



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA**

**Trabajo Final presentado para optar al Grado de Médico
Veterinario**

Modalidad: Trabajo de investigación

TITULO:

**“Detección de *Mycoplasmas* en caprinos, en establecimientos de
traslasierra de la provincia de Córdoba”.**

**Nombre del Alumno: Arcelús, Alejandro Andrés
DNI: 36184392**

Directora: Érika Sticotti

**Río Cuarto - Córdoba
Marzo /2019**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Título del Trabajo Final: “**Detección de *Mycoplasmas* en caprinos, en establecimientos de traslasierra de la provincia de Córdoba**”.

Autor: Arcelus Alejandro
DNI: 36.184.392

Directora: Sticotti, Erika

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias de la Comisión Evaluadora:

Sticotti Erika _____

Tamiozzo Pablo Jesús _____

Giraudó, José Ángel _____

Fecha de Presentación: ____/____/____.

Secretario Académico

Dedicatoria:

A mis padres Alejandro y Viviana que me apoyaron en todo momento y nunca me dejaron faltar nada a lo largo de mi carrera universitaria.

A mis hermanos, Mauricio y Marina, que nos mantenemos unidos no soltándonos la mano nunca.

A mis, abuelos que juegan un rol muy importante en mí.

A mi novia, que me acompaña siempre y me dio fuerzas para salir adelante en todo momento.

A mis tios, amigos, compañeros que me acompañaron en esta hermosa etapa.

Agradecimientos:

A Erika Sticotti, mi directora que me guio en este trabajo, destacando su gran vocación por la docencia y valoro la excelente predisposición que día a día se ve manifestada en su labor.

A Pablo Jesus Tamiozzo y Jose Angel Giraudo quienes como evaluadores realizaron valiosos aportes a este trabajo.

A todas las autoridades de la Facultad de Agronomía y Veterinaria y a la Universidad Nacional de Río Cuarto por mi formación.

A Julian Fernandez, Analía Chanique, Pablo Toranzo, Salina Aldana, Alvarado Wanda, y Maria Emilia Marin; quienes me ayudaron enormemente en las labores de campo y laboratorio, brindándome todo su apoyo, conocimiento y buena predisposición para que las tareas salgan según lo planificado.

A todos los productores caprinos de tras las sierras a los cuales visitamos, que nos abrieron las puertas de sus casas haciéndonos sentir uno más de sus familias y confiaron plenamente en nuestra labor para poder demostrar que su producto es totalmente apto para la comercialización y consumo.

Indice	Pagina
Introducción	6
Agente etiológico	11
Patogenia	12
Enfermedad clínica	15
Epidemiología	16
Diagnóstico	20
Control	23
Impacto económico	25
Objetivos	26
Materiales y métodos	27
Resultados	35
Discusión	39
Conclusión	42
Bibliografía	43
Anexo	58

Introducción

El primer aislamiento de *micoplasmas* del aparato respiratorio de los pequeños rumiantes fue registrado en las ovejas en 1955 (Greig, 1955). Se han aislado e identificado hasta la fecha, seis especies de *micoplasmas*, a partir de tracto respiratorio de las ovejas y cabras, sin asociación a una enfermedad determinada. Se ha confirmado y señalado el aislamiento de las siguientes especies de *micoplasmas* del aparato respiratorio de pequeños rumiantes: *M. agalactiae*, de cabras (Cottew y Lloyd, 1965) y ovejas (Arisoy *et al.*, 1967). *M. arginini*, de cabras (Arisoy *et al.*, 1967) y ovejas (Barile *et al.*, 1968). *M. mycoides*, subespecie *capri* (cepa PG 3), de cabras (Chu y Beveridge, 1949). *M. mycoides*, subespecie *mycoides*, de cabras y escasa vez de ovejas (Al-Aubaidi, 1972). *M. ovipneumoniae*, de ovejas (Mackay *et al.*, 1963) y cabras (Harbi, 1977). *Acholeplasma laidlawii*, de ovejas y *M. ovipneumoniae* en las cabras (Krauss y Wandera, 1970), (Harbi, 1977, Livingston y Gauer 1979, Cottew, 1980).

Se considera que *M. mycoides*, subespecie *capri* (cepa de tipo PG 3) es el agente etiológico clásico de PNCC (Cottew, 1979a). Se caracteriza la infección natural causada por este micoplasma por una enfermedad respiratoria que afecta exclusivamente a las cabras; experimentalmente, se pueden infectar tanto los ovinos como los caprinos.

Las cepas de *M. mycoides*, subespecie *mycoides*, aisladas en cabras afectadas por pleuroneumonía (Perreau, 1971, 1979; Bar-Moshe y Rappaport, 1979) morfológicamente se presentan en dos formas: en pequeñas y grandes colonias (Cottew, 1979a). Los tipos en pequeñas colonias incluyen el agente clásico de la perineumonía contagiosa bovina (PNCB) y experimentalmente son patógenos para bovinos, ovinos y caprinos. Las formas en grandes colonias sólo parece que son patógenas para caprinos y ovinos. Una cepa (F 30) de este germen provocó no sólo una pleuroneumonía en ovejas y cabras tras la inoculación intratraqueal o endobronquial, sino también una reacción edematosa en el lugar de la inoculación subcutánea. (MacOwan, 1976; Rosendal, 1981)

Al no ser esta enfermedad transmisible por contacto, estimó MacOwan (1976) que no se trataba de pleuroneumonía contagiosa caprina (PNCC) clásica. McMartin *et al.* (1980) afirman que únicamente la cepa F 38 de *micoplasma* puede causar la PNCC clásica. Señalan estos autores que la cepa F 38 puede causar una enfermedad que presenta tres características esenciales (Hutcheon, 1881, citado por McMartin *et al.*, 1980). 1) La fácil diseminación de la enfermedad en las cabras susceptibles, 2) La ausencia de infección en ovinos y bovinos, y 3) La falta de reacciones edematosas locales en las cabras tras la inoculación subcutánea. Basándose en esas observaciones, estiman McMartin *et al.* (1980) que el *micoplasma* F 38 es el único que puede provocar la PNCC clásica. Esta opinión queda corroborada por los recientes aislamientos de un *micoplasma* de tipo F 38, de cabras afectadas de PNCC en Sudán (Harbi *et al.*, 1981).

La PNCC es una enfermedad grave de las cabras que se presenta en muchos países de África y de Asia, causada por *Mycoplasma capricolum subsp. capripneumoniae* (Mccp). Es una de las más graves e importantes enfermedades desde el punto de vista económico para las cabras, aunque afortunadamente no están afectadas las ovejas. Se registró la PNCC en 31 países (McMartin *et al.*, 1980).

La forma aguda de la enfermedad se caracteriza por una pleuroneumonía serofibrinosa unilateral con derrame pleural intenso (Thiaucourt & Bolske, 1996).

Desde el punto de vista de la clasificación taxonómica, Mccp pertenece al denominado “grupo mycoides” (Manso-Silvan *et al.*, 2007), y recibe este nombre desde el año 1993 (Leach *et al.*, 1993). Los microorganismos más estrechamente relacionados con el mismo, son *Mycoplasma capricolum subsp. capricolum* y *Mycoplasma leachii*, que puede generar reacción cruzada con Mccp, pero los demás miembros del grupo mycoides, como *Mycoplasma mycoides subsp. capri* o *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides* también pueden tener en común algunas características.

La primera descripción de la enfermedad se realizó en Argelia en 1873. Poco después, en 1881, la enfermedad se introdujo en Sudáfrica como consecuencia de un envío de cabras de Angora. La enfermedad se erradicó siguiendo una política de sacrificio de las cabras infectadas, junto a un programa de vacunación tradicional de las cabras que habían estado en contacto con las infectadas (Hutcheon, 1889).



Imagen N°1. Corral típico de la zona de muestreo.

Mientras tanto, este microorganismo se aisló por primera vez en Kenia, momento en el que se demostró que era la causa de la PNCC (MacMartin *et al.*, 1980; MacOwan & Minette, 1976); con posterioridad se ha aislado en Sudán, Túnez, Omán, Turquía, Chad, Uganda, Etiopía, Nigeria, Tanzania, Eritrea y los Emiratos Árabes Unidos, y más recientemente en las Islas Mauricio (Srivastava *et al.*, 2010), China (Chu *et al.*, 2011) y Tayikistán (Amirbekov *et al.*, 2010). En el continente europeo, la PNCC se describió por primera vez en el 2004, cuando se confirmaron brotes en la región de Tracia, Turquía, con pérdidas de hasta el 25% de cabritos y adultos en algunas poblaciones (Ozdemir *et al.*, 2005). Sin embargo, no se conoce la distribución exacta de la enfermedad y puede estar mucho más distribuida que la zona integrada por los países donde se ha aislado Mccp, ya que la PNCC se confunde con frecuencia con otras infecciones respiratorias y también como consecuencia de que el aislamiento del microorganismo causante resulta difícil.

En brotes de PNCC donde hay rebaños mixtos de cabras y ovejas, las ovejas también pueden resultar infectadas, como se ha demostrado mediante el aislamiento de Mccp (Bölske *et al.*, 1996) o la detección de anticuerpos en ovejas clínicamente afectadas. También se ha aislado Mccp de ovejas sanas (Litamoi *et al.*, 1990) y debe tenerse en cuenta el papel de las ovejas como reservorio de la enfermedad.

La enfermedad se ha confirmado en rumiantes salvajes dentro de una reserva de fauna salvaje de Qatar. Afectó a cabras salvajes (*Capra aegagrus*), cabras montesas nubias (*Capra ibex nubiana*), muflones (*Ovis orientalis laristanica*) y jirafas gacela (*Litocranius walleri*), con una morbilidad y mortalidad considerables en estas especies (Arif *et al.*, 2005). También se ha notificado en gacelas de Emiratos Árabes Unidos (Nicholas *et al.*, 2008).

La PNCC no es una enfermedad zoonótica. Por lo que se sabe, no existe riesgo de infección para el ser humano por Mccp (OIE. 2014)

En condiciones de campo, el diagnóstico diferencial puede resultar difícil porque las cabras pueden estar infectadas por varias especies de micoplasmas que podrían inducir signos similares. No obstante, puede sospecharse de PNCC cuando las lesiones se limitan al tracto respiratorio, cuando afectan solo a un pulmón o cuando los animales presentan una pleuritis manifiesta con derrame profuso de líquido pleural. La PNCC también podría confundirse con la peste de los pequeños rumiantes o con la pasteurelosis (OIE. 2014).

Agalaxia Contagiosa (AC)

La agalaxia contagiosa, es una enfermedad conocida desde hace casi 200 años y se caracteriza por mastitis, artritis y queratoconjuntivitis. Se presenta en Europa, Asia occidental, los EE.UU. y norte de África, y está causada sobre todo por *Mycoplasma agalactiae* (Bergonier *et al.*, 1997). En muchos países también se han aislado de ovejas y cabras con mastitis y artritis otras especies como *M. capricolum* subespecie *capricolum* (Mcc) y *M. mycoides* subespecie

mycoides LC (MmmLC); (LC = colonias grandes) y *M. putrefaciens*. El acuerdo del grupo de trabajo sobre agalaxia contagiosa de la Acción de la Cooperación Europea en el área de Investigación Científica y Técnica (COST) 826 de la Comunidad Europea sobre micoplasmosis en rumiantes, que se reunió en Tolouse, Francia, en 1999, estableció que los cuatro micoplasmas deben ser considerados como agentes etiológicos de la agalaxia contagiosa (OIE, 2014).

La enfermedad causada por *M. agalactiae* se puede reconocer clínicamente por un síndrome febril, inapetencia, mastitis y artritis aguda, alteraciones en la consistencia de la leche en cabras productoras, con descenso y posterior desaparición de la producción láctea, cojera y, en algunos animales, queratoconjuntivitis (Bergonier *et al.*, 1997). Las hembras gestantes pueden abortar. En ocasiones, se puede encontrar *M. agalactiae* en lesiones pulmonares (Loria, *et al.*, (1999), pero la presencia de neumonía no es un síntoma constante. La aparición de bacteremia es común, sobre todo en el caso de *MmmLC* y *Mcc*, y podría explicar el aislamiento del microorganismo de sitios donde se presenta sólo esporádicamente. Como resultado de la infección con *MmmLC* puede aparecer mastitis, artritis, pleuritis, neumonía y queratoconjuntivitis. *MmmLC* presenta una de las distribuciones geográficas más amplias de los micoplasmas de rumiantes, encontrándose en todos los continentes que crían pequeños rumiantes y donde se describe la agalaxia contagiosa y la pleuroneumonía caprina, incluyendo Sudamérica (Bergonier *et al.*, 1997). No obstante, la falta en muchos países de servicios de diagnóstico para enfermedades producidas por micoplasmas hace que su presencia sea probablemente subestimada (Nascimento *et al.*, 1986). *MmmLC* está fundamentalmente restringido a las cabras, pero en ocasiones se ha aislado de ovinos con balanopostitis y vulvovaginitis (Trichard *et al.*, 1993) y bovinos (Perreau y Bind 1981).

Por lo general los casos son esporádicos, pero la enfermedad puede ser persistente y extenderse lentamente dentro de un hato. Después del parto, aumenta la oportunidad de diseminación en animales lactantes, pues los cabritos que toman el calostro y la leche infectada resultan afectados. La septicemia que se origina, con artritis y neumonía, da lugar a una elevada mortalidad en los cabritos (Da Massa *et al.*, 1983; Rodriguez *et al.*, 1995).

