

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**BACTERIAS AERÓBICAS PRESENTES EN VAGINA DE VACAS  
CON PROBLEMAS DE INFERTILIDAD**

**POR**

**ELDA AZALIA ESCÁPITA RAMOS**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREÓN, COAHUILA; MEXICO**

**JUNIO 2014**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**BACTERIAS AERÓBICAS PRESENTES EN VAGINA DE VACAS  
CON PROBLEMAS DE INFERTILIDAD**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**POR**

**ELDA AZALIA ESCÁPITA RAMOS**

**ASESOR PRINCIPAL**

**MC. MARGARITA YOLANDA MENDOZA RAMOS**

**TORREÓN, COAHUILA; MEXICO**

**JUNIO 2014**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



TESIS

BACTERIAS AERÓBICAS PRESENTES EN VAGINA DE VACAS  
CON PROBLEMAS DE INFERTILIDAD

Tesis Aprobada por el

PRESIDENTE DEL JURADO

MC. MARGARITA YOLANDA MENDOZA RAMOS

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL  
DE CIENCIA ANIMAL

MC. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ



Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA; MEXICO

JUNIO 2014

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**  
**UNIDAD LAGUNA**  
**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**TESIS**

**BACTERIAS AERÓBICAS PRESENTES EN VAGINA DE VACAS  
CON PROBLEMAS DE INFERTILIDAD**

**TESIS APROBADA POR EL H. JURADO EXAMINADOR**

---

**MC. MARGARITA YOLANDA MENDOZA RAMOS**  
**PRESIDENTE**

---

**MC. JOSÉ LUIS CORONA MEDINA**  
**VOCAL**

---

**MC. ARACELY ZÚÑIGA SERRANO**  
**VOCAL**

---

**IBQ. CRISTINA ESPARZA ALCALÁ**  
**VOCAL SUPLENTE**

**TORREÓN, COAHUILA; MEXICO**

**JUNIO 2014**

## DEDICATORIA

---

A mis padres

María del Socorro Ramos Hernández y José Gustavo Escápita Alba

Sabiendo que no existiría forma alguna de agradecer una vida de sacrificios, esfuerzo y amor, quiero que sientan que el objetivo alcanzado también es de ustedes.

A mis hermanas: Susan y Diana con quienes he compartido cada paso de mi vida, tragos dulces y amargos que al final nos han unido tanto que son parte de mi existencia.

Por último pero para nada menos importante, a mi abuelo:

Jerónimo Ramos Loera

Que donde quiera que estés sabes que mi carrera te la dedico por completo a ti, que fuiste más que solo un abuelo, para mi eres como mi segundo padre, quisiera que estuvieras aquí para que te sientas tan orgulloso de mi, como cuando te dije que estudiaría para ser Veterinario, desgraciadamente las cosas no son siempre como uno quiere, pero sé que cuento contigo por SIEMPRE.

## AGRADECIMIENTOS

---

Al término de esta etapa de mi vida, quiero expresar un profundo agradecimiento a quienes con su ayuda, apoyo y comprensión me alentaron a lograr esta hermosa realidad.

Primeramente a Dios, que no me ha dejado sola y me ha puesto los retos necesarios para crecer como persona, profesionista y en todas las facetas en las que un ser humano puede desarrollarse.

A mis padres quienes sin escatimar esfuerzos sacrificaron gran parte de su vida para educarme.

A mis hermanas por la paciencia que me tienen y por ser como son.

A Thelma Avalos por acompañarme en esta y tantas otras aventuras, pasaste de ser una extraña a una de mis mejores amigas, gracias por tu confianza y amistad.

A MVZ Olivia García Morales y MVZ Guadalupe Sánchez Loera por compartirme su tiempo, experiencias, sabiduría y consejos.

A mis amigos Ana Valenciano Y Federico Rodríguez por ser mis cómplices durante estos cinco años en los que compartimos aventuras, aprendizaje, respuestas de exámenes, tareas, etc. Saben que los quiero y ya son parte de mi familia

Y a todos aquellos que comparten conmigo este triunfo.

GRACIAS!!

## Índice de Contenidos

---

Resumen	
Introducción .....	1
I. Marco Teórico.....	2
Flora Normal. ....	2
Factores que la Alteran. ....	4
Consecuencias de la Alteración. ....	5
Microorganismos que Forman Parte de la Flora. ....	6
II. Objetivo .....	11
III. Hipótesis .....	11
IV. Materiales y Métodos .....	11
Sitio de Estudio .....	11
Muestra.....	11
Recolección y Transporte de Muestras .....	13
Cultivo. ....	14
Pruebas Bioquímicas.....	14
Grupo Control .....	15
V. Resultados .....	15
VI. Discusión.....	17
VII. Conclusión .....	19
VIII. Recomendaciones .....	20
Referencias .....	22

## Índice de Figuras

---

Figura 1. Edad de las hembras bovinas al momento de la recolección de muestras .....	12
Figura 2. Grupos de bacterias aisladas a partir de hisopados vaginales obtenidos de hembras bovinas con problemas reproductivos. ....	16

## Índice de Cuadros

---

Cuadro 1. Patologías presentes al momento de la toma de muestra.....	12
Cuadro 2. Frecuencia de bacterias aerobias aisladas de vaginas de hembras con problemas reproductivos.....	15
Cuadro 3. Frecuencia de bacterias de la familia <i>Enterobacteriae</i> aisladas a partir de hisopados vaginales de bovinos que presentan problemas reproductivos. ....	17

## Resumen

---

Este estudio tuvo como objetivo determinar que microorganismos bacterianos aerobios, pueden ser aislados de vaginas de hembras bovinas con historial de problemas de tipo reproductivo en el Centro de Crianza “El Refugio”, en Gómez Palacio, Durango.

Se analizaron un total de 50 muestras que consistieron en hisopados vaginales de hembras de bovino, raza Holstein, que cumplieron con algunos de los siguientes criterios de inclusión: más de tres servicios sin concepción, reabsorción embrionaria, abortos (tempranos o tardíos) y repetición de celos en su historial. A las muestras obtenidas se les hizo frotis directo y se sembraron en Agar sangre, agar sal y manitol, agar eosina y azul de metileno y agar McConkey, así como pruebas bioquímicas convencionales para su identificación. Los géneros mayormente aislados durante este experimento pertenecen a *E. coli* (54%), *Staphylococcus* sp. (50%), *Streptococcus* sp. (40%) y *Klebsiella* sp. (36%) principalmente. Un aislamiento importante fue el del grupo de las enterobacterias cuyo porcentaje corresponde al 42.3% de las cuales: *E. coli* (16.1%), *Klebsiella* sp. (10.7%), *Proteus* sp. (1.8%), *Salmonella* sp. (4.8%), *Shigella* sp. (2.4%) y *Enterobacter* sp. (6.6%)

