

Caracterización de la flora vaginal del bovino post implante intravaginal de progesterona

Autor: Barbara Lara R.

Profesor Guía: Dra. Cecilia Rivas C.

Concepción–Chile, 2015.

Los productores de ganado bovino en Chile están día a día innovando más en reproducción, es por ello que las biotecnologías (Inseminación Artificial y Transferencia de Embriones) son los métodos más utilizados para lograr una eficiencia reproductiva. Es por ello que hoy los métodos de sincronización de estros están siendo cada vez más utilizados, siendo los esquemas a base de implantes de progesterona en asociación con otras hormonas, los métodos que logran mayores porcentajes de fertilidad en los rebaños. Estos implantes intravaginales se caracterizan por estar impregnados en progesterona, la que puede ser sintética o natural. La mayor característica de estos implantes intravaginales de progesterona es que mantienen un contacto directo con la mucosa vaginal, lo que permite la liberación continua de progesterona al torrente sanguíneo.

El uso de los implantes intravaginales genera en la vagina un proceso inflamatorio, debido a que este se reconoce como cuerpo extraño, provocando también otros trastornos del tracto reproductivo del bovino.

Las pérdidas económicas ocasionadas por problemas reproductivos son de gran relevancia en la producción de ganado, debido a que afectan la productividad del rebaño; por ello, es de suma importancia reconocer la presencia de agentes patógenos en el tracto genital de los bovinos, post retiro de implantes intravaginales.

La vagina en la hembra cumple varias funciones, forma parte del canal del parto, es el órgano del coito, también actúa como defensa frente a algunos microorganismos, entre otros.

Este trabajo evaluará la flora microbiana que habita en la vagina post retiro de implante intravaginal de progesterona en hembras bovinas con más de un parto y en vaquillas que serán sometidas a un esquema de sincronización de estro para luego ser inseminadas

Objetivo general: caracterizar la flora vaginal de hembras bovinas post retiro de implante intravaginal de progesterona.

Objetivos específicos:

- Describir las bacterias presentes en el fondo de la vagina post retiro de implantes de progesterona.
- Identificar los principales géneros bacterianos obtenidos post cultivo bacteriano de las muestras

Materiales y métodos

El estudio se realizó en tres localidades de Concepción; el Fundo Pemerehue de la comuna de Arauco, la Parcela San

Eduardo, en la comuna de Coronel, y la Parcela El Magnolio (sector de Pocollay), en la comuna de Ñaupa Florida.

Se tomaron y analizaron un total de 48 muestras de hembras bovinas, entre vacas y vaquillas de diferentes razas. (Hereford, Angus y Overo negro).

Los animales seleccionados para el programa de inseminación artificial fueron temporalmente separados del piño para ser trasladados a un corral con manga para la postura del implante.

Primero, se procedió a la palpación transrectal de la hembra para evaluar su estatus reproductivo; posteriormente, se procedió a hacer una limpieza en seco de toda la zona perianal y vulvar para luego lavar la zona con antiséptico Acriflavina® y posteriormente secar el exceso de líquido con papel absorbente.

Una vez desinfectada la zona, se procedió a tomar la muestra con un hisopo estéril (BBL™ CULTURESWAB™ PLUS, (Collection & Transport System), a través de un espéculo. Este hisopo permitió el transporte de las muestras y facilitó el mantenimiento, tanto para microorganismos aerobios como para anaerobios. Se pasó el hisopo por las paredes de la vagina, en movimientos rotatorios; una vez tomada la muestra, se introdujo rápidamente al medio de cultivo que venía con el hisopo, rotulando con el número de identificación del animal y se mantuvieron las muestras refrigeradas durante el traslado hasta el Laboratorio de Ciencias Básicas de la Universidad de Las Américas, Sede Concepción).

Cultivo y pruebas bioquímicas

Todas las muestras se sembraron al inicio en tubos de ensayo con caldo nutritivo por 24 horas a 37° C. Luego del cultivo, las muestras fueron procesadas y pasadas a un Agar Nutritivo (placas petri) por 24 horas a 37°C; posterior a esto, se realizó una caracterización de las colonias de acuerdo con su morfología y se realizó un frotis con tinción Gram para ver qué microorganismos se encuentran presentes antes de la postura de los implantes.