Según Benkirane *et al* 1993 en esa época *Mcc* estaba ampliamente distribuido, sobre todo en el norte de África, pero la frecuencia de su aparición era baja. Las cabras son más afectadas por lo general que las ovejas, y los síntomas clínicos como fiebre, septicemia, mastitis y artritis aguda pueden conducir con rapidez a la muerte, y en las necropsias se puede observar neumonía. (Bergonier *et al.*, 1997; Bolske *et al.*, 1988). Las lesiones articulares graves que se ven en infecciones experimentales con este microorganismo se acompañan de un edema periarticular subcutáneo que afecta a tejidos distantes de la articulación (Bolske *et al.*, 1988). Como consecuencia de un brote esporádico de infección por *Mcc* se observaron en Inglaterra lesiones genitales en ovejas (Jones, *et al.*, 1983).

Mycoplasma putrefaciens es corriente en rebaños de cabras de leche en Europa occidental, y puede aislarse de animales con síntomas clínicos o sin ellos (Mercier *et al.*, 2001). En California, también se asoció con un brote extenso de mastitis y agalaxia, que condujo a artritis aguda en cabras y que se acompañó de abortos y muertes, pero sin pirexia (Da Massa *et al.*, 1987). En España, *M. putrefaciens* fue el causante principal de un brote de poliartritis en cabritos (Rodríguez *et al.*, 1994, Nicholas 1998).

En Argentina aún no han sido aislados Mycoplasmas en cabras, ni han sido informados en el país ante la OIE. Estos agentes pueden causar enfermedad respiratoria, mastitis, artritis, enfermedad reproductiva y lesiones oculares (OIE 2014; Sticotti *et al.*, 2015). Se describe a la pleuroneumonía y a la agalactia como los dos principales síndromes. En los países donde se ha diagnosticado Micoplasmosis caprina, han sido identificadas numerosas especies. La principal fuente de infección de hatos susceptibles son los animales infectados, siendo frecuente la presencia de portadores. El diagnóstico de certeza se realiza por cultivo y aislamiento, o por identificación molecular por PCR (OIE 2014)

Existen pocos estudios relacionados a este microorganismo en cabras, en Argentina solo hay dos reportes, un brote en un tambo en el año 2012 en la provincia de Buenos Aires, en animales importados (Manazza *et al.*, 2012) y un diagnóstico por PCR de leche de cabras por Sticotti *et al.*, en 2015.

Agente etiológico:

Los micoplasmas son bacterias que carecen de pared celular, pertenecen a la clase mollicutes (cutis, piel; mollis, blanda), tienen genomas pequeños, y tienen bajo contenido de organelas (18-40%). Existen más de 100 especies reconocidas del género *Mycoplasma*, todas estas características lo hacen muy dependiente del entorno. Debido a la ausencia de pared celular, los micoplasmas no son sensibles a los antibióticos que bloquean la síntesis de pared celular, como la penicilina u otros antibióticos betalactámicos (Pollack *et al.*, 1997).

Muchas especies de *Mycoplasmas* actúan como parásitos y patógenos de un amplio rango de huéspedes desde, humanos hasta plantas y son comúnmente conocidos por ser contaminantes de cultivos celulares (Baseman y Tully, 1997).

Patogenia:

Perreau en 1979a y en 1984 clasifica las distintas especies de micoplasmas en tres grupos atendiendo a su patogenicidad. Sin embargo, indica que todas pueden provocar infecciones asintomáticas: - Micoplasmas responsables de lo que se conoce como micoplasmosis mayores. Entre otras, PNCC clásica y el denominado "Síndrome de Agalaxia Contagiosa" de los pequeños rumiantes, las cuales se han reproducido en condiciones experimentales. -Micoplasmas oportunistas, con un poder patógeno menos claro, responsables de neumonías y mastitis en rumiantes. - Micoplasmas saprofitos, huéspedes naturales del organismo, principalmente de las mucosas del tracto respiratorio y urogenital de numerosas especies animales.

En general, los factores patogénicos de los micoplasmas residen, entre otros menos conocidos, en su especificidad por el hospedador, en factores tóxicos, en su capacidad de activar el complemento, en su capacidad de activar los factores de la coagulación, y en su capacidad de modificar la respuesta inmune (Gourlay y Howard, 1982).

Según Gourlay y Howard (1982), la patogenia de las micoplasmosis respiratorias se puede dividir en las siguientes etapas:

Factores dependientes de los micoplasmas:

-Exposición o contacto con el epitelio respiratorio, relacionados con la capacidad de movimiento, el tamaño y la posibilidad de evitar a las sustancias micoplasmicidas. El mucus secretado por las células de la mucosa respiratoria posee capacidad defensiva, al prevenir el contacto de los agentes extraños con la superficie epitelial de las vías respiratorias (Gourlay y Howard, 1982). Algunos tienen la capacidad de ser móviles, por lo que pueden modificar su estructura citoplasmática y dirigirse hacia las células epiteliales blanco de la mucosa respiratoria, a las que se adhieren. Otro factor que también ha sido indicado, es el tamaño de los micoplasmas, el cual favorece su penetración a través de la capa de mucus que recubre toda la superficie del epitelio respiratorio (Gourlay y Howard, 1982).

-Unión de los micoplasmas a las células epiteliales, una vez que acceden al aparato respiratorio, se unen a las células epiteliales para evitar su expulsión mediante los movimientos ciliares y/o el reflejo tusígeno. Esta capacidad de unión es común para todos los micoplasmas respiratorios patógenos y apatógenos (Gourlay y Howard, 1982).

-Capacidad de producción de toxinas, es uno de los aspectos más controvertidos de la patogenicidad (Gourlay y Howard, 1982). La íntima asociación entre los micoplasmas y las células hospedadoras permite el intercambio de sustancias, de ahí que cualquier sustancia tóxica producida por este microorganismo pueda causar un efecto citopático directo sobre la célula epitelial. En este sentido, el único caso completamente demostrado es la neurotoxina producida

por *M. neurolyticum*. Este induce la muerte de los ratones infectados a las pocas horas de su inoculación intravenosa. (Gourlay y Howard, 1982). La cilioestasis es uno de los efectos tóxicos más graves producidos. Un gran número de especies patógenas del aparato respiratorio posee dicho efecto perjudicial, habiéndose observado pérdida de cilios y cambios citopáticos en células de tráquea cultivadas. Inicialmente se pensó que los micoplasmas tenían que ser metabólicamente activos para producir cilioestasis; sin embargo, se ha demostrado que los aislados de membrana producen el mismo efecto que los microorganismos completos (Carson *et al.*, 1979; Kahane, 1984).

-Presencia de cápsula, carecen de pared celular, pero un gran número de especies patógenas presentan un material extracelular que rodea a la membrana citoplasmática. Esta estructura a modo de microcápsula se tiñe con el rojo rutenio que podría jugar un papel importante en la virulencia de estos micoplasmas. Parte de este material extracelular es una proteína inhibidora de la fagocitosis como ocurre en las infecciones por *M. pulmonis* (Howard y Gourlay, 1974).

-Adquisición o síntesis de antígenos (Ags) comunes a los del hospedador, pueden presentar Ags comunes a las células del hospedador (por un fenómeno de adsorción de material de la superficie celular o por síntesis del mismo). Mediante este mecanismo, puede eludir la respuesta inmune, representando un fenómeno realmente novedoso en la patogenia de la enfermedad (Rosendal, 1988; Topley y Wilson's, 1990).

-Factores dependientes del hospedador, se ha demostrado en estudios "*in vitro*" que pueden adherirse a macrófagos y neutrófilos, no siendo fagocitados en ausencia de anticuerpos específicos. Por ejemplo *M. pulmonis* al evitar la fagocitosis ha sido correlacionado con su mayor capacidad de virulencia en el aparato respiratorio (Howard y Taylor, 1985, Gourlay y Howard, 1982). La capacidad de digestión de los micoplasmas por parte de los macrófagos y los neutrófilos también es menor que para el resto de las bacterias. Esto se debe a que la membrana de los micoplasmas es muy rica en lípidos, lo que impide una digestión efectiva. Por esta razón, parte de la membrana que no ha sido digerida puede ser expulsada al exterior de los neutrófilos y macrófagos junto a enzimas hidrolíticas, lo que provoca una digestión heterolítica del tejido pulmonar adyacente (Gourlay y Howard, 1982; Howard y Taylor, 1985).

-Interacción con el sistema del complemento, la activación del sistema del complemento puede inducir la lisis del micoplasma a través de la cascada del complemento sobre la membrana del mismo (Rosendal, 1984 a y b). MmmLC puede activar la vía clásica del complemento en ausencia de anticuerpos detectables, lo que provoca la liberación de las anafilotoxinas C3a y C5a, mediadores químicos inflamatorios, que actúan simultáneamente como activadores de la coagulación. Todos estos fenómenos pueden afectar directa o indirectamente a las células blanco, a las que está adherido el micoplasma (Rosendal, 1984a).

- Activación del sistema de coagulación, algunos de estos son capaces, en la fase septicémica, de activar el sistema de la coagulación. En este caso se piensa que se debe al daño producido sobre las células endoteliales de forma directa, lo que ha sido demostrado en estudios “*in vitro*”. Este daño endotelial expone el colágeno subendotelial al contacto con los factores de la coagulación, activándose entonces la vía intrínseca de este sistema (Rosendal, 1984 a y b).

-Mitogénesis no específica de linfocitos, existen varias especies con capacidad de estimular, de forma inespecífica, la división de linfocitos en detrimento de una correcta respuesta específica por parte del organismo. La actividad mitogénica puede variar dentro de una misma especie, lo que sugiere una posible correlación entre mitogenicidad y patogenicidad (Gourlay, 1981).

-Desarrollo de una respuesta inmune específica, en 1987 Erno estableció dos grupos de Ags: a) Ags de superficie, que determinan la especificidad de especie, y que son detectados mediante la prueba de la inhibición del crecimiento, inhibición del metabolismo e inmunofluorescencia. b) Ags internos o citoplasmáticos, más o menos comunes a grupos de micoplasmas emparentados, como los que constituyen el grupo *M. mycoides*, y que se demuestran por inmunoelectroforesis.

Para Howard y Taylor (1985), existen numerosas reacciones serológicas cruzadas entre micoplasmas y otros gérmenes, y ciertos Ags celulares. La infección por micoplasmas induce una respuesta inmune humoral y celular específica. En la primera, se producen anticuerpos de forma local y sistémica, lo que se demuestra serológicamente con técnicas de fijación del complemento, aglutinación, precipitación, inmunodifusión, inmunofluorescencia, inhibición del crecimiento e inhibición del metabolismo. La respuesta celular se demuestra por intradermoreacción “*in vivo*” y por estimulación de linfocitos y producción de linfocinas “*in vitro*” (Gourlay y Howard, 1982; Howard y Taylor, 1985). Sin embargo, el poder inmunógeno es muy variable entre especies y cepas, y la curación de una infección natural no suele acompañarse de una protección sólida y duradera (Howard y Taylor, 1985).

Enfermedad Clínica:

Tras un período de incubación de 2 a 28 días (generalmente de 8 a 10 días), aparecen rápidamente los síntomas de PNCC. Presentan fiebre y una dificultad respiratoria aguda. La respiración se hace dificultosa, tos, boca abierta con la lengua fuera, ptialismo y dejando oír balidos. La evolución puede ser breve, sobreviniendo la muerte a los dos días, aunque a menudo evoluciona la enfermedad durante 3 a 4 semanas. La morbilidad suele ser del 100%, y la mortalidad entre el 50 y el 90% de los afectados (Hutyra *et al.*, 1938)

Además de la clásica tríada de enfermedades asociadas con AC; mastitis, artritis y conjuntivitis, se han observado trastornos respiratorios y reproductivos (Bergonier *et al.*, 1997). En hatos crónicamente infectados de cabras lecheras, la mastitis subclínica es frecuente, entre los cuales los episodios de mastitis clínica ocurren esporádicamente. Sin embargo, en estos hatos, la infección por micoplasma no tiene efectos sustanciales sobre la calidad de la leche (Corrales *et al.*, 2004; De La Fe y otros, 2009b). Mmc y Mp han sido identificados en el cerebro y meninges de cabras con enfermedad neurológica, así como en animales sin signos clínicos o lesiones (DaMassa *et al.*, 1987; Gómez-Martín *et al.*, 2012a). Los signos neurológicos asociados con CA incluyen opistótonos, girar en círculos y coma (DaMassa *et al.*, 1987; Kinde *et al.*, 1994; Bajmocy *et al.*, 2000)

La presencia de micoplasmas en el tracto reproductivo de las hembras puede asociarse con una fertilidad reducida (Gil *et al.*, 2003; Di Provvido *et al.*, 2009). Balanopostitis ulcerativa y vulvitis en ovejas también se han asociado con fertilidad reducida (Trichard *et al.*, 1993; Kidanemariam *et al.*, 2005a). Sin embargo, Mmc ha sido detectado en el tracto genital de ovejas aparentemente sanas (Kidanemariam *et al.*, 2005a). Por lo tanto, queda por determinar si los micoplasmas en el tracto genital de pequeños rumiantes representan un reservorio de infección dentro de una manada, como se sugiere para micoplasmas en caballos (Spergser *et al.*, 2002).

Epidemiología:

La agalaxia contagiosa es una enfermedad endémica de la cuenca mediterránea que se debe comunicar anualmente de forma obligatoria a la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).