En conclusión la población bacteriana que habita en la porción vaginal del tracto reproductivo de hembras bovinas que presentan problemas de fertilidad se encuentra alterado por la presencia de ciertos microorganismos considerados como patógenos,

**Palabras Clave:** Infertilidad, flora vaginal, problemas reproductivos, bovinos, bacterias aerobias.

## Introducción

---

La infertilidad en el ganado bovino es un problema muy importante por ser la principal causa de pérdidas en la producción animal. La falla de una hembra para producir un cría después del apareamiento o la inseminación, por fallas en la ovulación, fecundación o en el desarrollo del embrión reduce la eficiencia de producción por el aumento en el número de días requeridos para lograr una concepción, la infertilidad durante la época de reproducción reduce la probabilidad de que una vaca produzca una cría en la siguiente temporada de pariciones (Warnick y Hansen, 2010). La fertilidad en las vacas es afectada por muchos patógenos específicos y no específicos del tracto genital

Para conocer las causas más comunes por las que sucede un aborto dentro de una explotación es necesario definir este suceso, un aborto, es comúnmente definido como la pérdida de un feto entre los 46 y 260 días de edad (Hoving, 2009) el conocimiento de las causas por las cuales se produce un aborto representa un reto; mientras que los agentes infecciosos son la causa más común del aborto en los bovinos, hay otros factores que juegan un papel importante que pueden hacer que una gran proporción de las gestaciones culminen en aborto. La temprana y correcta detección del patógeno específico involucrado en infecciones que resultan en aborto e infertilidad, es esencial para implementar una eficaz intervención (Njiro *et al.*, 2011)

En las zonas pecuarias que tienen climas tan extremos como el que existe en la Comarca Lagunera, Hoving (2009) reporta que además de las causas infecciosas existen otros factores que influyen en la fertilidad de un hato, entre esos factores se encuentra el estrés calórico, este afecta la conducta reproductiva en el ganado, y generalmente causa problemas de concepción, más que abortos.

Este trabajo evaluara la flora patógena que habita en la vagina de hembras bovinas que presentan problemas de fertilidad, entre los que se encuentran: abortos, repeticiones de celo, reabsorciones, entre otros.

## I. Marco Teórico

---

La vagina es un órgano que posee diversas funciones: es el conducto excretor del útero, es el órgano del coito, es el conducto del parto, su permeabilidad permite el paso de medicamentos, tiene capacidad inmunitaria y actúa como medio de depuración o defensa contra los microorganismos (Alba y Silveira, 2006; Boscán *et al*, 2010). Y es aquí donde radica la importancia del estudio de los microorganismos que habitan en dicho órgano, además en el ambiente vaginal residen bacterias con potencial de patogenicidad categoría 1, es decir, que causan frecuentemente endometritis (Boscán *et al*, 2010).

Al igual que el resto del organismo este órgano presenta procesos que actúan a manera de defensa ante bacterias que ascienden al tracto genital, siendo esta misma, una barrera física para evitar la proliferación de patógenos hacia el resto del tracto reproductivo. Este órgano cuenta con ciertos blindajes como: el moco secretado que actúa como barrera fisiológica; la invasión de polimorfonucleares describe una barrera inmune en respuesta a los desafíos bacterianos y los procesos inflamatorios y como último freno para la defensa del tracto genital ante la invasión microbiana (Boscán *et al*, 2010).

La vagina de algunas especies animales como los rumiantes, la perra y la mujer presentan una flora microbiana mixta, compuesta por microorganismos aerobios, anaerobios facultativos y anaerobios estrictos. Esta mezcla incluye a los saprofitos, patógenos potenciales y oportunistas, ellos están adaptados al modo de vida no invasivo, determinados por las limitaciones del ambiente, es decir, pueden proliferar y producir enfermedades si son introducidos en localizaciones extrañas (Boscán *et al*, 2010).

### *Flora Normal.*

El cuerpo de los mamíferos debido a que mantiene relativamente estable su pH, temperatura y un aporte constante de nutrientes, provee un hábitat favorable para una gran cantidad y variedad de microorganismos.

La flora normal o microbiota está compuesta de tipos relativamente fijos de gérmenes, los cuales se encuentran consistentemente en un sitio dado a una

edad dada; si se trastorna, se restablece espontáneamente con rapidez. Su presencia no es esencial a la vida, sin embargo, la microbiota residente de algunos sitios y de algunas especies animales juega un papel definido en el mantenimiento de la salud y de las funciones normales. Se le considera entre los factores que condicionan la resistencia natural a las enfermedades transmisibles (Fernández, 2006). La flora microbiana normal del tracto urogenital bovino está compuesta de una dinámica mezcla de microorganismos aerobios, anaerobios facultativos y anaerobios estrictos (Otero *et al.*, 2000). Aun habiendo condiciones similares dentro del organismo de cada individuo existen otros factores como la dieta, la higiene, manejo y la función zootécnica que determinan la naturaleza de la flora con la que ese individuo cuenta.

El tracto genital de las hembras posee flora bacteriana en casi toda su extensión, a excepción del útero, ya que allí por lo general no habitan microorganismos, aunque esto puede variar de acuerdo con el estatus inmunológico del animal (Sánchez *et al.*, 2011) y la etapa del ciclo estral en la que se encuentre la hembra. Cada parte del tracto reproductivo tiene un modo de defensa ante microorganismos que puedan interferir en el mantenimiento de la homeostasis del todo; existen defensas uterinas como las contracciones posteriores al parto, la involución uterina y la secreción de hormonas como los estrógenos que favorecen la respuesta inmunitaria; así mismo el cérvix y sus secreciones juegan un papel fundamental en el comportamiento reproductivo de los mamíferos (Ata *et al.*, 2010), porque además de proteger del paso de agentes patógenos también juega un papel fundamental en la detección del celo, la evaluación del estado reproductivo y el mantenimiento del ambiente estéril del útero.

La vagina por ser la parte del tracto reproductivo más expuesta, posee mayor número de bacterias (Sánchez *et al.*, 2011). Bajo condiciones normales, este ambiente es estable, protegiendo al hospedador del ataque de microorganismos saprofitos patógenos o potencialmente patógenos (Otero *et al.*, 2000).

Existen diferentes tipos de microbiota dentro del organismo. Hay flora residente, transitoria u oportunista, si existe alguna alteración los microorganismos transitorios pueden responder aprovechando la situación, es decir, proliferar y producir una enfermedad (Fernández, 2006).

### *Factores que la Alteran.*

Bajo condiciones naturales, el ambiente de la vagina bovina, no permite la proliferación excesiva de microorganismos patógenos o saprofitos potencialmente patógenos, debido a que este ambiente sufre variaciones en cuanto a temperatura, humedad, pH, presencia de nutrientes, sustancias inhibitorias, entre otras (Boscán *et al*, 2010).

