengarten (1996). A newly identified immunodominant membrane protein (pMB67) involved in *Mycoplasma bovis* surface antigenic variation. *Microbiology* 142(9): 2463-2470.
- Ben Shabat, M., I. Mikula, I. Gerchman y I. Lysnyansky (2010). Development and evaluation of a novel single-nucleotide-polymorphism real-time PCR assay for rapid detection of fluoroquinolone-resistant *Mycoplasma bovis*. *J Clin Microbiol* 48(8): 2909-2915.
- Berthold, E., K. Sachse, H. Pftzner, H. Hotzel, B. Demuth y M. Heller (1993). Comparison of various diagnostic methods for the detection of *Mycoplasma bovis*. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 12(2): 571-580.
- Bower, K., S. P. Djordjevic, N. M. Andronicos y M. Ranson (2003). Cell surface antigens of *Mycoplasma* species bovine group 7 bind to and activate plasminogen. *Infect Immun* 71(8): 4823-4827.
- Brank, M., D. Le Grand, F. Poumarat, P. Bezille, R. Rosengarten y C. Citti (1999). Development of a recombinant antigen for antibody-based diagnosis of *Mycoplasma bovis* infection in cattle. *Clin Diagn Lab Immunol* 6(6): 861-867.
- Byrne, W., J. Fagan y M. McCormack (2001). *Mycoplasma bovis* arthritis as a sequel to respiratory disease in bought-in weanling cattle in the Republic of Ireland. *Irish Vet J* 54(10): 516-519.
- Carter, G. R. y D. J. Wise (2004). *Essentials of veterinary bacteriology and micology*. 6th Edition. Ames, Iowa State Press.
- Caswell, J. L., M. I. Gagea, K. G. Bateman, R. A. Shanahan, T. Van Dreumel, B. J. McEwen, J. Carman y M. archambault (2006). Naturally occurring *Mycoplasma bovis*-associated pneumonia and polyarthritis in feedlot beef calves. *J Vet Diagn Invest* 18: 29-40.
- Çetinkaya, B., M. Karahan y R. Kalin (2010). Detection of *Mycoplasma bovis* in cattle with mastitis and respiratory problems in eastern Turkey. *Vet Rec* 166: 827-829.
- Clothier, K. A., D. M. Jordan, C. J. Thompson, J. M. Kinyon, T. S. Frana y E. L. Strait (2010). *Mycoplasma bovis* real-time polymerase chain reaction assay validation and diagnostic performance. *J Vet Diagn Invest* 22: 956-960.
- DeBey, B. M., K. S. Janardhan, M. Hays, N. Dyer y R. D. Oberst (2010). *Mycoplasma bovis* outbreak in a herd of North American bison (Bison bison). *J Vet Diagn Invest* 22: 797-801.
- Dyer, N., L. Hansen-Lardy, D. Krogh, L. Schaan y E. Schamber (2008). An Outbreak of Chronic Pneumonia and Polyarthritis Syndrome Caused by

- Mycoplasma bovis* in Feedlot Bison (Bison Bison). J Vet Diagn Invest 20: 369-371.
- Fox, L. K., F. J. Muller, M. L. Wedam, C. S. Schneider y M. K. Biddle (2008). Clinical *Mycoplasma bovis* mastitis in prepubertal heifers on 2 dairy herds. Can Vet J 49(11): 1110-1112.
- Gabinaitiene, A., J. Siugzdaite, H. Zilinskas, R. Siugzda y S. Petkevicius (2011). *Mycoplasma bovis* and bacterial pathogens in the bovine respiratory tract. Veterinari Medicina 56(1): 28–34.
- Hermeyer, K., I. Buchenau, A. Thomasmeyer, B. Baum, J. Spergser, R. Rosengarten y M. Hewicker-Trautwein (2012). Chronic pneumonia in calves after experimental infection with *Mycoplasma bovis* strain 1067: characterization of lung pathology, persistence of variable surface protein antigens and local immune response. Acta Vet Scand 54(1): 9.
- Higuchi, H., H. Iwano, K. Kawai, T. Ohta, T. Obayashi, K. Hirose, N. Ito, H. Yokota, Y. Tamura y H. Nagahata (2011). A simplified PCR assay for fast and easy *Mycoplasma* mastitis screening in dairy cattle. J Vet Sci 12(2): 191-193.
- Jayarao, B. M., M. K. Soehnen, M. A. Tran, H. R. Lyszczek y D. R. Wolfgang (2011). Identification of novel small molecule antimicrobials targeting *Mycoplasma bovis*. J Antimicrob Chemother 66: 574–577.
- Lechtenberg, K., R. K. Tessman y S. T. Chester (2011a). Efficacy of Gamithromycin Injectable Solution for the Treatment of *Mycoplasma bovis* Induced Pneumonia in Cattle. Intern J Appl Res Vet Med 9(3): 233-240.