Los individuos jóvenes y las hembras en lactación son las categorías más vulnerables a la infección por micoplasmas y la producción intensiva supone un importante factor de riesgo añadido para la aparición de brotes clínicos. Dentro de un rebaño, las vías de transmisión más habituales son a través del contacto directo, la lactancia y el ordeño, constituyendo la leche y las secreciones respiratorias las principales vías de excreción de micoplasmas (Bergonier *et al.*, 1997). El calostro también puede ser una fuente de excreción de elevadas concentraciones de micoplasmas. Hay estudios de reducción con pasteurización (Paterna *et al.*, 2011).

Aunque en menor medida, otras vías de excreción son las secreciones oculares, fecales y genitourinarias. También se ha demostrado la excreción a través del semen de Ma y Mmc en ganado caprino (De la Fe *et al.*, 2009; Gómez-Martín *et al.*, 2012a) así como su capacidad de interferir en la calidad espermática (Gómez-Martín *et al.*, 2011). Todo ello, unido a la habilidad que tienen los micoplasmas para sobrevivir en el aparato reproductivo de los pequeños rumiantes, hace necesario considerar significativamente el riesgo de transmisión venérea.



Imagen N°2. Interacción entre ovinos y caprinos de ambos sexos en el mismo corral.

Entre rebaños, la principal fuente de transmisión es la introducción de animales infectados. En relación con este aspecto, la existencia de portadores auriculares asintomáticos desempeña un papel importante dentro de la epidemiología de la enfermedad y su presencia se

ha observado en numerosos rodeos caprinos, en individuos de ambos sexos. Los portadores son capaces de vehicular todas las especies de micoplasmas implicadas en la agalaxia contagiosa y se ha constatado su implicación en diversos brotes de la enfermedad (Gil *et al.*, 1999). En este sentido, la introducción de machos en los rebaños sin un chequeo previo también supone un factor de riesgo a tener en cuenta. Se ha descrito la presencia de sementales portadores auriculares asintomáticos serológicamente negativos (Amores *et al.*, 2011a). En estos individuos se ha descrito la infección sistémica y la presencia de lesiones crónicas en diversas localizaciones anatómicas, datos que parecen confirmar lo observado a nivel epidemiológico y que corroboran el riesgo que suponen para la propagación de la infección (Gómez-Martín *et al.*, 2012b).

AC se distribuye en todo el mundo y se ha informado en África, Asia y América (OIE, 2012). Sin embargo, la región mediterránea tradicionalmente ha sido el foco de atención debido a su gran tamaño industria de la leche de cabra y el estado endémico de AC en la región (Bergonier *et al.*, 1997). Aunque Ma es el principal agente responsable de AC en ovejas, Mmc también se ha identificado esporádicamente en esta especie y es capaz de producir lesiones (Trichard *et al.*, 1993; Kidanemariam *et al.*, 2005a; Chazel *et al.*, 2010). En rebaños de cabras, la etiología de AC parece ser más complejo, ya que hasta cuatro especies de *Mycoplasma spp.* se han definido como agentes causales (Ma, Mcc, Mmc y Mp; OIE, 2012) y las infecciones mixtas son comunes a nivel individual o de rebaño. Esto, junto con la presencia de otros micoplasmas no patógenos, hace que el diagnóstico y control de AC sea particularmente difícil (Gil *et al.*, 2003; Gómez-Martín *et al.*, 2012a).

La ocurrencia de brotes en rumiantes salvajes se han relacionado con interacciones con especies domésticas que comparten tierras de pastoreo y abrevaderos, movimiento de ganado, alta densidad de población de rumiantes silvestres, condiciones climáticas desfavorables y la disponibilidad de fuentes de forraje (Verbisck *et al.*, 2008; Ostrowski *et al.*, 2011).



Imagen N°3. Interacción entre animales de distinta especie, sexo y edades.

La función epidemiológica de los portadores asintomáticos, especialmente portadores auriculares, se ha investigado extensamente. Las cuatro especies de *Mycoplasma* spp. Involucradas en AC pueden aislarse del canal auditivo externo de las cabras, tanto en animales con enfermedad clínica y animales asintomáticos (Bergonier *et al.*, 1997). Portadores de Ma y Mmc también se han detectado en poblaciones de cabras silvestres (Chazel *et al.*, 2010). Varias hipótesis han sido evocadas para explicar la localización de *Mycoplasma* spp. en el oído: (1) diseminado por vectores, como los ácaros que se alimentan de sangre (Cottew y Yeats, 1982; DaMassa y Brooks, 1991); la presencia de Mp se correlaciona con la presencia de ácaros en el canal auditivo externo (Otero *et al.*, 2009); (2) daño a la membrana timpánica; infección simultánea del oído medio y el canal auditivo externo han sido reportados en cabras (Cottew y Yeats, 1982) y este modo de localización parece ocurrir en terneros infectados con *M. bovis* (Walz *et al.*, 1997); (3) a través del tubo auditivo, lo que favorece la diseminación de Mmc de las vías respiratorias al oído medio (Gómez-Martín *et al.*, 2012a); Mmc es capaz de colonizar el oído por vía oronasal luego de una infección experimental (DaMassa y Brooks, 1991); y (4) a través del sangre; después de una infección experimental en ausencia de ácaros, el canal auditivo externo está colonizado por Ma después de la micoplasmamia (De la Fe *et al.*, 2011; Gómez-Martín *et al.*, 2012a).

La respuesta auricular inmune humoral del huésped no parece ser capaz de prevenir la colonización por *Mycoplasma* spp. (Castro-Alonso *et al.*, 2009; De la Fe *et al.*, 2011) y una alta proporción de cabras con la colonización auricular por Ma y Mmc son seronegativas (De la Fe *et al.*, 2010; Gómez-Martín *et al.*, 2012b). En áreas endémicas, en las cuales AC en la mayoría

de los rebaños es crónica, la presencia de muchos portadores asintomáticos indica que la infección se perpetúa constantemente, comprometiendo el control de la enfermedad y las medidas de erradicación (Thiaucourt y Bölske, 1996; Mercier *et al.*, 2007). En estos rebaños crónicamente infectados, la presencia de micoplasmas puede provocar brotes en condiciones de estrés y/o una respuesta inmune disminuida (Thiaucourt y Bölske, 1996; De la Fe *et al.*, 2007a).

Hay dos estados clínico-epidemiológicos de AC en ovejas y cabras; los rebaños pueden presentar brotes de AC o pueden estar crónicamente infectados, el último con una alta incidencia de mastitis subclínica y solo casos clínicos ocasionales.

Los desafíos actuales incluyen la necesidad de métodos de diagnóstico mejorados para la detección de infecciones crónicas y subclínicas, y para el diseño de vacunas.

En cabras, los estudios moleculares han revelado una alta diversidad genética de aislamientos Ma en un área endémica de España (De la Fe *et al.*, 2012), en contraste con una diversidad genética relativamente baja en Ma de ovejas en Francia (Nouvel *et al.*, 2012), Italia (Tola *et al.*, 1999) y España (Ariza-Migueletal., 2013). Esta diversidad genética de Ma en cabras debe ser considerada en el diseño de las vacunas.

Diagnóstico:

En el ganado caprino, varias especies de micoplasmas pueden estar presentes en un mismo rebaño o individuo, ocasionando infecciones mixtas que junto a la presencia de otros micoplasmas considerados apatógenos complica las medidas de diagnóstico y control de la enfermedad.

El diagnóstico de la enfermedad puede realizarse mediante el uso de técnicas directas, que evidencian la presencia del patógeno, o indirectas, basadas en la detección de la respuesta del hospedador ante su presencia. El diagnóstico directo microbiológico convencional basado en el aislamiento e identificación del agente requiere medios de cultivo enriquecidos, manipulación específica y prolongados periodos de incubación. No obstante, su sensibilidad puede ser mayor que la PCR cuando la muestra es fresca y se procesa en 24 horas (Amores *et al.*, 2012a). Por el contrario, su sensibilidad disminuye al utilizar muestras congeladas o con ciertos conservantes empleados en muestras de leche como el bronopol, empleados en los programas de calidad o de mejora genética. En cuanto al diagnóstico molecular, la PCR ofrece un diagnóstico directo en poco tiempo. Además, presenta altos parámetros de validez que no se ven afectados por el empleo de muestras de leche congeladas o el uso de conservantes (Amores *et al.*, 2010 y 2011b). En lo referente al uso de técnicas indirectas, las técnicas serológicas deben utilizarse preferiblemente como técnica diagnóstica a nivel poblacional, debido a las carencias que presenta para la detección de todos los individuos infectados.



Imagen N°4. Búsqueda de colonias compatibles con *Mycoplasmas*.

El enzimo inmuno ensayo (ELISA) es la técnica más común disponible comercialmente, no discrimina entre anticuerpos vacunales y de infección, y posee parámetros de validez inferiores a otras técnicas. Además, todas las técnicas serológicas presentan el inconveniente de reacciones cruzadas existentes entre muchos micoplasmas, dando lugar a reacciones falso-positivas originadas, en ocasiones, por micoplasmas apatógenos (Poumarat, 2011).

Para la detección de portadores asintomáticos, el análisis de hisopos tomados a partir del conducto auditivo externo se revela como el método de elección, debido al elevado número de infecciones auriculares detectadas.

El diagnóstico definitivo requiere el aislamiento de los micoplasmas causantes a partir de los animales afectados, que se identifican por pruebas bioquímicas, serológicas y, cada vez más, moleculares. La leche, los frotis oculares y de oído, y los líquidos articulares son las muestras más adecuadas. Los cuatro micoplasmas crecen relativamente bien en la mayor parte de los medios para micoplasmas.

Selección de las muestras

Las muestras preferidas a partir de animales vivos son: frotis nasales y secreciones; leche de hembras con mastitis o de hembras con apariencia sana pero con una alta mortalidad o morbilidad en las crías; líquido articular en casos de artritis; frotis oculares en casos de enfermedad ocular; sangre para detección de anticuerpos de animales afectados y no afectados (Nicholas y Baker 1998). El canal auricular también es una fuente muy rica de micoplasmas patógenos, aunque en la práctica la presencia en esta zona de micoplasmas no patógenos puede hacer difícil la confirmación (Da Massa y Brooks 1991).



Imagen N°5. Extracción y acondicionamientos de muestras de leche.

Los micoplasmas se pueden aislar de la sangre durante la fase aguda de la enfermedad cuando hay micoplasmemia. En el caso de animales muertos, las muestras deben incluir:

nódulos linfáticos de la ubre y nódulos asociados con ella, líquido articular, tejido pulmonar (de la zona entre el tejido afectado y el sano) y líquido pleural/pericárdico. Las muestras deben enviarse con rapidez al laboratorio de diagnóstico, acondicionadas con humedad y en frío. Los cuatro micoplasmas responsables son relativamente fáciles de aislar de órganos internos, articulaciones y leche, y crecen bien en la mayoría de los medios de cultivo para micoplasmas, originando en 3-4 días colonias de tamaño mediano a grande.

Pruebas bioquímicas

La primera prueba que debe realizarse en los aislamientos clonados es la de la susceptibilidad a la digitonina, que permite separar a los micoplasmas de los acoleplasmas; estos últimos son contaminantes comunes cuyo crecimiento puede encubrir los micoplasmas de interés. Entre las pruebas más útiles para diferenciar los cuatro micoplasmas está el cultivo en medio líquido con glucosa (1%), arginina (0,2%) y difosfato de fenofaleína (0,01%), el cultivo en medio sólido con suero de caballo o yema de huevo para la demostración de formación de membranas o manchas, y el cultivo sobre caseína o suero coagulado en agar para la prueba de proteólisis (Poveda 1998). Sin embargo, cada vez con mayor frecuencia, se ha visto que estas características bioquímicas pueden ser variables para los micoplasmas individuales y por tanto tienen poco valor diagnóstico. La característica bioquímica más destacable que diferencia *M. putrefaciens* de los otros micoplasmas es el olor a putrefacción que produce en medio líquido.

Otras características que pueden ser útiles incluyen: la producción de films y manchas en la superficie del caldo y en medio sólido causada por *M. agalactiae*, y en menor medida por *M. putrefaciens*; y la actividad proteolítica de *Mcc* y *MmmLC* sobre caseína y suero coagulado.

Recientemente se ha descrito una prueba bioquímica rápida y muy práctica que se basa en la actividad C8-esterasa de *M. agalactiae* (Khan, *et al* (2001). Después de añadir el sustrato cromogénico SLPA-octanoato (un éster de nueva síntesis formado por un ácido graso de 8 átomos de carbono y un cromóforo fenólico) el micoplasma forma colonias rojizas en medios sólidos en 1 hora. Esta actividad es compartida por *M. bovis*, aunque este micoplasma se encuentra raramente en los pequeños rumiantes. Los aislamientos no necesitan clonación puesto que *M. agalactiae* puede detectarse con facilidad en cultivos mixtos. Para distinguir con rapidez entre *M. agalactiae* y *M. bovis* pueden utilizarse pruebas de PCR si fuera necesario.

Control:

La AC es altamente contagiosa, aunque no afecta ni a las ovejas ni a los bovinos (McMartin *et al.*, 1980). La profilaxis en los países donde la presencia de la enfermedad esta confirmada, se basa en la combinación de medidas de sacrificio y aislamiento con la vacunación. La estreptomycinina administrada al tercer día del estado febril favoreció la curación y las cabras así curadas quedan inmunizadas totalmente (Rurangirwa *et al.*, 1981). También se pueden emplear la tilosina y oxitetraciclina para tratamiento eficaz.