Los microorganismos habituales de la vagina llegan a ser patógenos cuando los animales han comprometido su sistema inmune, debido a la tensión causada por varios factores tales como cambios bruscos de temperatura, la malnutrición, la gestación y el parto (Rocha *et al*, 2004). Existen, además, muchos factores que alteran la flora normal de un organismo, pero entre los más importantes destacan principalmente:

- La ubicación de la vulva en el ambiente externo que favorece la llegada de los microorganismos a la vagina (Rocha *et al*, 2004).
- Los cambios en el pH. Se ha observado que el pH de la vagina de la vaca sana oscila entre valores de  $6,92 \pm 0,51$  (Alba y Silveira, 2006) si se presentan valores diferentes a estos, entonces la flora vaginal se verá afectada.
- La exposición a agentes antimicrobianos, lo que favorece las sobre infecciones por bacterias patógenas resistentes y hongos. La vía de administración y las características farmacocinéticas de la droga, son factores que condicionan el cambio de ese ecosistema (Fernández, 2006) es por esta razón por la que debe haber un diagnóstico correcto para aplicar un tratamiento que cumpla con la función de recuperar la salud del animal sin afectar gravemente el estado del ecosistema.
- El parto es un factor que contribuye a la alteración de la flora normal, debido a que durante este suceso existen condiciones óptimas para que muchos gérmenes de la población bacteriana normal exacerben su virulencia acompañados por otros microorganismos del medio externo y originen un cuadro infeccioso cuando el mecanismo fisiológico de defensa en el ambiente uterino está alterado (Fernández, 2006).
- La higiene durante el parto y el puerperio (periodo fisiológico que tiene lugar después del parto, este proceso se caracteriza por el regreso del

útero a su condición normal previo a la gestación, esto ocurre por eliminación, disolución y reabsorción decidual que determina evidentemente disminución del volumen del órgano) son imprescindibles para la salud reproductiva de las hembras (Fernández, 2006).

- Las intervenciones como la inseminación artificial, el coito y los exámenes obstétricos, incrementan el riesgo de introducción de bacterias en el útero (González *et al*, 2007).

Un factor que favorece la alteración de la composición de la flora propia del aparato genital, es el mal manejo que hay hacia el animal. En ocasiones el maltrato persistente durante la movilización entre corrales o áreas de la explotación lleva a producir lesiones a nivel de vulva y periné que traen como consecuencia un deficiente cierre del vestíbulo vaginal, lo que unido a la contaminación con restos fecales, facilita la aparición de procesos infecciosos en el aparato reproductor (Fernández, 2006).

Además, si las vacas son sometidas a condiciones de estrés o insuficiencia alimentaria, su resistencia general y defensas inmunológicas se debilitan, la flora puede pasar inadvertida y desarrollarse la infección.

Desde el punto de vista endocrinológico e inmunológico, se sabe que los mecanismos de defensa uterinos son inadecuados durante el diestro, por lo tanto, la función de los leucocitos polimorfonucleares está suprimida cuando se incrementan los niveles de progesterona y se intensifica frente a altos niveles de estrógenos (Fernández, 2006).

#### *Consecuencias de la Alteración.*

Quizá una de las consecuencias más graves para la industria lechera es la afectación a los parámetros reproductivos y productivos en general. Al presentarse problemas de esta índole como reabsorciones embrionarias, abortos (tempranos o tardíos), metritis, nacimiento de crías muertas o débiles y muertes perinatales, entre otras, lo que en última instancia afecta la fertilidad del hato (González *et al*, 2007), esto provocado por la afectación al equilibrio del ambiente en el que se desarrollan estas bacterias, que a menos que produzcan toxinas o penetren en grandes cantidades, solo pueden influir en la fertilidad cuando se retienen durante largos períodos a causa de un retraso en la involución del útero (Bavera, 2005) o en el caso de los

gérmenes que forman parte de la microbiota natural residente o transitoria del aparato reproductor sin producir trastornos, pueden transformarse en patógenos cuando la resistencia local y general del animal se debilita y se rompe el equilibrio biológico (Fernández, 2006) lo que se refleja en un periodo de días abiertos muy prolongado, impidiendo que se cumplan las metas y parámetros reproductivos de la explotación.

### *Microorganismos que Forman Parte de la Flora.*

Como ya se mencionó, en el tracto reproductivo existe una población de microorganismos muy amplia que está sujeta a las condiciones ambientales que le son proporcionadas por su hospedador, y son exclusivas del órgano en el que habitan, que en este caso es la vagina. Se incluyen microorganismos de tipo viral, micótico y bacteriano.

Entre los virus que más se relacionan con problemas reproductivos se encuentran principalmente:

**El Virus de la Diarrea Viral Bovina (DVB)**, este virus tiene tropismo a una gran variedad de sistemas como el respiratorio, gastrointestinal y el reproductivo. La enfermedad reproductiva inducida por el virus de DVB puede manifestar fallas en la fertilización, muerte embrionaria temprana, regresión embrionaria, aborto, momificaciones y muerte fetal perinatal (Meza-cruz, 2010) si una vaca que no ha sido inmunizada es expuesta a este virus en el primer trimestre de gestación, puede ocurrir una muerte embrionaria temprana o un aborto y si el feto no es expulsado del útero, este podría encontrarse momificado. Si el feto es expuesto a DVB entre los 42 y 125 días de gestación, y no muere, este podría nacer como "persistentemente infectado". Si el feto está expuesto en el útero durante el último trimestre, el virus podría no afectarlo, excepto que nacería con anticuerpos del virus en la sangre. (Hoving, 2009).

Otro agente viral de importancia en la reproducción es el **Virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR)**. Es el agente causal de una contagiosa enfermedad, que produce una variedad de síndromes, de los cuales los más comunes son enfermedades respiratorias (neumonía, "nariz roja") este sigue siendo el diagnóstico más común en el caso de abortos virales. (Hoving, 2009).

De la misma familia viral el **Herpesvirus Bovino tipo IV** ha sido aislado de ganado clínicamente sano y de los que tienen desordenes respiratorios, metritis, abortos, mastitis, encefalitis, vulvovaginitis y lesiones en la piel (Gur y Dogan, 2010).

Entrando al tema de bacterias aisladas del tracto reproductivo se han encontrado:

***Streptococcus****sp.* Se ha relacionado con diversos problemas reproductivos en bovinos, entre los que se encuentran: cervicitis, metritis y aborto; las enfermedades reproductivas postparto causadas por esta bacteria comprometen la eficiencia reproductiva (Sánchez *et al.*, 2011)

***Staphylococcus****sp.* Existen especies de esta bacteria que se encuentran de manera normal en la piel y mucosas, tal es el caso del *S. epidermidis* que es integrante de la flora normal de piel pero produce infecciones crecientes de piel y anexos, colonizando cuerpos extraños y también es causa de infecciones profundas en hospedadores inmunocomprometidos (Seija, 2006), por su parte el *S. aureus* es el responsable de una amplia gama de infecciones agudas y crónicas. El primer paso de las infecciones por *S. aureus* es la adherencia a las superficies y colonización de tejidos del organismos infectado (Cucarella *et al.*, 2005).