- Lechtenberg, K., R. K. Tessman, S. Yoon, S. Vijayakrishna y T. Schieber (2001). Development of a Challenge Model for *Mycoplasma bovis*-induced Pneumonia in Cattle. Intern J Appl Res Vet Med 9(3): 249-253.
- Lechtenberg, K. F., C. S. Daniels, T. Schieber, D. T. Bechtol, M. Drag, B. N. Kunkle, S. T. Chester y R. K. Tessman (2011b). Field Efficacy Study of Gamithromycin for the Treatment of Bovine Respiratory Disease Associated with *Mycoplasma bovis* in Beef and Non-lactating Dairy Cattle. Intern J Appl Res Vet Med 9(3): 225-232.
- Li, Y., H. Zheng, Y. Liu, Y. Jiang, J. Xin, W. Chen y Z. Song (2011). The complete genome sequence of *Mycoplasma bovis* strain Hubei-1. PLoS One 6(6): e20999.
- Lysnyansky, I., Y. Ron, K. Sachse y D. Yogev (2001a). Intrachromosomal recombination within the vsp locus of *Mycoplasma bovis* generates a chimeric variable surface lipoprotein antigen. Infect Immun 69(6): 3703-3712.
- Lysnyansky, I., Y. Ron y D. Yogev (2001b). Juxtaposition of an active promoter to vsp genes via site-specific DNA inversions generates antigenic variation in *Mycoplasma bovis*. J Bacteriol 183(19): 5698-5708.
- Madoff, S., B. Q. Pixley, R. A. DelGiudice y R. C. Moellering, Jr. (1979). Isolation of *Mycoplasma bovis* from a patient with systemic illness. J Clin Microbiol 9(6): 709-711.
- Marion, H. T., J. Björn, K. Hermeyer, W. Jechlinger, M. Zimmermann, J. Spergser y R. Rosengarten (2010). In Situ Hybridization for the Detection of *Mycoplasma bovis* in Paraffin-Embedded Lung Tissue from Experimentally Infected Calves. J Vet Diagn Invest 22: 90-93.

- Marouf, S. A., K. F. Mohamed y J. EL-Jakee (2011). Detection of *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma bovis genitalium* in Cattle and Buffalo in Egypt Using Dot ELISA and PCR with Anti -Microbial Trials. *E J Biol Sci* 3(1): 1-8.
- Maunsell, F. P. y G. A. Donovan (2009). *Mycoplasma bovis* Infections in young calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 25(1): 139-177, vii.
- Maunsell, F. P., A. R. Woolums, D. Francoz, R. F. Rosenbusch, D. L. Step, D. J. Wilson y E. D. Janzen (2011). *Mycoplasma bovis* infections in cattle. *J Vet Intern Med* 25(4): 772-783.
- McAuliffe, L., R. J. Ellis, R. D. Ayling y R. A. Nicholas (2003). Differentiation of *Mycoplasma* species by 16S ribosomal DNA PCR and denaturing gradient gel electrophoresis fingerprinting. *J Clin Microbiol* 41(10): 4844-4847.
- McAuliffe, L., R. J. Ellis, K. Miles, R. D. Ayling y R. A. Nicholas (2006). Biofilm formation by *Mycoplasma* species and its role in environmental persistence and survival. *Microbiology* 152(Pt 4): 913-922.
- McAuliffe, L., B. Kokotovic, R. D. Ayling y R. A. Nicholas (2004). Molecular epidemiological analysis of *Mycoplasma bovis* isolates from the United Kingdom shows two genetically distinct clusters. *J Clin Microbiol* 42(10): 4556-4565.
- McCully, M. A. y K. V. Brock (1992). Development of a DNA hybridization probe for detection of *Mycoplasma bovis*. *J Vet Diagn Invest* 4: 464-467.
- Núñez D, C., E. Morales Salinas, J. J. Martínez Maya y L. Hernández A (2008). Detection of subclinical bovine mastitis caused by mycoplasmosis by indirect ELISA test and isolation. *Veterinaria México* 39: 161-171.
- Nussbaum, S., I. Lysnyansky, K. Sachse, S. Levisohn y D. Yogeve (2002). Extended repertoire of genes encoding variable surface lipoproteins in *Mycoplasma bovis* strains. *Infect Immun* 70(4): 2220-2225.
- Passchyn, P., S. Piepers, L. De Meulemeester, F. Boyen, F. Haesebrouck y S. De Vlieghe (2012). Between-herd prevalence of *Mycoplasma bovis* in bulk milk in Flanders, Belgium. *Res Vet Sci* 92(2): 219-220.
- Petty, R., H. Kinde, B. M. Daft, R. L. Walker y B. R. Charlton (1993). *Mycoplasma bovis* associated with decubital abscesses in Holstein calves. *J Vet Diagn Invest* 5: 194-197.
- Pfutzner, H. y K. Sachse (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.