En Europa se utilizan con frecuencia vacunas comerciales inactivadas con formalina contra *M. agalactiae*, pero no se consideran muy eficaces. En condiciones experimentales, las vacunas contra *M. agalactiae* inactivadas con saponina o con fenol resultan más protectoras que las inactivadas con formalina. En Turquía se utilizan vacunas vivas contra *M. agalactiae*, y se ha descrito que confieren más protección que las vacunas inactivadas. En algunos países se emplean vacunas autógenas contra *MmmLC* y, en ocasiones, contra *Mcc*. No existen vacunas contra *M. putrefaciens* debido a que la enfermedad que causa no se considera suficientemente grave o extendida.

En el oeste asiático se emplean mucho las vacunas para prevenir la agalaxia contagiosa debida a *M. agalactiae*. No se ha adoptado universalmente ninguna vacuna concreta y no se han desarrollado métodos estándar de preparación y evaluación.

Los antibióticos de elección contra *Mmc* y *Ma* son fluoroquinolonas, tetraciclinas y macrólidos. Mientras que la eritromicina es efectiva contra *Mmc*, *Mcc* y *Mp*, es ineficiente contra las cepas de *Ma* probado hasta el momento (Loria *et al.*, 2003; Al-Momani *et al.*, 2006; Antunes *et al.*, 2007a, 2007b, 2008). La enrofloxacinina, florfenicol, oxitetraciclina y espiramicina se han usado para tratar la ulceración balanitis y vulvitis en ovejas causadas por *Mmc* (Kidanimariam *et al.*, 2005b); *Mmc* exhibe resistencia al ácido nalidíxico, gentamicina, estreptomycinina y espectinomycinina. Del mismo modo, *Ma* es resistente a estreptomycinina y ácido nalidíxico (Antunes *et al.*, 2007a, 2008).

En un estudio reciente, se evaluó el tratamiento sistémico con marbofloxacinina en cabras que eran portadores auriculares asintomáticos de micoplasmas que causan AC en un centro de reproducción artificial (Gómez-Martín *et al.*, 2013). A pesar de la alta susceptibilidad conocida de estos microorganismos a las fluoroquinolonas y su buena penetración, estos agentes no pudieron eliminar a *Ma* y *Mmc* del canal auditivo externo de los animales afectados y también tuvo efectos perjudiciales sobre la motilidad de los espermatozoides. Por lo tanto, estrategias antimicrobianas tienen efectos limitados sobre los portadores en rebaños crónicamente infectados, con implicaciones para controlar la AC en centros de reproducción artificial.

Otra herramienta propuesta para eliminar una fuente de infección es la pasteurización del calostro. El tratamiento de muestras de calostro contaminadas experimentalmente durante 60 minutos a 60 ° C elimina con éxito las colonias viables de Mmc (Paterna *et al.*, 2012). Aunque el tratamiento del calostro durante 30 minutos a 56 ° C significativamente reduce el recuento de Ma, este Mycoplasma spp. es capaz de sobrevivir después tratamiento del calostro durante 120 min a 60 ° C (Paterna *et al.*, 2012).

Impacto Económico:

En rebaños de pequeños rumiantes domésticos, las pérdidas debidas a AC se deben principalmente a la disminución de producción de leche en los animales afectados, mortalidad, abortos, tasas de crecimiento reducidas, sacrificio y los costos generados por las medidas de control. El impacto por micoplasmas en la calidad de la leche es probablemente subestimado (Contreras *et al.*, 2008).

El riesgo de exceder los límites legales para los conteos de células somáticas (SCC) en muestras de leche a granel (BTM) son altos durante brote de AC y rebaños de ovejas y cabras lecheras afectadas pueden sufrir problemas serios de mastitis, sin embargo, SCC no se puede usar para detección indirecta de rebaños crónicamente infectados (Corrales *et al.*, 2004, Gonzalo *et al.*, 2005), particularmente en áreas donde la enfermedad es endémica.

Mycoplasma spp. también puede afectar la fertilidad, ya que Ma, Mmc y Mp exhiben tropismo para el tracto reproductivo en las ovejas y cabras (Gil *et al.*, 2003; Szeredi *et al.*, 2003; Kidanemariam *et al.*, 2005a). En cabras, existe una correlación negativa entre la infección por micoplasma, las tasas de gestación y el número de cabritos destetados (Gil *et al.*, 2003), y es probable que los efectos de los micoplasmas el rendimiento reproductivo también ha sido subestimado.

Otro de los costos atribuibles a esta enfermedad es la terapia antimicrobiana, es una de las principales herramientas para controlar AC (Bergonier *et al.*, 1997), pero requiere un período de retención. Además, la presencia de los residuos antimicrobianos en la leche representa un riesgo para el consumidor (Allison 1985; Dewdney *et al.*, 1991) y podría perjudicar la fermentación bacteriana requerida para la producción de queso (Mourot y Loussouarn, 1981).

Ninguna de las cuatro pruebas de detección de residuos de agentes antimicrobianos (incluidos aminoglucósidos, macrólidos, tetraciclinas, sulfonamidas y quinolonas) en leche de cabra fueron capaces de detectar los niveles máximos permisibles de la Unión Europea de tetraciclinas o quinolonas actualmente utilizado contra *micoplasmas*, lo que indica una necesidad de mejorar la sensibilidad de los métodos rutinariamente utilizados en los programas de residuos antimicrobianos (Sierra *et al.*, 2009).

Objetivos

Objetivo General:

Detectar *Mycoplasma spp* en caprinos de establecimientos de la provincia de Córdoba.

Objetivos Específicos:

1. Desarrollar habilidades en la lectura de trabajos científicos y en la escritura de informes.
2. Obtener muestras de leche de cabras en lactancia y de establecimientos de la provincia de Córdoba.
3. Realizar cultivo para el aislamiento de *mycoplasmas* que afectan a los caprinos.
4. En el caso de aislar el patógeno: identificar especies de *mycoplasmas* por técnicas de biología molecular (PCR).

Materiales y métodos

Se trabajó en 58 establecimientos caprinos de sistemas de producción extensiva o semi-extensivas a pastizal natural y encierre nocturno de los departamentos San Alberto, San Javier, Pocho, Minas, y Cruz Del Eje de la Provincia de Córdoba.

Estos productores caprinos, se encuentran nucleados en el Movimiento Campesino de Córdoba, en conjunto con instituciones gubernamentales que trabajan en el territorio, como SENASA, INTA, Sub secretaria de agricultura Familiar Ssaf.



Imagen N°6. Departamentos donde se trabajó.



Imagen N°7. Extracción de muestras de leche y sangre.

Se colectó la leche de 33 cabras con Mastitis Clínica al momento de la visita. Además de los 58 establecimientos se seleccionaron alrededor de 5 cabras que estaban en lactancia clínicamente sanas a las cuales también se les tomó muestras de leche, recolectándose 206 muestras de un total de 3523 reproductoras.

Toma de muestras:

Se tomaron muestras de leche utilizando guantes de latex descartables, se desinfectó la punta del pezón en forma individual con torundas de algodón y alcohol al 70%, se descartaron los tres primeros chorros de leche y se recolectaron las muestras en recipientes estériles, identificados y refrigerados a 4°C hasta llegar al laboratorio de patología animal de la FAV-UNRC.

Cada muestra de leche se identificó con una letra A, B, C o M, que corresponderá a cada grupo de personas dedicadas a muestrear las cabras de los diferentes establecimientos, seguido de un número romano identificando cada establecimiento. Por último con números arábigos (número de caravana o consecutivos) se identificó cada cabra. Ejemplo: A VII 6.



Imagen N°8. Capacitación sobre identificación de establecimientos, productores, animales, y sobre la toma de muestras.



Imagen N°9. Extracción de muestra de leche



Imagen N°10. Leche proveniente de cabra con mastitis clínica.

Procesamiento de las muestras en el laboratorio:

Medio de cultivo para micoplasmas:

Se realizo el medio de cultivo ya que no viene formulado comercialmente. Para el cultivo del agente patógeno, se colocan en solución tamponada y se inoculan en caldo selectivo y medios sólidos, con antibióticos u otros inhibidores para prevenir el crecimiento de otras bacterias. El cultivo de Micoplasmas requiere medios muy ricos que contengan porcentajes altos de suero.

Ingredientes:

Medio base Micoplasmas (oxid), suero equino, extracto de levadura, acetato de talio, penicilina g, agua desionizada, ADN de salmon.

La composición del medio de Eaton, de aplicación general es la siguiente:

En 700 ml de agua destilada se disuelven 21 g de medio base (sin cristal violeta) para PPLO (organismos semejantes a los de la peluroneumonía) de Becton Dickinson (Oxford, Inglaterra). Al caldo base para PPLO se añaden 100 ml de extracto de levadura recién preparado, 200 ml de suero de caballo sin calentar, 1 g de glucosa, 0,5 ml de ampicilina (200.000 Unidades

Internacionales [UI]/ml), y 12,5 ml de rojo fenol al 0,2%. Se ajusta el pH entre 7,6 y 7,8 y se esteriliza por filtración.

Para preparar el medio sólido, se añaden 10 g de agar LabM No.1 (Bury, Inglaterra), o de un agar de calidad equivalente, y se distribuye en placas de Petri estériles.

Para reducir la contaminación bacteriana de las muestras clínicas, puede ser necesario añadir como componente del medio de transporte acetato de talio (250 mg/litro), que es tóxico e inhibidor para algunos micoplasmas, pero no para los que causan agalaxia contagiosa, aunque debería de omitirse una vez que los micoplasmas comiencen a crecer in vitro. Una alternativa adecuada al acetato de talio puede ser sulfato de colistina (37,5 mg/ml).

El medio se plaqueo en placas esteriles descartables y se guardo en la heladera a 4° C hasta su utilización.

Siembra:

Las muestras de leche de cabra obtenidas en el muestreo se sembraron en placas de agar micoplasmas, incubadas a 37 °C durante 5 a 7 días en estufa de CO₂.

Junto a las muestras de leche de cabra, se sembraron controles positivos de cepas de *Mycoplasma bovis*.

Luego del tiempo de incubación las placas fueron visualizadas en guarda griega en microscopio óptico en 10X y luego en 40X buscando colonias compatibles con micoplasmas (umbilicaciones en el agar con aspecto a huevo frito).

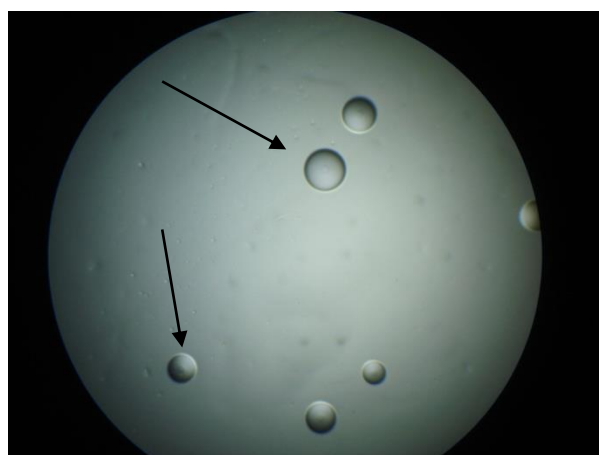


Imagen N°11. Colonias compatibles con micoplasmas.

Las muestras que resultaron compatibles fueron resembradas en medios de conservacion de micoplasmas los cuales luego se conservaron en freezer -70°C.

Mycoplasma spp es muy exigente, y es posible que la turbidez del medio líquido o la aparición de colonias en los medios sólidos no se observen hasta los 5-15 días. El aislamiento no suele funcionar, y la detección puede ser más fácil con métodos moleculares específicos, como la PCR (Woubit *et al.*, 2004).

El ADN de las muestras se puede extraer con el kit comercial DNAzol (Invitrogen), y se realizan los procedimientos descritos por Lauerman *et al.* (1995).

Métodos de reconocimiento de los ácidos nucleicos:

En muchos laboratorios se utilizan ensayos de PCR que son muy sensibles. Cuando se utilizan con muestras clínicas, pueden suponer un sistema rápido de alerta que permite una investigación más completa en el caso de que los resultados sean positivos. No obstante, los resultados negativos no deben considerarse definitivos. Se han desarrollado varios ensayos de tipo PCR que son específicos para *M. agalactiae* y que muestran niveles similares de sensibilidad aunque se basan en secuencias genómicas diferentes (Dedieu, *et al.*, 1995, Subrahmaniam *et al.*, 1998, Tola, *et al.*, 1997). Pueden utilizarse directamente con muestras nasales, oculares, sinoviales o tisulares; se han usado con muestras lácteas y se ha descrito que resultan más sensibles que el cultivo, aunque en ocasiones la presencia de inhibidores indefinidos puede interferir con la prueba (Bergonier, *et al.*, (1997).

Las PCRs también se pueden utilizar, con más fiabilidad, para confirmar el aislamiento e identificar especie.

Se han descrito pruebas de PCR para *MmmLC* y *Mcc* (Bashiruddin, *et al.*, (1994) y en la actualidad está siendo sometida a evaluación en Inglaterra una prueba de PCR para *M. putrefaciens*.



Imagen N°12. Siembra de las muestras de leche en placas con agar *micoplasmas*.