***Lactobacillus****sp.* Crece generando un beneficio para su hospedero, debido a que la producción de ácido láctico reduce el pH, contribuyendo a la disminución o al retraso del crecimiento de otro tipo de flora potencialmente patógena (Sánchez *et al.*, 2011; Samaniego y Sosa, 2000)

***Pseudomonas****sp.* Es un bacilo Gram negativo que produce mastitis, aborto, artritis e infecciones en piel. Posee la capacidad de adaptarse a distintos medios nutricionales, de tal forma que es capaz de utilizar una gran variedad de sustancias como nutrientes para rendir energía y permitir su crecimiento (Tortone y Lucchesi, 2005). *P. aeruginosa* es el patógeno más importante dentro del género *Pseudomonas*, teniendo en cuenta la cantidad y tipos de infecciones (invasivas y toxígenas) que produce, así como la morbilidad y mortalidad que ocasiona. Es un patógeno oportunista que se presenta cuando los mecanismos de defensa del hospedero están alterados, suprimidos o comprometidos (Martínez *et al.*, 2001)

***Klebsiellasp.*** Se ha clasificado como flora uterina normal. No es un patógeno asociado con problemas reproductivos, simplemente se considera como flora acompañante del útero de vacas donadoras de embriones (Sánchez *et al.*, 2011)

***Proteussp.*** Esta ampliamente distribuido en el medio ambiente y ha sido aislado del intestino de mamíferos, aves y reptiles; también puede colonizar el tracto urinario bajo ciertas circunstancias, donde es considerado como un patógeno oportunista (Manos y Belas, 2006).

***Histophilussomni*** causa inflamación en el aparato genital de las vacas, asociada con un complejo de enfermedades de los bovinos como la meningoencefalitis tromboembólica, bronconeumonía, infertilidad, endometritis, aborto, nacimiento de becerros débiles, reabsorciones embrionarias, cervicitis y vaginitis, aunque también puede colonizar la mucosa genital sin causar daño (Aguilar *et al.*, 2012)

***P. multocidase*** encuentra formando parte de la flora respiratoria de muchos animales (gatos, perros, ratas, conejos, aves de corral), sin embargo, puede causar hemorragia en ganado vacuno, cólera en aves acuáticas y muchas otras formas de infecciones primarias u oportunistas (Ginebra y Leiva, 2001).

***Clamidiasp.*** es una bacteria intracelular obligada, Gram negativo que causa un amplio rango de enfermedades en humanos, otros mamíferos y en aves. La infección con *Clamidias* en el ganado bovino ha sido asociado con desordenes reproductivos entre los que se incluyen abortos, endometritis, repetición de celos, vaginitis, crías débiles y mortalidad perinatal (Godinet *al*, 2008).

***E. coli.*** Esta bacteria coloniza el intestino pocas horas después del nacimiento y se le considera un microorganismo de flora normal, pero hay cepas que pueden ser patógenas y causar daño produciendo diferentes cuadros clínicos (Rodríguez -Ángeles, 2002). Se puede aislar unos días después del parto, con un porcentaje del 36% el cual se ha relacionado con contaminación de los machos. En Argentina, se reportó el aislamiento del microorganismo en un 29% de vacas que presentaron problemas del tracto reproductivo como metritis y descargas uterinas con olor fétido (Sánchez *et al.*, 2011)

***Trueperellapyogenes***. Este microorganismo crece bajo condiciones aerobias y anaerobias, pero su crecimiento óptimo es obtenido en una atmósfera enriquecida con dióxido de carbono (Jost y Billington, 2005). Esta bacteria puede alojarse hasta 21 días post parto, generando una severa endometritis, lo que usualmente termina en infertilidad (Sánchez *et al.*, 2011)

Entre estas bacterias existen algunas asociaciones que hacen que un organismo no patógeno se convierta en patógeno; tal es el caso de *T. pyogenes* con *E. coli* que son causantes de infecciones uterinas postparto en bovinos (Sánchez *et al.*, 2011), además de esta asociación, se sabe que *T. pyogenes* necesita previamente la acción sinérgica de otras bacterias anaerobias, gram negativas obligadas como *Fusobacteriumnecrophorum*, causando entonces severas endometritis con marcada destrucción celular (Fernández, 2006). Las bacterias patógenas como *E. coli* estimulan la secreción de prostaglandina E2 en cultivos de células endometriales y en explantes de tejidos *in vitro*, lo que puede afectar la función del cuerpo lúteo (Williams *et al.*, 2007) y por ende el mantenimiento de la gestación, produciendo de esta manera un aborto..

Otra asociación ocurre entre *T.pyogenes*, *Bacillus*, *Streptococcus*sp. Por lo general estos organismos llegan a la placenta y al feto por medio del sistema circulatorio. Mientras que estas bacterias pueden no causar signos de enfermedad en la vaca, el feto parece ser más susceptible, en gran parte por su inmaduro sistema inmune. Algunos datos de laboratorio sugieren que estas bacterias son las más comúnmente identificadas en los abortos por agentes bacterianos en ganado lechero (Hoving, 2009)

La microbiología normal de la vagina está compuesta en su mayoría por bacterias y en una menor proporción por hongos (Boscán *et al*, 2010) entre los aislamientos más frecuentes se encuentran: ***Aspergillus***, ***Candiday*** ***Penicillium***. Es difícil realizar un diagnóstico que sugiera que el problema sea de tipo micótico, debido sobre a todo a que la toma de muestras en estos procesos presenta dificultades, impidiendo corroborar que el suceso sea de tipo micótico, en el caso de un aborto, por ejemplo, la posibilidad de contaminación fúngica del feto (García y Blanco, 2000).

Además de los agentes infecciosos ya mencionados hay anomalías en el desarrollo animal que producen fallas reproductivas, estas pueden ser de origen anatómico, tal es el caso del freemartinismos que resultan en hembras estériles por una causa física, estas hembras pueden presentar un útero con

endometrio más pequeño de lo normal, ausencia de tejido ovárico funcional y exteriormente presentar genitales de apariencia normal (Meza-cruz, 2010).

La región Lagunera de los Estados de Durango y Coahuila, conocidos como una cuenca lechera, basan gran parte de su economía en las ganancias obtenidas por las explotaciones ganaderas, mayormente lecheras, es por eso que es necesario realizar estudios para investigar que agentes infecciosos se encuentran involucrados en casos de infertilidad dentro de la región.

## II. Objetivo

---

Este estudio tiene como finalidad determinar la presencia de microorganismos bacterianos aerobios, aislados de vaginas de hembras bovinas con historial de problemas de tipo reproductivo.