Luego del retiro de los implantes (7-día), se continuó con el mismo procedimiento que se mencionó anteriormente para la toma de muestras y se agregó a las demás formas de cultivo el agar McConkey, agar Sangre, previamente bajo condiciones estandarizadas, esto para determinar el tipo de microorganismos que proliferan post retiro del implante. Se vuelve a realizar un frotis con tinción Gram.

Se buscaron las propiedades de las bacterias que habitan en el tracto reproductivo de las hembras bovinas aplicando las siguientes pruebas bioquímicas, las cuales conforman la denominada batería:

- a) TSI (Agar Hierro Triple Azúcar): muestra la producción de ácido sulfhídrico, permite ver la habilidad de los

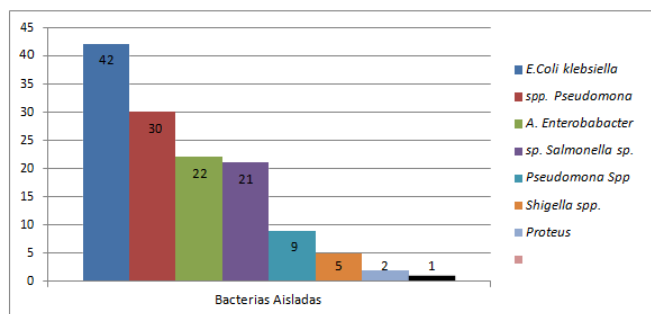
microorganismos para fermentar azúcares (glucosa, sacarosa y lactosa), así como también su capacidad de producir gas.

- b) MIO (Motilidad Indol Ornitina): determina si un organismo es móvil o no, demuestra además la capacidad de este microorganismo para dividir el indol de la molécula de triptófano con ayuda del reactivo de kovac.
- c) LIA (Agar Lisina: lo utilizamos para confirmar la fermentación de glucosa.
- d) Urea: permite determinar la habilidad de un microorganismo para dividir la urea por medio de la enzima ureasa, formando moléculas de amoníaco.

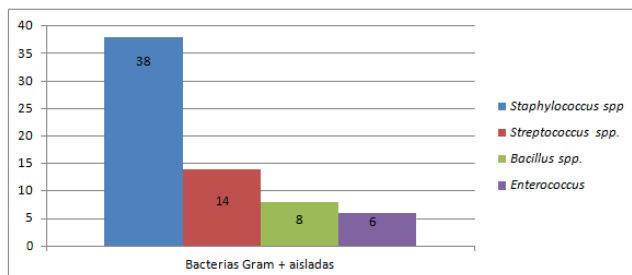
Resultados y discusión

Luego de la determinación de bacterias según tinción ¿Gram?, se identificó por medio de pruebas bioquímicas las bacterias gram negativas con mayor proliferación en el tracto genital de las hembras bovinas post retiro del implante de progesterona.

En el siguiente gráfico se muestran los datos obtenidos, donde el aislamiento más significativo de las enterobacterias fue *Escherichia coli*.



En el siguiente gráfico se muestran los aislamientos que se obtuvieron de las muestras de hisopados vaginales, post implante con progesterona.



Las bacterias aerobias que se aislaron con mayor frecuencia fueron *Echerichia coli*, *Staphylococcus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomona aeruginosa* y *Streptococcus spp.* El total de especies de enterobacterias aisladas fueron 12 y se muestran en la siguiente tabla.

Bacteria Aislada	Total Muestras	Frecuencia	Ocurrencia en %
<i>Escherichia Coli</i>	48	42	87,5
<i>Staphylococcus spp</i>	48	38	79,1
<i>Klebsiella spp</i>	48	30	62,5
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	48	22	45,8
<i>Enterobacter spp</i>	48	21	43,7
<i>Streptococcus spp</i>	48	14	29,1
<i>Salmonella spp</i>	48	9	18,7
<i>Bacillus spp</i>	48	8	16,6
<i>Enterococcus</i>	48	6	12,5
<i>Pseudomona spp</i>	48	5	10,4
<i>Shigella spp</i>	48	2	4,16
<i>Proteus sp</i>	48	1	2

El número de microorganismos aislados a través de los hisopados post retiro de implantes intravaginales fueron elevados (93,75%). Esto confirma la existencia de una microflora saprófita que se considera normal.