- Prescott, J. F., H. Y. Cai, P. Bell-Rogers y L. Parker (2005). Development of a real-time PCR for detection of *Mycoplasma bovis* in bovine milk and lung samples. *J Vet Diagn Invest* 17: 537-545.
- Qi, J., A. Guo, P. Cui, Y. Chen, R. Mustafa, X. Ba, C. Hu, Z. Bai, X. Chen, L. Shi y H. Chen (2012). Comparative geno-plasticity analysis of *Mycoplasma bovis* HB0801 (Chinese isolate). *PLoS One* 7(5): e38239.
- Radaelli, E., V. Castiglioni, M. Losa, V. Benedetti, R. Piccinini, R. A. Nicholas, E. Scanziani y M. Luini (2011). Outbreak of bovine clinical mastitis caused by *Mycoplasma bovis* in a North Italian herd. *Res Vet Sci* 91(2): 251-253.
- Rosenbusch, R. F., J. M. Kinyon, M. Apley, N. D. Funk, S. Smith y L. J. Hoffman (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.
- Sachse, K., J. H. Helbig, I. Lysnyansky, C. Grajetzki, W. Muller, E. Jacobs y D. Yogev (2000). Epitope mapping of immunogenic and adhesive structures in repetitive domains of *Mycoplasma bovis* variable surface lipoproteins. *Infect Immun* 68(2): 680-687.
- Sickles, S. A., J. Kruze y R. N. Gonzalez (2000). Detection of *Mycoplasma bovis* in bulk tank milk samples from herds in southern Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria* 32(2).
- Soehnen, M. K., M. E. Kunze, K. E. Karunathilake, B. M. Henwood, S. Kariyawasam, D. R. Wolfgang y B. M. Jayarao (2011). In vitro antimicrobial inhibition of *Mycoplasma bovis* isolates submitted to the Pennsylvania Animal Diagnostic Laboratory using flow cytometry and a broth microdilution method. *J Vet Diagn Invest* 23(3): 547-551.
- Song, Z., Y. Li, Y. Liu, J. Xin, X. Zou y W. Sun (2012). alpha-Enolase, an adhesion-related factor of *Mycoplasma bovis*. *PLoS One* 7(6): e38836.
- Stakenborg, T., J. Vicca, R. Verhelst, P. Butaye, D. Maes, A. Naessens, G. Claeys, C. De Ganck, F. Haesebrouck y M. Vanechoutte (2005). Evaluation of tRNA gene PCR for identification of mollicutes. *J Clin Microbiol* 43(9): 4558-4566.
- Tambuwal, F. M., L. Stipkovits, G. O. Egwu, A. U. Junaidu, M. B. Abubakar y U. A. Turaki (2011). Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Based Detection of Antibodies to *Mycoplasma bovis* in Cattle Naturally Infected with Haemoparasites in Institutional farms in Sokoto State, Nigeria. *Curr Res J Biol Sci* 3(1): 12-16.
- Tenk, M. (2005). Examination of *Mycoplasma bovis* infection in cattle. PhD thesis. Budapest: Szent István University, Postgraduate School of Veterinary Science
- ter Laak, E. A., G. H. Wentink y G. M. Zimmer (1992). Increased prevalence of *Mycoplasma bovis* in the Netherlands. *Vet Q* 14(3): 100-104.
- van der Burgt, G., W. Main y R. Ayling (2008). Bovine mastitis caused by *Mycoplasma bovis*. *Vet Record* 163(22): 666.
- van der Merwe, J., T. Prysliak y J. Perez-Casal (2010). Invasion of bovine peripheral blood mononuclear cells and erythrocytes by *Mycoplasma bovis*. *Infect Immun* 78(11): 4570-4578.
- Verma, A. K., A. Kumar y A. Rahal (2011). *Mycoplasma bovis*, A Multidisease Producing Pathogen: An Overview. *Asian J Anim Vet Adv* 6(6): 537-546.
- Vyletřlová, M. (2010). The Survival of *Mycoplasma bovis* at Different Temperatures. *Czech J Food Sci* 28(1): 74–78.
- Walz, P. H., T. P. Mullaney, J. A. Render, R. D. Walker, T. Mosser y J. C. Baker (1997). Otitis media in preweaned Holstein dairy calves in Michigan due to *Mycoplasma bovis*. *J Vet Diagn Invest* 9: 250-254.
- Wise, K. S., M. J. Calcutt, M. F. Foecking, K. Roske, R. Madupu y B. A. Methe (2011). Complete genome sequence of *Mycoplasma bovis* type strain PG45 (ATCC 25523). *Infect Immun* 79(2): 982-983.
- Zhu, X. Q., J. H. Fu, Q. Y. Liu, M. J. Xu, D. E. Shi, X. H. He, Y. Pan, R. B. Guo, Q. Gao, S. X. Yi y H. S. Si (2011). Seroprevalence of *Mycoplasma bovis* infection in dairy cows in subtropical southern China. *Afr J Biotechnol* 10(54): 11313-11316.