## III. Hipótesis

---

Las bacterias aerobias habituales de la flora vaginal en hembras bovinas difieren de la flora bacteriana presente en aquellas que presentan problemas de fertilidad.

## IV. Materiales y Métodos

---

### *Sitio de Estudio*

El estudio fue realizado en el centro de crianza “El Refugio”, localizado en la carretera San Ignacio en el municipio de Gómez Palacio, Durango; el cual cuenta con una población total de: 3204 hembras, de las cuales solo 944 están en edad reproductiva.

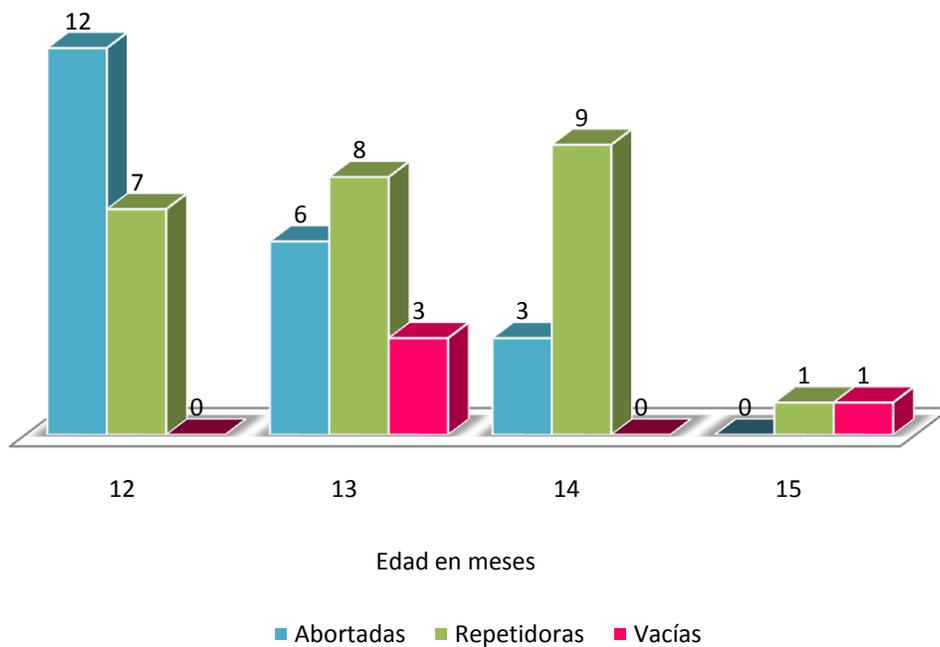
### *Muestra.*

Se analizaron un total de 50 hembras de bovino, raza Holstein, que cumplían con algunos de los siguientes criterios de inclusión: 1) más de tres servicios sin concepción, 2) reabsorción embrionaria, 3) abortos (tempranos o tardíos) y 4) repetición de celos en su historial. En el cuadro 1 se muestran las patologías que presentaban las hembras bovinas al momento de la recolección de la muestra.

**Cuadro 1. Patologías presentes al momento de la toma de muestra.**

Patología	No.	%
Aborto	21	42
Repetidora	24	48
Vacías	4	8
Reabsorción	1	2
<b>Total</b>	<b>50</b>	<b>100</b>

El rango de edad de las hembras muestreadas es poco amplio, las edades abarcan entre los 12 a 15 meses, distribuidas conforme muestra la Figura 1.



**Figura 1. Edad de las hembras bovinas al momento de la recolección de muestras**

Se consideran reabsorciones a los casos en que las hembras hayansido diagnosticadas como gestantes con un tiempo menor de 35 días y

presentaron celo posteriormente. Para el caso de abortos tempranos, se incluyeron las hembras que fueron diagnosticadas gestantes con un tiempo mayor de 35 días y posteriormente presentaron celo sin evidencias de fetos abortados. Estas situaciones se tomaron de las evaluaciones reproductivas rutinarias llevadas a cabo en la explotación, así como del software utilizado para administrar los registros del estable.

### *Recolección y Transporte de Muestras*

Los animales fueron seleccionados durante la revisión diaria, los que cumplían con los criterios de inclusión fueron separados del resto de los animales del corral y llevados a una manga para restringir sus movimientos. Se procedió a lavar el área anal, vulvar, región perineal y la base de la cola con agua limpia, jabón y un cepillo de cerdas suaves. Se aplicó una solución desinfectante a base de cloruro de benzalconio, eliminado el exceso de líquido con papel absorbente. Una vez desinfectada el área se procedió a tomar la muestra, es decir, un hisopado vaginal. Se acoploun hisopo estéril de 15 cm de longitud una funda sanitaria nueva, de las que se emplean dentro de la misma explotación para proteger la pipeta de semen durante la práctica de la inseminación artificial; se introduce entre los labios de la vulva, cuidando que no toque ninguna superficie, a base de movimientos rotatorios se procedió a pasar el hisopo por las paredes de la vagina, una vez realizado el hisopado la muestra se introduce inmediatamente después en untubo de ensaye previamente rotulado con el número de identificación del animal y con medio de transporte para preservar los microorganismos aerobios (medio Stuart), este se cierra y se mantiene en refrigeración durante su traslado y hasta su procesamiento, que no excede un tiempo de una hora.

A todas las muestras obtenidas se les hace un extendido previo a su cultivo (frotis directo) y se prosigue con la tinción de Gram para determinar qué tipo de bacterias son las que pueden estar presentes en el cultivo.

### *Cultivo.*

Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Microbiología de la Unidad de Diagnóstico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna.

Todas las muestras recolectadas se sembraron en Agar sangre, agar sal y manitol, agar eosina y azul de metileno y agar McConkey, bajo condiciones previamente estandarizadas. Se incubaron por 24 horas a temperatura promedio de 36° C. Posteriormente se determinó el crecimiento bacteriano evaluando las características macroscópicas (tamaño, forma, borde, color, superficie y tipo de hemolisis) y microscópicas de cada una de las colonias por tinción Gram. Además de realizar aislamientos en agar para métodos estándar y agar bilis rojo violeta, de cada una de las colonias que crecieron en los medios antes mencionados, para realizar las pruebas bioquímicas necesarias para la correcta identificación de los microorganismos Gram negativos.

### *Pruebas Bioquímicas.*

Las pruebas empleadas son las que sugiere Mac Faddin (1980). Se realizó la prueba de catalasa que tiene como propósito diferenciar *Streptococcus* sp. de *Staphylococcus* sp. ya que ambos son cocos Gram positivos. Así como las principales pruebas empleadas para la diferenciación de las bacterias aerobias, que conforman la familia de las enterobacterias.