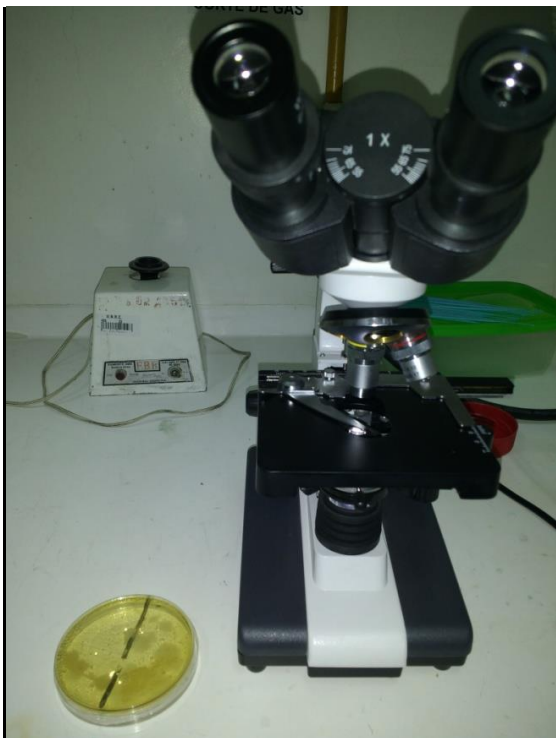


Imagen N°13. Lectura de placas.



Imagen N°14. Estufa de CO₂.

Se realizó estadística descriptiva a partir de las muestras tomadas y la información recopilada de las encuestas realizadas el día de la visita al establecimiento. El programa estadístico utilizado fue InfoStat (Di Rienzo *et al.*, InfoStat. versión 2013).

Resultados

En total se colectaron 206 muestras de leche de los 58 establecimientos, fueron sembradas en su totalidad y cultivadas dentro de los 5-7 días en estufa de CO₂.

De las 206 muestras sembradas en 59 (28,6 %) de las mismas se observaron colonias sospechosas compatibles con *micoplasmas*, lo que fueron consideradas positivas a la observación microscópicamente. Ver gráfico 1. Las mismas se recolectaron en medios líquidos de conservación de micoplasmas.

Grupo de muestreo	Productor	Aislamientos positivos/total muestras	Porcentaje de positivos de las muestras
A	I	1/5	20%
	II	1/5	20%
	III	0/5	0%
	IV	1/4	25%
	V	1/4	25%
	VI	0/5	0%
	VII	0/5	0%
B	I	0/1	0%
	II	1/4	25%
	III	0/1	0%
C	I	2/7	28%
	II	2/6	33%
	III	0/1	0%
	IV	1/3	33%
	V	6/8	75%
D	I	0/6	0%
	II	2/5	40%
	III	1/5	20%
	IV	1/4	25%
	V	4/6	66%
E	I	2/2	100%

	II	4/7	57%
	III	1/3	33%
	IV	1/2	50%
	V	3/7	42%
	VI	2/4	50%
	VII	2/3	66%
F	I	1/7	14%
	II	4/8	50%
	III	3/6	50%
	IV	1/2	50%
	V	0/2	0%
	VI	0/1	0%
G	II	0/3	0%
	III	0/6	0%
H	I	2/3	66%
	II	2/6	33%
	III	1/2	50%
	IV	2/5	40%
	V	0/3	0%
	VI	2/5	40%
I	I	0/5	0%
	II	0/3	0%
	III	0/1	0%
J	I	1/5	20%
	II	0/3	0%
	III	0/4	0%
	IV	1/2	50%
	V	0/1	0%
	VI	0/1	0%

Tabla 1. Resultados positivos a cultivos de Mycoplasmas según establecimiento y número de muestras.

Otros de los resultados importantes es la relación entre las Mastitis Clínicas registradas al momento de la visita al establecimiento con los resultados de cultivos positivos a mycoplasma, donde en solo 9 muestras de leche hay coincidencia (CV214, CV211, EI255, EII281, EII282, EV375, FII966, FII961, HI533).

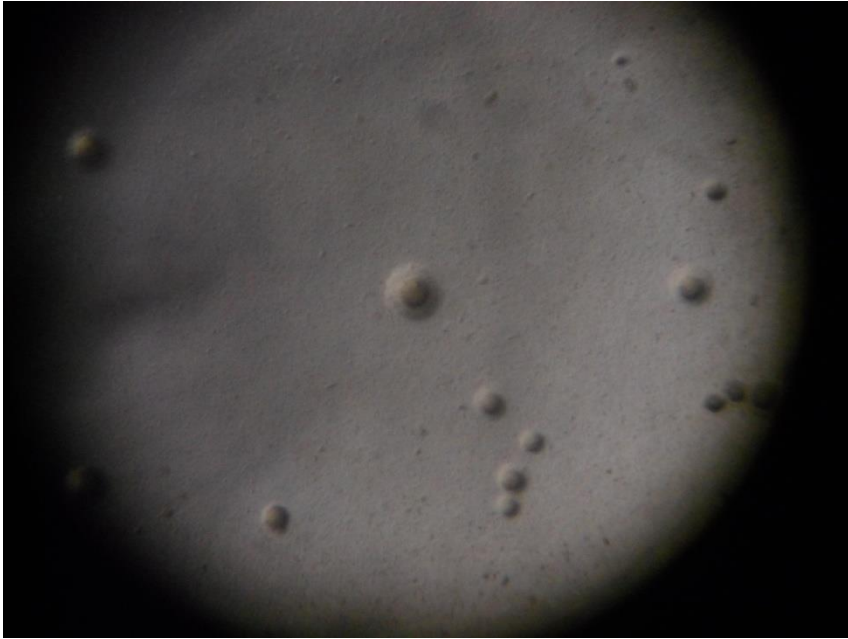


Imagen N°15. Control positivo cepa *Mycoplasma bovis*.

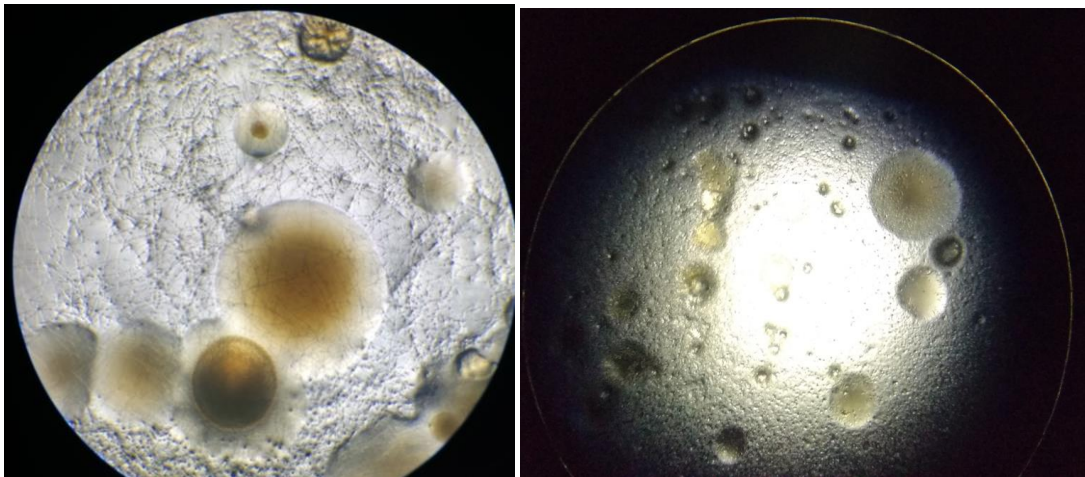


Imagen N°16. Colonias compatibles con *micoplasmas*.

Resultado del PCR:

Se realizo biologia molecular de 10 muestras que resultaron positivas a la visualizacion macroscopica de colonias, las cuales luego resultaron negativas a PCR.

Discussion:

El hecho de haber aislado *Mycoplasma spp* en el 28,6% (59/206) de las muestras de leche y en el 67,2% (39/58) de los hatos, sugiere una amplia distribución del agente en la region Noroeste de la provincia de Córdoba. Este es un hallazgo importante ya que Argentina figura sin diagnostico, según la OIE (OIE 2016).

Los antecedentes de la presencia del agente en pequeños ruminates de la Argentina son escasos, de hecho los unicos antecedentes son publicados por Manasa *et al.*, 2012 y Sticotti *et al.*, en 2015.

En Argentina son escasos los antecedentes sobre la presencia de *Mycoplasmas* en cabras, puesto que se han realizado pocos trabajos que confirmen su presencia. Sticotti *et al.*, 2015, detectaron por PCR en el 42,5 % (17/40) de las muestras de leche de cabras estudiadas hubo *Mycoplasma sp*. De acuerdo a nuestro conocimiento, este es el primer informe sobre el aislamiento de *Mycoplasma sp*. En cabras de hatos ubicados en la provincia de Córdoba.

En general, en nuestro pais, los antecedentes de *Mycoplasmas* de los ruminantes son escasos a pesar de que en bovinos, se ha informado la presencia de *M. bovis*, *M californicum*, *M cabadense*, *M. bovirhinalum*, *M. bovirhinis*, *M. leachii* y *Ureaplasma diversum* (Sosa *et al.*, 2018, Tamiozzo *et al.*, 2013)

Se considera que el aislamiento de *micoplasmas* es una de las tareas más difíciles para el diagnóstico debido a su baja sensibilidad, ya que es muy exigente nutricionalmente (Amores *et al.*, 2012a). Por ello, es probable que la frecuencia de agente este subestimada. Futuros estudios para determinar la prevalencia del agente en el ganado caprino deben ser realizados para poder inferir el impacto real de estos agentes en la produccion caprina de nuestro pais

En el 27,4% (9/33) de los establecimientos en los que la MC fue diagnosticada, *Mycoplasma spp* fue aislado. Aunque no puede ser afirmado taxativamente que el o los *Mycoplasmas* detectados son los agentes causales de mastitis, dado que otros agentes como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa negativa* (no aureus), *Streptococcus sp* (ambientales) y *Corynebacterium bovis*. han sido aislados y asociados con MC (Sticotti *et al.*, 2018; Sánchez *et al.*, 2014; Suarez *et al.*, 2012).

Futuros estudios son necesarios, no solo para determinar la asociacion entre MC y *Mycoplasma* en nuestra region, sino tambien para identificar las especies de *Mycoplasmas* circulantes. En cabras las infecciones por micoplasma son causadas predominantemente por *Mycoplasma capricolum subsp. Capricolum*, *Mycoplasma capricolum subsp. Capripneumoniae* y *Mycoplasma mycoides subsp. Capri*. Estos pueden causar enfermedad respiratoria, mastitis, artritis, problemas reproductivos y lesiones oculares en caprinos. Se describe la pleuroneumonia y la agalactia como los dos sindromes principales.

Como solo se procesaron 10 muestras por metodos de biologia molecular de las 59 las cuales resultaron negativas es de suma importancia continuar con el resto de las muestras para poder confirmar o no la presencia de este patogeno en pequeños rumiantes, en los departamentos donde se obtuvieron las muestras, ya que en esta zona la produccion caprina es importante por ser una produccion de subsistencia de muchos productores familiares.

Conclusion

Conclusion

Podemos concluir que se encontraron muestras de leche positivas a *Micoplasmas* sp a la observación microscópica de las colonias, de establecimientos caprinos del noroeste de Córdoba.

Se obtuvieron colonias en 59 de muestras de leche de un total de 206 muestras de leche caprina de hembras en lactancia con y sin mastitis clínica, pertenecientes.

De las colonias compatibles se replicaron en medios líquidos de conservación para luego realizar técnicas de biología molecular para confirmar o no la presencia de *Mycoplasma* spp en caprinos de establecimientos de la provincia de Córdoba.

La experiencia vivida fue muy productiva, ver que la realidad en la que vivimos no es la misma que la de los pequeños productores rurales que hasta el día de hoy siguen sin acceso a cosas tan básicas como ser el agua potable, el alumbrado eléctrico, viviendas dignas y sin embargo nos recibieron de manera excelente compartiendo unos días muy lindos, intercambiando culturas, probando sus productos regionales, nos abrieron las puertas de sus casas brindándonos un techo y comida, además tienen los recursos y fortalezas necesarias para llevar a cabo la producción caprina y sus derivados y subproductos de una manera totalmente saludable tanto para los animales como para los humanos.

Como estudiante es una muy fructífera experiencia poder salir al campo y enfrentarnos al trabajo real que nos va a tocar hacer en un futuro cercano, ya que son pocas las cátedras que nos brindan esta oportunidad de ser profesionales por unos días y hacernos cargo de llevar adelante en forma organizada las tareas a campo planeadas durante la cursada, luego analizar los resultados, y brindarles una devolución a los productores a través de un informe. Todo esto no sería posible sin el excelente trabajo en equipo realizado entre estudiantes, docentes, técnicos de terreno y en conjunto con otras organizaciones como INTA, SENASA, MOVIMIENTO CAMPESINO, UNRC, UNVM, etc.