En general los dispositivos intravaginales impregnados con una cantidad de progesterona, pese a ser considerados como alternativas válidas para la sincronización de estros (G.A. Bó, Cuitaia y Trébul, 2002), no son manejados con el debido cuidado desde el punto de vista de su contaminación. También en varios de estos dispositivos puede ser considerada su reutilización, con lo que la contaminación podría ser transportada a varias hembras del rebaño y persistir así durante mucho tiempo.

En relación con los hallazgos presentados, considerando la importancia que pudieran tener tanto la inflamación por causas traumáticas inespecíficas, la respuesta vaginal al cuerpo extraño, la presencia de materia fecal y la flora bacteriana normal o esporádica en el éxito de la técnica de inseminación artificial, es que reviste trascendental importancia realizar el manejo de cualquier dispositivo intravaginal, de manera responsable y a través de un minucioso proceso higiénico.

Conclusiones

Se determinó que la flora vaginal de bovinos post retiro de implante de progesterona se caracteriza por ser enterobacterias saprófitas y oportunistas, que proliferan en el tracto genital debido a las condiciones de agresividad de este dispositivo en su interior, causando inflamación de la mucosa vaginal.

En el fondo vaginal se describen varios tipos de bacterias, dentro de las cuales encontramos gram positivas, gram negativas, ácido alcohol resistentes y bacilos esporo formadores.

Post cultivo bacteriano realizado las bacterias con mayor proliferación fueron *Echerichia coli* presentándose en un 87,5%, *Staphylococcus spp* con un 79,1 % y *klebsiella spp* en un 62,5 %. Estas bacterias se caracterizan por ser patógenas en conjunto, siendo resistentes a más de un antibiótico.