- TSI (Agar Hierro Triple Azúcar), esta prueba muestra la producción de ácido sulfhídrico, la habilidad de los microorganismos para fermentar azúcares (glucosa, lactosa y sacarosa) así como su capacidad de producir gas.

- MIO (Motilidad IndolOrnitina), determinar si un organismo es móvil o no y demuestra la capacidad del organismo para dividir el indol de la molécula de triptófano con ayuda del reactivo de Kovac.
- LIA (Agar Lisina), utilizamos esta prueba para confirmar la fermentación de glucosa.
- Urea. Determina la habilidad de un organismo para dividir la urea por medio de la enzima ureasa, formando moléculas de amoníaco.

### *Grupo Control*

Paralelo a este trabajo se realizó un estudio en el que se determinó la flora normal presente en vaquillas vírgenes (no expuestas a inseminación artificial y/o toro).

## V. Resultados

---

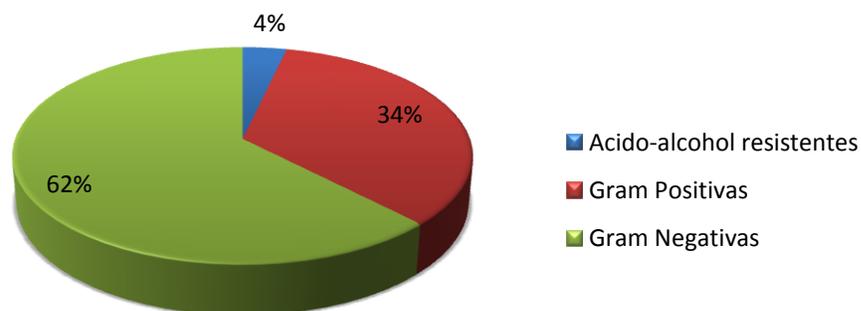
Una vez realizados los muestreos y las pruebas necesarias para determinar el tipo de microorganismos aislados por medio de los hisopados vaginales, se obtuvieron los aislamientos reflejados en el Cuadro 2.

**Cuadro 2. Frecuencia de bacterias aerobias aisladas de vaginas de hembras con problemas reproductivos.**

<b>Genero</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Total de Vacas</b>	<b>%</b>
<i>Trueperellapyogenes</i>	6	50	12
<i>Bacilluspp.</i>	9	50	18
<i>Enterobacterspp.</i>	11	50	22
<i>Escherichiacoli</i>	27	50	54
<i>Klebsiellaspp.</i>	18	50	36

<i>Proteusspp.</i>	3	50	6
<i>Salmonellaspp.</i>	8	50	16
<i>Shigellaspp.</i>	4	50	8
<i>Enterococcuspp.</i>	3	50	6
<i>Mannheimiahaemolytica</i>	7	50	14
<i>Pasteurellamultocida</i>	4	50	8
<i>Pseudomonaspp.</i>	10	50	20
<i>Pseudomonaaeruginosa</i>	12	50	24
<i>Staphylococcuspp.</i>	25	50	50
<i>Streptococcuspp.</i>	20	50	40

En cuanto a las bacterias aisladas a partir del tracto reproductivo, estas se clasifican en cuatro grupos principales (Sánchez *et al.*, 2011) que son: bacterias Gram positivas, Gram Negativas, Ácido-alcohol resistentes y bacilos esporoformadores; en este estudio obtuvimos incidencia en solo tres de estos grupos (Figura 2).



**Figura 2. Grupos de bacterias aisladas a partir de hisopados vaginales obtenidos de hembras bovinas con problemas reproductivos.**

Un aislamiento importante fue el del grupo de las Gram negativas en el que se incluye a la familia *Enterobacteriaceae*; en el presente estudio se destaca

la presencia de: *E. coli* y *Klebsiellasp.* que como ya se hizo mención son de las principales bacterias aisladas en este trabajo, es por eso que tomamos en cuenta que del 62% de aislamientos de bacterias Gram negativas el porcentaje de Enterobacterias corresponde al 42.3% de las cuales se indica el número de aislamientos y el porcentaje correspondiente a cada género en el cuadro 3.

**Cuadro 3. Frecuencia de bacterias de la familia *Enterobacteriae* aisladas a partir de hisopados vaginales de bovinos que presentan problemas reproductivos.**

<b>Familia Enterobacteriae</b>	<b>Aislamientos</b>	<b>Porcentaje</b>
<i>Enterobactersp.</i>	11	6.6%
<i>E. coli</i>	27	16.1%
<i>Klebsiellasp.</i>	18	10.7%
<i>Proteussp.</i>	3	1.8%
<i>Salmonella sp.</i>	8	4.8%
<i>Shigellasp.</i>	4	2.4%
	<b>71</b>	<b>42.3%</b>

De esta manera observamos que el grado de incidencia que muestran las Enterobacterias dentro de los aislamientos realizados es muy alto ocupando un alto porcentaje de importancia dentro de este estudio.

## VI. Discusión

Dentro de la flora bacteriana existen microorganismos que son residentes normales y bacterias consideradas como patógenas y/o oportunistas que pudieran estar generando problemas de tipo reproductivo que afectan la productividad del hato muestreado.

El tema de la reproducción es de suma importancia dentro de la industria lechera, diversos autores han evaluado la presencia de bacterias que puedan afectar la productividad y eficiencia reproductiva de un hato; tal es el caso de

Williams (2007) que en uno de sus estudios comprueba que la alianza entre *E. coli* y *T. pyogenes*, que en este estudio tienen una incidencia del 54% y del 12% respectivamente, generan una endometritis clínica posparto, ambas bacterias tienen una acción sinérgica, *E. coli* domina el útero hasta por 14 días posparto haciendo que la susceptibilidad del endometrio a una infección con *T. pyogenes* sea mayor, lo que deriva en una infertilidad debido a que los animales que contienen este patógeno en el útero por más de 7 días presentan una perturbación en el crecimiento y función del folículo ovárico, y en animales que ovularon el cuerpo lúteo es más pequeño y por lo tanto producen menos progesterona.

Referente a *E. coli* un estudio realizado en Cuba (Fernández *et al.*, 2006) se encontró que la frecuencia de aislamiento obtenido a partir del cérvix de hembras bovinas en periodo puerperal fue de un 38.6% cifra que está por debajo del porcentaje de aislamiento obtenido en este experimento (54%).

Con respecto al resto de los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, es decir, *Klebsiellasp.* y *Shigellasp.* que tienen una frecuencia de ocurrencia en el presente estudio, de 36% y 8% respectivamente, estas dos bacterias han sido reportadas como patógenos uterinos reconocidos y se sabe que impiden el desarrollo del embrión, produciendo abortos infecciosos, que de forma esporádica se llega a conocer el verdadero agente causal, dejando de lado la prevención que podría tenerse. Sánchez (2011) ejecutó un estudio en el que a partir de lavados uterinos realizó la identificación de microorganismos bacterianos; en dicho estudio la incidencia de *Klebsiellasp.* 16.66%, lo que coincide con resultados obtenidos por González (2007) en donde la ocurrencia de aislamiento fue de 16.4%, porcentaje que es muy bajo a comparación del 36% que obtuvimos en este estudio.