Bibliografia

- 1- AGNONE, A., LA MANNA, M., SIRECI, G., PULEIO, R., USTICANO, A., OZDEMIR, U., NICHOLAS, R., CHIARACANE, V., DIELI, F., DI MARCO, V., LORIA, G., 2013b. A comparison of the efficacy of commercial and experimental vaccines for contagious agalactia in sheep. *Small Ruminant Research* 112, 230–234.
- 2- AGNONE, A., LA MANNA, M.P., LORIA, G.R., PULEIO, R., VILLARI, S., NICHOLAS, R.A.J., GUGGINO, G., SIRECI, G., 2013a. Timing of activation of CD4+ memory cells as a possible marker to establish the efficacy of vaccines against contagious agalactia in sheep. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 152, 252–259.
- 3- AGRIMI U., RU G., CARDONE F., POCCHIARI M. & CARAMELLI M. (1999). Epidemic of transmissible spongiform encephalopathy in sheep and goats in Italy. *Lancet*, 353, 560–561.
- 4- AL-AUBAIDI, J.M., DARDIRI, A. H. & FABRICANT, J. (1972). Biochemical characterization and antigenic relationship of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* Freundt and *Mycoplasma mycoides* subsp. *Capri* Freundt. *International Journal of Systematic Bacteriology* 22, I 55-1 64.
- 5- ALLISON, J.R., 1985. antibiotic residues in milk. *british veterinary journal* 141, 9–16.
- 6- AL-MOMANI, W., NICHOLAS, R.A., JANAKAT, S., ABU-BASHA, E., AYLING, R.D., 2006. The in vitro effect of six antimicrobials against *Mycoplasma putrefaciens*, *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* LC and *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* isolated from sheep and goats in Jordan. *Tropical Animal Health and Production* 38, 1–7.
- 7- AMIRBEKOV M., MURVATULLOEV S. & FERRARI G. (2010). Contagious caprine pleuropneumonia detected for the first time in Tajikistan. *EMPRES Transboundary Animal Diseases Bulletin*, 35, 20–22.
- 8- AMORES J, DE LA FE C, GÓMEZ-MARTÍN A, CORRALES JC, CONTRERAS A, SÁNCHEZ A (2011b). Preserved goat milk as a valid sample for the PCR detection of *Mycoplasma agalactiae*. *Small Rum Research*. 99: 61-64 .
- 9- AMORES J, DE LA FE C, GÓMEZ-MARTÍN A, CORRALES JC, CONTRERAS A, SÁNCHEZ A (2011b). Preserved goat milk as a valid sample for the PCR detection of *Mycoplasma agalactiae*. *Small Rum Research*. 99: 61-64.
- 10- AMORES J, GÓMEZ-MARTÍN A, PATERNA A, CORRALES JC, CONTRERAS A, DE LA FE C, SÁNCHEZ (2012b). In vitro susceptibility of *Mycoplasma agalactiae* reveals differences related to epidemiological characteristics. Trabajo aceptado en XI

- International Conference on Goats. Las Palmas de Gran Canaria, 23-25 de Septiembre de 2012.
- 11- AMORES J, GÓMEZ-MARTÍN A, PATERNA A, CORRALES JC, DE LA FE C, CONTRERAS A, SÁNCHEZ A (2012a). Evaluation of PCR and culture for *Mycoplasma agalactiae* detection in fresh mastitic goat samples. 19th Congress of the International Organization for Mycoplasmaology. Toulouse, 15-20 de Julio 2012.
 - 12- AMORES J, SÁNCHEZ A, GÓMEZ-MARTÍN A, CORRALES JC, CONTRERAS A, DE LA FE C (2010). Viability of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* in goat milk samples stored under different conditions. *Vet Microbiol.* 145: 347-350.
 - 13- AMORES, J., CORRALES, J.C., GÓMEZ-MARTÍN, A., SÁNCHEZ, A., CONTRERAS, A., DE LA FE, C., 2010b. Comparison of culture and PCR to detect *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* in ear swabs taken from goats. *Veterinary Microbiology* 140, 105–108.
 - 14- AMORES, J., DE LA FE, C., GÓMEZ-MARTÍN, A., CORRALES, J.C., CONTRERAS, A., SÁNCHEZ, A. 2011b. Preserved goat milk as a valid sample for the PCR detection of *Mycoplasma agalactiae*. *Small Ruminant Research* 99, 61–64.
 - 15- AMORES, J., SÁNCHEZ, A., GÓMEZ-MARTÍN, A., CORRALES, J.C., CONTRERAS, A., DE LA FE, C., 2010a. Viability of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *Capri* in goat milk samples stored under different conditions. *Veterinary Microbiology* 145, 347–350.
 - 16- AMORES, J., SÁNCHEZ, A., GÓMEZ-MARTÍN, A., CORRALES, J.C., CONTRERAS, A., DE LA FE, C., 2012. Surveillance of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* in dairy goat herds. *Small Ruminant Research* 102, 89–93.
 - 17- ANTUNES, N.T., TAVÍO, M.M., ASSUNÇÃO, P., ROSALES, R.S., AQUILI, V., DE LA FE, C., POVEDA, J.B., 2007a. In vitro susceptibilities of field isolates of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* large colony type to 15 antimicrobials. *Veterinary Microbiology* 119, 72–75.
 - 18- ANTUNES, N.T., TAVÍO, M.M., ASSUNÇÃO, P., ROSALES, R.S., POVEDA, C., DE LA FE, C., GIL, M.C., POVEDA, J.B., 2008. In vitro susceptibilities of field isolates of *Mycoplasma agalactiae*. *The Veterinary Journal* 177, 436–438.
 - 19- ANTUNES, N.T., TAVÍO, M.M., MERCIER, P., AYLING, R.D., AL-MOMANI, W., ASSUNÇÃO, P., ROSALES, R.S., POVEDA, J.B., 2007b. In vitro susceptibilities of *Mycoplasma putrefaciens* field isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 5, 3452–3454.

- 20- ARIF A., SCHULZ J., THIAUCOURT F., TAHA A. & HAMMER S. (2005). An outbreak of contagious caprine pleuropneumonia at Al Wabra Wildlife Preservation, State of Qatar. *J. Zoo Wildl. Med.*, 38, 93–96.
- 21- ARISOY, F., ERDAG, O., COTTEW, G. S., AND WATSON, W. A. 1967. *Turk. vet. Hekim, dern. Derg.*, 37, 11.
- 22- ARIZA-MIGUEL, J., RODRÍGUEZ-LÁZARO, D., HERNÁNDEZ, M., 2012. A survey of *Mycoplasma agalactiae* in dairy sheep farms in Spain. *BMC Veterinary Research* 8, 171.
- 23- ARIZA-MIGUEL, J., RODRÍGUEZ-LÁZARO, D., HERNÁNDEZ, M., 2013. Molecular characterization of *Mycoplasma agalactiae* reveals the presence of an endemic clone in Spain. *Journal of Clinical Microbiology* 51, 656–660.
- 24- BAJMOCY, E., TURCSANYI, I., BOLSKE, G., BACSADI, A., KISS, I., 2000. Disease caused by *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides* LC in Hungarian goat herds. *Acta Veterinaria Hungarica* 48, 277–283.
- 25- BARILE, M. F., R. A. DEL GIUDICE, T. R. CARSKI, C. J. GIBBS, AND J. A. MORRIS. 1968. Isolation and characterization of *Mycoplasma arginini* spec. nov. *Proc. SOC. Exp. Biol. Med.* 129:489-494.
- 26- BAR-MOSHE B., RAPAPPORT E. & BRENNER J. (1984). Vaccination trials against *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (large-colony type) infection in goats. *Israel J. Med. Sci.*, 20, 972–974.
- 27- BAR-MOSHE, B. AND RAPAPPORT, E. (1979). An outbreak of contagious caprine pleuropneumonia caused by *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides* (ovine/caprine serogroup 8). *Refuati Veterinarith.* 36: 53-54
- 28- BASEMAN, J. B. Y TULLY, J. G. (1997) *Mycoplasmas: sophisticated, reemerging, and burdened by their notoriety.* *Emerg infect Dis* 3, 21-32
- 29- BASHIRUDDIN J.B., TAYLOR T.K. & GOULD A.R. (1994). A PCR-based test for the specific identification of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC in clinical material. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 6, 428–434.
- 30- BECKER, C.A., RAMOS, F., SELLAL, E., MOINE, S., POUMARAT, F., TARDY, F., 2012. Development of a multiplex real-time PCR for contagious agalactia diagnosis in small ruminants. *Journal of Microbiological Methods* 90, 73–79.
- 31- BENKIRANE A., AMGHAR S. & KIRCHHOFF H. (1993). Analysis of membrane proteins of *Mycoplasma capricolum* strains by SDS-PAGE and immunoblotting. *J. Vet. Med. B*, 40, 119–124.
- 32- BERGONIER D., BERTHOLET X. & POUMARAT F. (1997). Contagious agalactia of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16, 848–873.

- 33- BERGONIER D., BERTHOLET X. & POUMARAT F. (1997). Contagious agalactia of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16, 848–873.
- 34- BERGONIER, D., BERTHELOT, X., POUMARAT, F., 1997. Contagious agalactia of small ruminants: Current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. *Revue Scientifique et Technique et Technique (Office International des Épizooties)* 16, 848–873.
- 35- BOLSKE G., MATTSSON J.G., BASCUNANA C.R., BERGSTROM K., WESONGA H. & JOHANSSON K.E. (1996). Diagnosis of contagious caprine pleuropneumonia by detection and identification by PCR and restriction enzyme analysis. *J. Clin. Microbiol.*, 34, 785–791.
- 36- BOLSKE G., MSAMI H., HUMLESLO N.E, ERNO H. & JONSSON L. (1988). *Mycoplasma capricolum* in an outbreak of polyarthritis and pneumonia in goats. *Acta Vet. Scand.*, 29, 331–338.
- 37- BRADBURY J.M. (1998). Identification of mycoplasmas by immunofluorescence. *En: Mycoplasma Protocols*, Miles R.J. & Nicholas R.A.J., eds. Humana Press, Totowa, USA, 119–125.
- 38- CASTRO-ALONSO, A., RODRÍGUEZ, F., DE LA FE, C., ESPINOSA DE LOS MONTEROS, A., POVEDA, J.B., ANDRADA, M., 2009. Correlating the immune response with the clinical– pathological course of persistent mastitis experimentally induced by *Mycoplasma agalactiae* in dairy goats. *Research in Veterinary Science* 86, 274–280.
- 39- CHAZEL, M., TARDY, F., LE GRAND, D., CALAVAS, D., POUMARAT, F., 2010. Mycoplasmoses of ruminants in France: Recent data from the national surveillance network. *BMC Veterinary Research* 6, 32.
- 40- CHOPRA-DEWASTHALY, R., BAUMGARTNER, M., GAMPER, E., INNEREBNER, C., ZIMMERMANN, M., SCHILCHER, F., TICHY, A., WINTER, P., JECHLINGER, W., ROSENGARTEN, R., SPERGSER, J., 2012. Role of Vpma phase variation in *Mycoplasma agalactiae* pathogenesis. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 63, 307–322.
- 41- CHU Y., GAO P., ZHAO P., HE Y., LIAO N., JACKMAN S., ZHAO Y., BIROL I., DUAN X. & LU Z. (2011). Genome Sequence of *Mycoplasma capricolum* subsp. *capripneumoniae* strain M1601. *J. Bacteriol.*, 193, 6098–6099.
- 42- CITTI, C., NOUVEL, L.X., BARANOWSKI, E., 2010. Phase and antigenic variation in mycoplasmas. *Future Microbiology* 5, 1073–1085.

- 43- CORRALES, J.C., SÁNCHEZ, A., LUENGO, C., POVEDA, J.B., CONTRERAS, A., 2004. Effect of clinical contagious agalactia on the bulk tank milk somatic cell count in Murciano Granadina goat herds. *Journal of Dairy Science* 87, 3165–3171.
- 44- COTTEW, G. S. & LLOYD, L. C. 1965. An outbreak of pleurisy and pneumonia in goats in Australia attributed to a *Mycoplasma* species. *Journal of Comparative Pathology* 75,363-374.
- 45- COTTEW, G.S. (1979). Pathogenicity of the subspecies *mycoides* of *Mycoplasma mycoides* for cattle, sheep and goats. *Zbl Bakt Hyg, I Abt Orig A*. 245: 164-170
- 46- COTTEW, G.S., YEATS, F.R., 1982. *Mycoplasmas* and mites in the ears of clinically normal goats. *Australian Veterinary Journal* 59, 77–81.
- 47- DA MASSA A.J., BROOKS D.L. & ADLER H.E. (1983). Caprine mycoplasmosis: widespread infection in goats with *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (large-colony type). *Am. J. Vet. Res.*, 44, 322–325.
- 48- DA MASSA A.J., BROOKS D.L., HOLMBERG C.A. & MOE A.I. (1987). Caprine mycoplasmosis: an outbreak of mastitis and arthritis requiring the destruction of 700 goats. *Vet. Rec.*, 120, 409–413.
- 49- DAMASSA, A.J., BROOKS, D.L., 1991. The external ear canal of the goats and other animals as a *mycoplasma* habitat. *Small Ruminant Research* 4, 85–93.
- 50- DAMASSA, A.J., BROOKS, D.L., HOLMBERG, C.A., MOE, A.I., 1987. Caprine mycoplasmosis: An outbreak of mastitis and arthritis requiring the destruction of 700 goats. *Veterinary Record* 120, 409–413.
- 51- DE LA FE C, AMORES J, GÓMEZ-MARTÍN A, SÁNCHEZ A, CONTRERAS A, CORRALES JC (2009). *Mycoplasma agalactiae* detected in semen of goat bucks. *Theriogenology*. 72: 1278-81.
- 52- DE LA FE, C., AMORES, J., TARDY, F., SAGNE, E., NOUVEL, L.X., CITTI, C., 2012. Unexpected genetic diversity of *Mycoplasma agalactiae* caprine isolates from an endemic geographically restricted area of Spain. *BMC Veterinary Research* 27, 146.
- 53- DE LA FE, C., ASSUNÇÃO, P., SAAVEDRA, P., TOLA, S., POVEDA, C., POVEDA, J.B., 2007b. Field trial of two dual vaccines against *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (large colony type) in goats. *Vaccine* 8, 2340–2345.
- 54- DE LA FE, C., CASTRO-ALONSO, A., HERRÁEZ, P., POVEDA, J.B., 2011. Recovery of *Mycoplasma agalactiae* from the ears of goats experimentally infected by the intramammary route. *The Veterinary Journal* 190, 94–97.
- 55- DE LA FE, C., GÓMEZ-MARTÍN, A., AMORES, J., CORRALES, J.C., SÁNCHEZ, A., POVEDA, J.B., CONTRERAS, A., 2010. Latent infection of male goats with

- Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* at an artificial insemination centre. *The Veterinary Journal* 186, 113–115.
- 56- DE LA FE, C., GUTIÉRREZ, A., POVEDA, J.B., ASSUNÇÃO, P., RAMÍREZ, A.S., FABELO, F., 2007a. First isolation of *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum*, one of the causal agents of caprine contagious agalactia, on the island of Lanzarote (Spain). *The Veterinary Journal* 173, 440–442.
- 57- DE LA FE, C., GUTIÉRREZ, A., POVEDA, J.B., ASSUNÇÃO, P., RAMÍREZ, A.S., FABELO, F., 2007a. First isolation of *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum*, one of the causal agents of caprine contagious agalactia, on the island of Lanzarote (Spain). *The Veterinary Journal* 173, 440–442.
- 58- DE LA FE, C., SÁNCHEZ, A., GUTIÉRREZ, A., CONTRERAS, A., CORRALES, J.C., ASSUNÇÃO, P., POVEDA, C., POVEDA, J.B., 2009b. Effects on goat milk quality of the presence of *Mycoplasma* spp. in herds without symptoms of contagious agalactia. *Journal of Dairy Research* 76, 20–23.
- 59- DEDIEU L., MADY V. & LEFEVRE P. C. (1995). Development of two PCRs for the identification of mycoplasmas causing contagious agalactia. *FEMS Microbiol. Lett.*, 129, 243–250.
- 60- DEWDNEY, J.M., MAES, L., RAYNAUD, J.P., BLANC, F., SCHEID, J.P., JACKSON, T., LENS, S., VERSCHUEREN, C., 1991. Risk assessment of antibiotic residues of beta-lactams and macrolides in food products with regard to their immunological potential. *Food and Chemical Toxicology* 29, 477–483.
- 61- DI PROVVIDO, A., SCACCHIA, M., VARASANO, V., CHURCHWARD, C., DE CARO, C., AL-MOMANI, W., DI FRANCESCO, G., AYLING, R.D., LELLI, R., NICHOLAS, R.A., 2009. Experimental infection of goats with an unusual strain of *Mycoplasma mycoides* subsp. *Capri* isolated in Jordan. *Journal of Comparative Pathology* 141, 121–126.
- 62- FITZMAURICE, J., SEWELL, M., MANSO-SILVÁN, L., THIAUCOURT, F., MCDONALD, W.L., O'KEEFE, J.S., 2008. Real-time polymerase chain reaction assays for the detection of members of the *Mycoplasma mycoides* cluster. *New Zealand Veterinary Journal* 56, 40–47.
- 63- GIL M.C., HERMOSO DE MENDOZA M., REY J., ALONSO J.M. POVEDA J.B. & HERMOSO DE MENDOZA J. (1999). Aetiology of caprine contagious agalactia syndrome in Extramadura, Spain. *Vet. Rec.*, 144, 24–25.
- 64- GIL MC, HERMOSO DE MENDOZA M, REY J, ALONSO JM, POVEDA JB, HERMOSO DE MENDOZA J (1999). Isolation of mycoplasmas from the external ear canal of goats affected with contagious agalactia. *Vet. J.* 158:152–4.

- 65- GIL, M.C., PENA, F.J., HERMOSO, D.M., GÓMEZ, L., 2003. Genital lesions in an outbreak of caprine contagious agalactia caused by *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma putrefaciens*. *Journal of Veterinary Medicine B. Infectious Diseases and Veterinary Public Health* 50, 484–487.
- 66- GLEW, M.D., PAPAIZISI, L., POUMARAT, F., BERGONIER, D., ROSENGARTEN, R., CITTI, C., 2000. Characterization of a multigene family undergoing high-frequency DNA rearrangements and coding for abundant variable surface proteins in *Mycoplasma agalactiae*. *Infection and Immunity* 68, 4539–4548.
- 67- GÓMEZ-MARTÍN A, CORRALES JC, AMORES J, SÁNCHEZ A, CONTRERAS A, PATERNA A, DE LA FE C (2012a). Controlling contagious agalactia in artificial insemination centers for goats and detection of *Mycoplasma mycoides* subspecies capri in semen. *Theriogenology*. 77:1252-6.
- 68- GÓMEZ-MARTÍN A, DE LA FE C, AMORES J, SÁNCHEZ A, CONTRERAS A, PATERNA A, BUENDÍA AJ, CORRALES JC (2012b). Anatomic location of *Mycoplasma mycoides* subsp. capri and *Mycoplasma agalactiae* in naturally infected goat male auricular carriers. *Vet Microbiol*. 157: 355-62.
- 69- GÓMEZ-MARTÍN A, UC N, GADEA J, DE ONDIZ A, VIEIRA LA, AMORES J, RABAL F, DE LA FE C (2011). Influencia de *Mycoplasma agalactiae* y *Mycoplasma mycoides* subsp. capri en la viabilidad y motilidad espermática en dosis seminales de macho cabrío. XIV Jornadas sobre Producción Animal, Zaragoza. Publicación: AIDA. Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario. XIV Jornadas sobre Producción Animal, Tomo I, 431-3.
- 70- GÓMEZ-MARTÍN, A., CORRALES, J.C., AMORES, J., SÁNCHEZ, A., CONTRERAS, A., PATERNA, A., DE LA FE, C., 2012b. Controlling contagious agalactia in artificial insemination centers for goats and detection of *Mycoplasma mycoides* subspecies capri in semen. *Theriogenology* 77, 1252–1256
- 71- GÓMEZ-MARTÍN, A., DE LA FE, C., AMORES, J., SÁNCHEZ, A., CONTRERAS, A., PATERNA, A., BUENDÍA, A.J., CORRALES, J.C., 2012a. Anatomic location of *Mycoplasma mycoides* subsp. capri and *Mycoplasma agalactiae* in naturally infected goat male auricular carriers. *Veterinary Microbiology* 157, 355–362.
- 72- GÓMEZ-MARTÍN, A., SÁNCHEZ, A., AMORES, J., CORRALES, J.C., CONTRERAS, A., DE LA FE, C., 2013. Effect of marbofloxacin on mycoplasma carrier state and sperm quality in goat bucks. *Small Ruminant Research* 112, 186–190.
- 73- GONZALO, C., CARRIEDO, J.A., BLANCO, M.A., BENEITEZ, E., JUAREZ, M.T., DE LA FUENTE, L.F., PRIMITIVO, F.S., 2005. Factors of variation influencing bulk-tank somatic cell count in dairy sheep. *Journal of Dairy Science* 88, 969–974.
- 74- GREIG, A.S. 1955. *Can.T. Comp. Med.* 19. p 265-271.

- 75- HARBI, M.S.M.A., EL TAHIR, M.S., MACOWAN, K.J., NAYIL, A.A. *Mycoplasma* strain F38 and contagious caprine pleuropneumonia in the Sudan. *Vet. Res. Commun.* 1981;6:139–143.
- 76- HUTCHEON D. (1889). Contagious pleuropneumonia in goats at Cape Colony, South Africa. *Vet. J.*, 29, 399–404.
- 77- HUTCHEON, D. (1881). Contagious pleuropneumonia in Angora goats. *Veterinary Journal.* 13: 171-180.
- 78- JONES G.E., RAE A.G., HOLMES R.G., LISTER S.A., JONES J.M., GRATER G.S. & RICHARDS N. (1983). Isolation of exotic mycoplasmas from sheep in England. *Vet. Rec.*, 113, 540.
- 79- KHAN L., LORIA G., ABU-AMERO K., NICHOLAS R.A.J., HALABLAB M. & MILES R.J. (2001). Distinctive biochemical characteristics of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma bovis*. *En: Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics*, Vol. 5, Poveda J.B., Fernandez A., Frey J. & Johansson K.-E., eds. European Commission, Brussels, Belgium, 60–63.
- 80- KIBOR A.C. & WAIYAKI P.G. (1986). Growth of mycoplasma F38 in medium B (modified Hayflick) and Newing's typtose medium. *Bull. Anim. Health Prod. Afr.*, 34, 157–159.
- 81- KIDANEMARIAM, A., GOUWS, J., VAN VUUREN, M., GUMMOW, B., 2005a. Ulcerative balanitis and vulvitis of Dorper sheep in South Africa: A study on its aetiology and clinical features. *Journal of the South African Veterinary Association* 76, 197–203.
- 82- KIDANEMARIAM, A., GOUWS, J., VAN VUUREN, M., GUMMOW, B., 2005b. In vitro antimicrobial susceptibility of *Mycoplasma mycoides mycoides* large colony and *Arcanobacterium pyogenes* isolated from clinical cases of ulcerative balanitis and vulvitis in Dorper sheep in South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association* 76, 204–208
- 83- KINDE, H., DAMASSA, A.J., WAKENELL, P.S., PETTY, R., 1994. *Mycoplasma* infection in a commercial goat dairy caused by *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (caprine biotype). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 6, 423–427.
- 84- KRAUSS, H. AND WANDERA, J. G. 1970. Isolation and properties of mycoplasma from the respiratory tract of sheep with jaagsiekte in Kenya. *J. comp. Path. Ther.*, 80, 389
- 85- LAMBERT M., CALAMEL M., DU FOUR P., CABASSE E., VITU C. & PEPIN M. (1998). Detection of false-positive será in contagious agalactia with a multiantigen

- ELISA and their elimination with a protein G conjugate. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 10, 326–330.
- 86- LEACH R.H., ERNO H. & MACOWAN K.J. (1993). Proposal for designation of F38-type caprine mycoplasmas as *Mycoplasma capricolum* subsp. *capripneumoniae* subsp. nov. and consequent obligatory relegation of strains currently classified as *M. capricolum* (Tully, Garile, Edward, Theodore & Erno, 1974) to an additional new subspecies, *M. capricolum* subsp. *capricolum* subsp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 43, 603–605.
- 87- LEON VIZCAINO L., GARRIDO ABELLAN F., CUBERO PABLO M.J. & PERALES A. (1995). Immunoprophylaxis of caprine contagious agalactia due to *Mycoplasma agalactiae* with an inactivated vaccine. *Vet. Rec.*, 137, 266–269.
- 88- LITAMOI J.K., WANYANGU S.W. & SIMAM P.K. (1990). Isolation of *Mycoplasma* biotype F38 from sheep in Kenya. *Trop. Anim. Health Prod.*, 22, 260–262.
- 89- LIVINGSTON CW JR; GAUER BB, 1979. Isolation of *Mycoplasma ovipneumoniae* from Spanish and Angora goats. *American Journal of Veterinary Research*, 40:407-408.
- 90- LORIA G.R., PIRANO C., WORTH D.R., CARACAPPA S. & NICHOLAS R.A.J. (1999). Identification and antibiotic susceptibility of mycoplasmas associated with contagious agalactia in Sicily. *En: Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics*, Vol 3, Stipkovits L., Rosengarten R., Frey J., eds. European Commission, Brussels, Belgium, 116–118.
- 91- LORIA, G.R., SAMMARTINO, C., NICHOLAS, R.A., AYLING, R.D., 2003. In vitro susceptibilities of field isolates of *Mycoplasma agalactiae* to oxytetracycline, tylosin, enrofloxacin, spiramycin and lincomycin–spectinomycin. *Research in Veterinary Sciences* 75, 3–7.
- 92- MACKAY, I.R., GOLDSTEIN, G. & MCCONCHIE, I.H. (1963) Thymectomy in systemic lupus erythematosus. *Brit. med. J.* ii, 792.
- 93- MACMARTIN D.A., MACOWAN K.J. & SWIFT L.L. (1980). A century of classical contagious caprine pleuropneumonia: from original description to aetiology. *Br. Vet. J.*, 136, 507–515.
- 94- MACOWAN K.J. & MINETTE J.E. (1976). A mycoplasma from acute contagious caprine pleuropneumonia in Kenya. *Trop. Anim. Health Prod.*, 8, 91–95.
- 95- MACOWAN K.J. & MINETTE J.E. (1978). The effect of high passage mycoplasma strain F38 on the courses of contagious caprine pleuropneumonia (CCPP). *Trop. Anim. Health Prod.*, 10, 31–35.
- 96- MACOWAN, K. J. & MINETTE, J. E. (1976). A mycoplasma from acute contagious caprine pleuropneumonia in Kenya. *Tropical Animal Health Production* 8, 91-5.