Bibliografía

1. AlbaySilveira,(2006).Perfildela florabacterianavaginal.Unriesgopotencialpar a la reproducciónde vacascriollo limonero.Revista Cientifica(23), 227-234.
2. Ata,A.,Türügoglut,H.,et al.(2010).Microbialfloraofnormal andabnormalcervical mucousdischargeassociatedwithreproductive performance ofcowsand heifersin estrus. *Journalofanimal science*, 1007-1012.
3. Bell,J.Roberts,D.(2007).Theimpactofuterineinfectionona dairycow's performancetheriogenology.Vetrec 1074-1079.
4. BoscanOcando, J. Z.(2010). Perfil delaflora bacteriana vaginal. Un riesgo potencialparalareproduccióndevacascriollolimonero. *Revis taCientifica(20)*,227-234.
5. Castro,A.(2002). *Ganaderiadeleche:Enfoqueempresarial*(Pr imeraEdicióned.). CostaRica: Universidadestatal adistancia San Jose.
6. Cruz.Cy Moreno.B (2013).Patologíasdecérvix,vulvay vagina,consultadoen <http://cardenti8.blogspot.cl/2013/03/patologia-de-cervix-vulva-y-vaginacmvz.html> 14.11.2015.
7. DeJarnette,M.yNebel R.(2005).Anatomíayfisiologíadelareproducciónbovina. *Reproductivesolutions*,1-6.
8. Fernández Martínez., A., E.A. Silveira. (2006). Las infecciones uterinas en la hembra bovina.Revista electrónica REDVET.7(10): 1-38.
9. Fernández, Manuel (2008). El ciclo estralde la vaca, diagnóstico fotográfico. Servet.Zaragoza.
10. G.A Bó,L.Cutaia,etal.(2002). Tratamientos hormonales para IATFenbovinos para carne: Algunas experiencias realizadas en argentina. Instituto de reproducción animal. Córdoba. Argentina.
11. Galina,Valenciaetal.(2006).Reproduccióndelosanimalesdo mésticos.Mexico: limusa.
12. González yMattar,S.(2007)Bacteriologíaclínica:Estudioeti ológicode las enfermedades infecciosasdeorígenbacteriana. Tomo1,editorialCEJA, SantaFéBogotá. Pág.278-322.
13. GonzálezT.,M.,R:RiosR.yS.MattarV.(2007).Prevalenciasde bacterias asociadasalainfertilidadinfecciosaenbovinosdeMontería, Colombia. Rev.MVZ Cordoba.12(2):1028-1035.
14. Gonzales.G. (2007)Reproducción. Virbac. Saludanimal al día.México.
15. Hafez.E.S.EyHafez.B.(2002). *Reproduccióneinseminaciónar tificialenanimales* (septimaedicioned.).Mexico:Mc GrauHill.
16. Hoving,E.(2009).Abortionsindairy cattle- lcommoncausesofabortions.(en línea):http://pubs.ext.vt.edu/404/404-288/404-288_pdf.pdf(Consultado el7de agosto de2015).
17. Intervet (2007).Compendiumde reproducciónanimal,Editado porintervetinternacional bv,edición latinoamericana.
18. Manspeaker,JE.Sf(2001).Metritis andendometritis.Universityofmaryland.Dairyintegratedr eproductivemanagementp. 1-3.
19. Méndez.D.(2008).Determinacióndelamicroflorabacterian auterinaenvacas donantesde embriones,previasincronizacióncon implanteintravaginal. UniversidadJaveriana,facultad de cienciasbásicas,microbiologíaagrícola y veterinaria.Bogotá.
20. Otero.,C.,L.Saavedra,C.SilviadeRuiz,O. Wilde,A.R.HolfadoyM.E.Nader- Macías.(2000).Vaginalbacterialmicrofloramodificationsd uringthegrowthof healthy cows.LettersinappliedMicrobiology.31(3): 251-254.
21. Panangala.,V.S.,N.A.Fishy D.A.Bamun. (1978).Microfloraofthecervico-vaginal mucusofrepeatbreeder cows.Larevista veterinaria canadiense. 19(4): 83-89.
22. Pardo. E y Salzer.P(2006). Obstetricia y ginecología. Universidad nacional agraria. Facultaddeciencias animal Nicaragua.
23. PetersR.(1999)Inducedovulationandspawningofculturedf reshwaterfishin China:AdvancesinapplicationofGnRHanalogues anddopamineantagonists. Aquaculture; 74:1-10.
24. Piccinali. R y Trinidad. J. (2003). Consideraciones higiénicas en el uso de dispositivos intravaginales para sincronizar celo en bovinos de carne. Sitio Argentinode producciónanimal, encontradoen web:www.produccion-animal.com.ar(consultado28dediciembre2015).
25. Pursley. T. (1995).Reddrumandothersciaenids.In:BromageNR,Rober tsRJ editors.Broodstockmanagementandegg andlarval quality.BlackwellScience, Oxford, UK. pp. 118-137.
26. Quintinela,L.,Diaz,C,García.P.etal.(2006). *Ecografía yRepro ducción dela vaca*.Santiago de compostela:Serviciodepublicacioneintercambio científico. ISBN:97884-97507752.
27. Resende.D,Santo.E,Macedo.C,etal, (2007)Prevalenceofvirulencefactorsin *Echerichiacoli*strainsisolatedfromthegenitaltractofhealth y cows.ArgsBras. MedVetZootec.Pag 564-568.
28. RiveraM.H(2009).Revisiónanatómicadelaparatoreproduc tordelasvacas.
29. Acceleratedgenetics; Thedairy cattlereproductioncouncildoesnotsupportonepr oductoveranotherandanymentionhereinismeantasanexa mplenotanendorsement.
30. Rocha.,A.A.,M.L.Gambarini,M .AAndrade,B.D.deOliveiraFihoyE.F.AraújoGómez. (2004). Microbiotacervico-vaginal durante o final de gestación en puerperioemvacasgirolando.Ciém.anim.Brasil. 5849:215-220.
31. Sanchez,M.G.(2011).Evaluacióncitológica y microbiológicadelavadosuterinos enbovinosconproblemas reproductivos (Estudio

preliminar).MVZ,2711-2720.

32. Solano.M

yRamónX.(2013).AplicacióndeP4intravaginalenprotocolosde IATF en vacasyaprovisionamientode un equipodeinseminaciónartificiaenel centrode apoyoJuanLunardi.Universidad politecnicaalesiana,carrerade ingenieriaagropecuaria industrial. Cuenca- Ecuador.

33. Syntex.(2002). DIB.Argentina,prospecto deuso.

34. Vadillo,s.Piriz.Mateos,E.(1980).Manualdemicrobiología veterinaria.EditorialMac Graw hill interamericana, Español SBN: 261-325457500.