Los *Streptococcus* *sp.* son agentes infecciosos que se pueden transmitir fácilmente por el líquido seminal, causando infecciones uterinas y problemas inflamatorios como endometritis y metritis, llegando a ser en ocasiones purulentas por la asociación con otras bacterias o simplemente por la alta colonización de éstas, se determinó que esta bacteria puede llegar a ser microbiota normal de secreciones cérvico-uterinas de vacas clínicamente sanas, además de estar presente en infecciones puerperales luego de los primeros 15 días post-parto (Sánchez, 2011), por su parte Panangala (1978) obtuvo un 66% de aislamientos a partir de la evaluación de moco vaginal en hembras bovinas que presentaban repetición de celos, este resultado se asemeja al obtenido en este estudio donde se posiciona a los estreptococos

en el tercer lugar de los microorganismos mayormente aislados con una significancia del 40%.

Durante el período puerperal se presenta un amplio espectro de contaminantes ambientales que también son considerados como microorganismos oportunistas tal es el caso de las *Pseudomonas* spp. y *Staphylococcus* spp. El hallazgo de *Pseudomonas* spp. puede ser una de las causas de la ocurrencia de metritis séptica y que en muchos casos está asociada a la retención de membranas fetales (González *et al.*, 2007). La ocurrencia de *Pseudomonas* spp. durante este estudio es de un 44% siendo esta la segunda bacteria más aislada a partir de hisopados de hembras vacunas con problemas reproductivos en este estudio.

De las 50 vacas analizadas 24 o sea un 48%, fueron repetidoras de celo; es posible que la endometritis subclínica se encuentre entre las causas que pudieran llevar a estas vacas a fracasar en la gestación y repetir celos, siendo difícil este diagnóstico ya que los signos clínicos, suelen pasar desapercibidos. Tampoco es fácil detectarla por examen rectal, lo que concuerda con González *et al.* (2007), quienes señalan que el estudio bacteriológico del mucus uterino no refleja el estado del endometrio por lo que hubiera sido necesaria la realización de estudios histopatológicos para confirmar estos hallazgos.

## VII. Conclusión

---

La importancia de aislar estos gérmenes radica en la capacidad que tienen para producir afecciones en el tracto reproductivo, tales como la endometritis que pueden ser originadas por un mal manejo por parte del personal encargado del manejo reproductivo de los animales

En el presente estudio se aislaron bacterias que, a pesar de pertenecer a la flora normal de la vagina, están descritas como patógenas oportunistas, es decir, en situaciones favorables causarán infecciones y otras descritas como saprofitas, es decir, raramente causarán infecciones. Estas afirmaciones, permiten tomar en cuenta la flora vaginal en momentos donde la vaca enfrenta situaciones adversas durante y después del parto como distocia, retención placentaria, cervicitis, vaginitis, metritis, endometritis y piómetra; la realización de este estudio permite plantear un panorama acerca de cuáles

son las bacterias que están presentes en los animales para de estamanager reunir herramientas terapéuticas y de manejo para curar y prevenir estas patologías reproductivas y minimizar los efectos desfavorables sobre la eficiencia reproductiva y la producción de leche.

Si comparáramos los resultados reflejados en este estudio, con los obtenidos con los del grupo control, que son una variable de estudio, observamos que hay una diferencia notable en la frecuencia de ocurrencia de la aparición de los diferentes géneros de bacterias aislados. Esto significa que hay una población residente de bacterias “normal” en las paredes vaginales tanto en las vaquillas que no han sido expuestas a toro y/o inseminación artificial y en las hembras que presentan problemas de abortos, repetición de celo y entre las que se encontraron vacías.

Este estudio refleja una alta carga bacteriana potencialmente patógena; comparada con la que se obtuvieron en diferentes experimentos realizados por otros autores. Este hallazgo sugeriría la presencia de una endometritis que debería ser diagnosticada por los médicos encargados del manejo reproductivo de estas hembras. Tendría que llevarse a cabo un examen vaginal y otro rectal, en los que se evaluaría el estado de la mucosa a lo largo de la vagina y de la que se encuentra alrededor del orificio cervical, además de evaluar la situación, simetría, consistencia y tono de los cuernos uterinos y de la textura ovárica, comparando estos resultados con el aspecto de las secreciones vaginales al realizar estimulación cervical por palpación rectal.

## VIII. Recomendaciones

---

Una vez concluido este estudio y habiendo observado que la población bacteriana que habita en la porción vaginal del tracto reproductivo de hembras bovinas que presentan problemas de fertilidad se encuentra alterado por la presencia de ciertos microorganismos considerados patógenos, me permito dirigir estas recomendaciones. Hay tres aspectos primordiales en los que no se está prestando la atención necesaria.

### **1. Bioseguridad**

Este aspecto es básico para obtener una buena productividad. Es necesario el uso de protocolos que permitan realizar un buen manejo de la parte

biológica dentro de la explotación desde el uso de guantes hasta como es que se desechan los viales que en algún momento contuvieron fármacos, las pajillas de semen. Es de trascendental importancia la limpieza de las mangas de palpación y demás implementos que entren en contacto con el conducto vaginal, para evitar que los patógenos que se puedan adquirir por medio de la manipulación reproductiva o de cualquier otro ende se propague en el hato y cause serios problemas reproductivos.

## **2. Instalaciones**

Previo a la realización de este estudio constatamos que el estado en el que se encuentran las instalaciones de la explotación no son las más favorables para una óptima producción. Hay que poner en práctica la rehabilitación de pilas de agua, sombras, puertas de los corrales, comederos, etc. Esto para reducir los accidentes que se producen por la desatención en la que se encuentran las instalaciones en general

## **3. Manejo reproductivo**

La importancia de aislar estos gérmenes radica en la capacidad que tienen para producir afecciones en el tracto reproductivo tales como la endometritis que pueden ser originadas por un mal manejo por parte del personal encargado del manejo reproductivo de los animales y que puede desencadenar una mala conducta reproductiva en la hembra vacunay por ende reflejándose en los parámetros productivos del hato completo que al final se reflejan en costos de producción y reducción de las ganancias. El hecho de iniciar el manejo reproductivo a una edad adecuada es de vital importancia para evitar los gastos generados por una inseminación realizada antes de tiempo.

## Referencias

---

Aguilar Romero, F., Trigo Tavera, F.J., Herrera López, E., Ávila García, J. y Suárez Güemes, F. (2012). "Histophilussomni (Haemophilussomnus) aislado en casos de problemas del aparato reproductor de ganado lechero. Primer informe en México." *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*.43(2): 185 a 195.

Alba Gómez, L.O., y Silveira Prado, E. A. (2006). "La leucorrea vaginal bovina de carácter no inflamatorio y su significación clínica". *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 7 (10): 1-29.

Ata, A.,Türütoglu, H., SükrüGülay, M. yPehlivanoglu, F. (2010). "Microbial Flora of Normal and Abnormal Cervical Mucous Discharge Associated with Reproductive Performance of Cows and Heifers in Estrus". *Journal of animal science*. 23 (8): 1007-1012.

Bavera G. (2005) "Puerperio, diestro, posparto y fertilidad". En: <http://www.produccion-animal.com.ar> (16 de Octubre de 2013).

BoscánOcando, J., Zambrano Nava, S., Nava, J. y Portillo Martínez, G. (2010). "Perfil de la flora bacteriana vaginal. Un riesgo potencial para la reproducción de vacas criollo limonero." *Revista Científica*20(3): 227-234.

Cucarella, C., Tormo, M. A., Knecht, E., Amorena, B., Lasa, I., Foster, T.J. y Penadés, J.R. (2002). "Expression of the Biofilm-Associated Protein Interferes with Host Protein Receptors of *Staphylococcus aureus* and Alters the infective process".*Infection and Immunity*. 70 (6): 3180-3186

Fernández Martínez, A., Silveira Prado, E. A. y López, O. F.(2006) "Las infecciones uterinas de la hembra bovina" *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria* 7 (10): 1-38.

García, M.E. y Blanco J.L. (2000) "Principales enfermedades fúngicas que afectan a los animales domésticos". *Revista Iberoamericana de Micología*. 17: S2-S7

Ginebra, O. A. y Leiva, T. A. (2001). Cocobacilos gramnegativos pequeños: *Brucella*, *Bordetella*, *Franciella* y *Pasteurella*. En: *Microbiología y parasitología Médicas*. Editado por (Casanovas N.). Ciencias Médicas. PrimeraEdición. La Habana, Cuba. 289-301 p

Godin, A., Björkman, C., Englund, S., Johansson, K.E., Niskanen, R. y Alenius, S.(2008). "Investigation of *Chlamydophila spp.* in dairy cows with reproductive disorders". Acta VetScand50: 39.

González, M., Ríos, R. R. y Mattar, S. (2007). "Prevalencia de bacterias asociadas a la infertilidad infecciosa en bovinos de Montería, Colombia." Revista MVZ Córdoba12(2): 1028-1035.

Gur, S. y Dogan, N. (2010). "The possible role of bovine herpesvirus type-4 infection in cow infertility." AnimSci J81(3): 304-308.

Hoving, E. (2009) "Abortions in Dairy Cattle – I Common Causes of Abortions". En: [http://pubs.ext.vt.edu/404/404-288/404-288\\_pdf.pdf](http://pubs.ext.vt.edu/404/404-288/404-288_pdf.pdf) (7 de Agosto de 2013)

Jost, B.H. y Billington, S.J.(2005). "*Arcanobacterium pyogenes*: molecular pathogenesis of an animal opportunist". *Antonie van Leeuwenhoek*. 88 (2), 87-102

Manos, J. y Belas, R. (2006). "The Genera *Proteus*, *Providencia* and *Morganella*". En: [www.ic.ucsc.edu/~saltikov/bio119/.../Proteus.pdf](http://www.ic.ucsc.edu/~saltikov/bio119/.../Proteus.pdf) (9 de octubre de 2013).

Martínez Izquierdo, A.M., Pérez Amarillo, J. I. y Pérez Monrás, M. F. (2001). *Pseudomonas*. En: *Microbiología y parasitología Médicas*. Editado por (Cassanovas N.). Ciencias Médicas. Primera Edición. La Habana, Cuba. 303-312 p.

Meza-cruz J.B. (2010) "Patologías relacionadas con el tracto reproductivo en herbívoros, carnívoros y primates". En: <http://veterinariosvs.org/pub/index.php/cima/article/view/10> (7 de agosto de 2013)

Njiro, S. M., Kidanemariam, A.G., Tsetetsi, A.M., Katsande, T.C., Mnisi, M., Lubisi, B. A., Potts, A. D., Baloyi, F., Moyo, G., Mpofo, J. Kalake, A. y Williams, R. (2011). "A study of some infectious causes of reproductive disorders in cattle owned by resource-poor farmers in Gauteng Province, South Africa" *Journal of the South African Veterinary Association*. 82(4), 213-218.

Otero C., Saavedra, L., Silva de Ruiz, C., Wilde, O., Holgado, A.R. y Nader-Macías, M.E. (2000). "Vaginal bacterial microflora modifications during the growth of healthy cows". *Letters in applied microbiology*. 31 (3), 251-254.

Panangala, V.S., Fish, N. A. y Barnum, D. A. (1978) Microflora of the Cervico-Vaginal mucus of repeat breeder cows. The Canadian veterinary journal. 19 (4). 83-89

Rodríguez -Ángeles, G. (2002) "Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichiacoli*". *Salud Pública de México*, 44(5), 464-475.

Rocha, A. A., Gambarini, M. L., Andrade, M. A., Dias de Oliveira Filho, B. y Araujo Gomes, F. (2004). "Microbiotacérvico-vaginal durante o final de gestação e puerpérioem vacas girolando". *Ciênc. Anim. Bras.* 5(4), 215-220.

Samaniego, L.M. y Sosa, M. (2000). "*Lactobacillus*spp.: Importantes promotores de actividad probiótica, antimicrobiana y bioconservadora". En: [www.bibliociencias.cu/gsd/collect/libros/index/assoc/...dir/doc.pdf](http://www.bibliociencias.cu/gsd/collect/libros/index/assoc/...dir/doc.pdf) (17 de Octubre de 2013)

Sánchez, M., Gonzalez, C., Castañeda, R., Guáqueta, H., Aranda, M. y Rueda, M. (2011) "Evaluación citológica y microbiológica de lavados uterinos en bovinos con problemas reproductivos (estudio preliminar)" *Revista MVZ Córdoba* 16 (3): 2711-2720

Seija, V. (2006) "Género *Staphylococcus*". En: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Staphylococcus.pdf> (22 de Agosto de 2013)

Tortone, C.A. y Luchesi, G.I. (2005). "Participación del glutamato en la adaptación de *Pseudomonaaeruginosa*". *Cienciaveterinaria...* 7(1): 45-64.

Warnick, A. C. y Hansen, P. J. (2010). "Comparison of ovulation, fertilization and embryonic survival in low-fertility beef cows compared to fertile females." *Theriogenology*73(9): 1306-1310.

Williams, E.J., Fischer, D. P., Noakes, D. E., England, G. C. W., Rycroft, A., Dobson, H. y Sheldon, I. M.(2007). "The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow".*Theriogenology*68: 549-559.