- 97- MANAZZA J, CALVINHO L, NEDER V, COLOMBO G, HARA S, ODEON A, SPARTH E. XIX REUNION
- 98- MANSO-SILVÁN L., PERRIER X. & THIAUCOURT F. (2007). Phylogeny of the *Mycoplasma mycoides* cluster based on analysis of five conserved protein-coding sequences and possible implications for the taxonomy of the group. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 57, 2247–2258.
- 99- MCMARTIN DA, MACOWAN KJ, SWIFT LL (1980): A century of classical contagious pleuropneumonia: from original description to aetiology. *British Veterinary Journal* 136, 507–515.
- 100- MERCIER P., LENFANT D., POUMARAT F. & PERRIN G. (2001). Prevalence of mycoplasma infection within French milking caprine herds. *En: Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics*, Vol. 5, Poveda J.B., Fernandez A., Frey J. & Johansson K.-E., eds. European Commission, Brussels, Belgium, 130–133.
- 101- MERCIER, P., PELLET, M., MORIGNAT, E., CALAVAS, D., POUMARAT, F., 2007. Prevalence of mycoplasmas in external ear canal of goats: Influence of the sanitary status of the herd. *Small Ruminant Research* 73, 296–299.
- 102- MILES, K., MCAULIFFE, L., NICHOLAS, R.A.J.(2006).
- 103- MOMANI, A.W., HALABLAB, M.A., ABO-SHEHADA, M.N.,
- 104- MORALES-DE LA NUEZ A, MORENO-INDIAS I, SÁNCHEZ-MACÍAS D, CAPOTE J, JUSTE MC, CASTRO N, HERNÁNDEZ-CASTELLANO LE, ARGÜELLO A (2011). Sodium dodecyl sulfate reduces bacterial contamination in goat colostrum without negative effects on immune passive transfer or the health of goat kids. *J. Dairy Sci.* 94: 410-5.
- 105- MOUROT, D., LOUSSOUARN, S., 1981. Sensibilité des ferments lactiques aux antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire. *Recueil de Médecine Vétérinaire* 157, 175–177.
- 106- NASCIMENTO E.R., NASCIMENTO M.G.F., FREUNDT E.A. & ANDERSEN H. (1986). Isolation of *Mycoplasma mycoides* from outbreaks of caprine mycoplasmosis in Brazil. *Brit. Vet. J.*, 142, 246–257.
- 107- NICHOLAS R.A.J. & BAKER S.E. (1998). Recovery of mycoplasmas from animals. *En: Mycoplasma Protocols*, Miles R.J. & Nicholas R.A.J. eds. Humana Press, Totowa, USA, 37–44.
- 108- NICHOLAS R.A.J. (1998). Surveillance for contagious agalactia in Great Britain. *En: Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics*, Vol. 2, Leori G., Santini F., Scanziani E. & Frey J., eds. European Commission, Brussels, Belgium, 95–97.

- 109- NICHOLAS R.A.J. (1998). Surveillance for contagious agalactia in Great Britain. *En: Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics*, Vol. 2, Leori G., Santini F., Scanziani E. & Frey J., eds. European Commission, Brussels, Belgium, 95–97.
- 110- NICHOLAS, R., AYLING, R., MACAULIFFE, L., 2008. *Mycoplasma Diseases of Ruminants*. CAB International, Oxfordshire, UK, 239 pp.
- 111- NOUVEL, L.X., MARENDA, M.S., GLEW, M.D., SAGNÉ, E., GIAMMARINARO, P., TARDY, F., POUMARAT, F., ROSENGARTEN, R., CITTI, C., 2012. Molecular typing of *Mycoplasma agalactiae*: Tracing European-wide genetic diversity and an endemic clonal population. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 35, 487–496.
- 112- NOUVEL, L.X., SIRAND-PUGNET, P., MARENDA, M., SAGNÉ, E., BARBE, V., MANGENOT, S., SCHENOWITZ, C., JACOB, D., BARRÉ, A., CLAVEROL, S., BLANCHARD, A., CITTI, C., 2010. Comparative genomic and proteomic analyses of two *Mycoplasma agalactiae* strains: Clues to the macro- and micro-events that are shaping mycoplasma diversity. *BMC Genomics* 11, 86.
- 113- OIE. 2014. Version adoptada por la asamblea mundial de delegados de la oie en mayo de 2014. Capítulo 2.7.6. Pleuroneumonía contagiosa caprina.
- 114- ORAVCOVÁ, K., LÓPEZ-ENRÍQUEZ, L., RODRÍGUEZ-LÁZARO, D., HERNÁNDEZ, M., 2009. *Mycoplasma agalactiae* p40 Gene, a novel marker for diagnosis of contagious agalactia in sheep by real-time PCR: Assessment of analytical performance and in-house validation using naturally contaminated milk samples. *Journal of Clinical Microbiology* 47, 445–450.
- 115- OSTROWSKI, S., THIAUCOURT, F., AMIRBEKOV, M., MAHMADSHOEV, A., MANSO-SILVÁN, L., DUPUY, V., VAHOBOV, D., ZIYOEV, O., MICHEL, S., 2011. Fatal outbreak of *Mycoplasma capricolum* pneumonia in endangered markhors. *Emerging Infectious Diseases* 17, 2338–2341.
- 116- OTERO, N.J., JARAMILLO MEZA, L., MIRANDA MORALES, R.E., NAVARRO HERNÁNDEZ, J.A., QUINTERO MARTÍNEZ, M.T., 2009. Association of *Raillietia caprae* with the presence of *Mycoplasmas* in the external ear canal of goats. *Preventive Veterinary Medicine* 92, 150–153.
- 117- PATERNA A, AMORES J, GÓMEZ-MARTÍN A, CORRALES JC, CONTRERAS A, DE LA FE C, SÁNCHEZ A (2011). Efecto de la pasteurización del calostro caprino sobre la viabilidad de *Mycoplasma agalactiae*. XXXVI Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, San Sebastián.
- 118- PATERNA, A., SÁNCHEZ, A., AMORES, J., GÓMEZ-MARTÍN, A., CORRALES, J.C., CONTRERAS, A., DE LA FE, C., 2012. Survival of *Mycoplasma*

- agalactiae and *Mycoplasma mycoides* subspecies capri in heat treated goat colostrum. *The Veterinary Journal* 196, 263–265.
- 119- PEPIN M., SANCHIS R., ABADIE G., LAMBERT M., DUFOUR P. & GUIBERT J.-M. (2001). Experimental vaccination against *Mycoplasma agalactiae* using an inactivated vaccine. *En: Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics*, Vol. 5, Poveda J.B., Fernandez A., Frey J. & Johansson K.-E., eds. European Commission, Brussels, Belgium, 162–165.
- 120- PERREAU P. & BIND J.L. (1981). Infection naturelle du veau par *Mycoplasma mycoides* subsp. *Mycoides* (biotype chevre). *Bull. Acad. Vet. Fr.*, 52, 575–581.
- 121- PERREAU P. (1979). Les mycoplasmoses de la chèvre. *Cah. Med. Vet.*, 48, 71–85.
- 122- PERREAU P., LE GOFF C. & GIAUFFRET A. (1976). Le diagnostic sérologique de l'agalactie contagieuse des petits ruminants: un test de fixation du complément. *Bull. Acad. Vet. Fr.*, 49, 185–192.
- 123- PERREAU, P. (1979a). Mycoplasmosse caprine à *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* en France. *Bull Acad Vét Fr.* 52: 575-581.
- 124- PERREAU, P. (1979b). Les mycoplasmoses de la chèvre. *Cah Méd Vét.* 48: 71-85.
- 125- POLLACK, J. D., WILLIAMS, M. V. Y MCELHANEY, R. N. (1997). The comparative metabolism of the mollicutes (*Mycoplasmas*): the utility for taxonomic classification and the relationship of putative gene annotation and phylogeny to enzymatic function in the smallest free-living cells. *Crit rev Microbiol* 23, 269-354.
- 126- POUMARAT F.(1998). Identification of mycoplasmas by dot immunobinding on membrane filtration (MF Dot). *En: Mycoplasma Protocols*, Miles R.J. & Nicholas R.A.J., eds. Humana Press, Totowa, USA, 113–118.
- 127- POUMARAT, F. (2011). Performances comparées De deux kits ELISA commerciaux pour le dépistage sérologique de l'Agalactie Contagieuse des petits ruminants due à *Mycoplasma agalactiae*. *Coordination nationale agalactie contagieuse et mycoplasmoses des petit ruminants (ENVT-INRA)* 19 de abril de 2011. Toulouse Francia.
- 128- POUMARAT, F., LE GRAND, D., GAURIVAUD, P., GAY, E., CHAZEL, M., GAME, Y., BERGONIER, D., 2012. Comparative assessment of two commonly used commercial ELISA tests for the serological diagnosis of contagious agalactia of small ruminants caused by *Mycoplasma agalactiae*. *BMC Veterinary Research* 8, 109.
- 129- POVEDA J.B. & NICHOLAS R.A.J. (1998). Serological identification of mycoplasmas by growth and metabolic inhibition tests. *En: Mycoplasma Protocols*, Miles R.J. & Nicholas R.A.J., eds. Humana Press, Totowa, USA, 105–111.

- 130- POVEDA J.B. (1998). Biochemical characteristics in mycoplasma identification. *En: Mycoplasma Protocols*, Miles R.J. & Nicholas R.A.J., eds. Humana Press, Totowa, USA, 69–78.
- 131- RODRIGUEZ J.L., POVEDA J.B., GUTIERREZ C., ACOSTA B. & FERNANDEZ A. (1994). Polyarthrititis in kids associated with *Mycoplasma putrefaciens*. *Vet. Rec.*, 135, 406–407.
- 132- RODRIGUEZ J.L., POVEDA J.B., OROS J., HERRAEZ P., SIERRA M.A. & FERNANDEZ A. (1995). High mortality in goats associated with the isolation of a strain of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (Large Colony Type). *J. Vet. Med. B*, 42, 587–593.
- 133- RURANGIRWA F.R., MCGUIRE T.C., KIBOR A. & CHEMA S. (1987). An inactive vaccine for contagious caprine pleuropneumonia. *Vet. Rec.*, 121, 397–402.
- 134- SCHUBERT, E., SACHSE, K., JORES, J., HELLER, M., 2011. Serological testing of cattle experimentally infected with *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*. Small colony using four different tests reveals a variety of seroconversion patterns. *BMC Veterinary Research* 7, 72.
- 135- SIERRA, D., CONTRERAS, A., SÁNCHEZ, A., LUENGO, C., CORRALES, J.C., MORALES, C.T., DE LA FE, C., GUIRAO, I., GONZALO, C., 2009. Detection limits of non-beta-lactam antibiotics in goat's milk by microbiological residues screening tests. *Journal of Dairy Science* 92, 4200–4206.
- 136- SKAPSKI, A., HYGONENQ, M.C., SAGNÉ, E., GUIRAL, S., CITTI, C., BARANOWSKI, E., 2011. Genome-scale analysis of *Mycoplasma agalactiae* loci involved in interaction with host cells. *PLoS One* 6, e25291.
- 137- SPERGSER, J., AURICH, C., AURICH, J.E., ROSENGARTEN, R., 2002. High prevalence of mycoplasmas in the genital tract of asymptomatic stallions in Austria. *Veterinary Microbiology* 87, 119–129.
- 138- SRIVASTAVA A.K., MEENOWA D., BARDEN G., CHURCHWARD C., AYLING R.D., SALGUERO F.J. & NICHOLAS R.A.J. (2010). Contagious caprine pleuropneumonia in Mauritius. *Vet. Rec.*, 167, 304–305.
- 139- STICOTTI E, TAMIOZZO P, ESTANGUET A, GIRAUDO J, MACIÓ M, BÉRGAMO E, MAGNANO G, SCHNEIDER M, MACIAS A. 2013. Detección de *Mycoplasma* sp en cabras. VI JORNADAS DE LAS CIENCIAS AGROPECUARIAS.FAV.UNRC. p 213.
- 140- STICOTTI E, mastitis en cabras: principales microorganismos asociados a mastitis clínica en el gando caprino. Tesis de la Especialización en la Sanidad de los Rumiantes Domesticos. Fac. de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Argentina. 75 p.

- 141- STICOTTI E, TAMIOZZO P, CHANIQUE A, MACIÓ M, MAGNANO G, SCHNEIDER M, GIRAUDO J., 2018. Aislamiento de *Mycoplasma* sp a partir ed leche de cabras. Memorias de las VIII JORNADAS DE JOVENES INVESTIGADORES UBA.FCV. Buenos Aires, Argentina p 151.
- 142- STICOTTI E, SALINAS A, ALVARADO W, MACIO M, SNEIDER M, MAGNANO G, NIEVAS V, RANG C, STURNIOLO C, FERNANDEZ J, TORANZO P, AGNELLI B, APARICIO L, SARRI F, FERNANDEZ M, GRAMAGLIA C, GIRAUDO J., 2018. Aislamientos microbiológicos en leches de cabras con mastitis clínica y clínicamente sanas de productores familiares del noroeste de Córdoba, Argentina. Memorias de las XXII REUNION CIENTIFICA TECNICA DE LA ASOCIACION ARGENTINA DE LABORATORIOS DE DIAGNOSTICO., Rio Cuarto, Cordoba, Argentina p 63.
- 143- SUBRAHAMANIAM S., BERGONIER D., POUMARAT F., CAPUAL S., SCHLATTER Y., NICOLET J. & FREY J. (1998). Species identification of *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma agalactiae* based on the *uvrC* gene by PCR. *Mol. Cell. Probes*, 12, 161–169.
- 144- SZEREDI, L., TENK, M., DAN, A., 2003. Infection of two goatherds with *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* in Hungary, evidence of a possible faecal excretion. *Journal of Veterinary Medicine B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health* 50, 172–177.
- 145- TARDY, F., BARANOWSKI, E., NOUVELL, L.X., MICK, V., MANSO-SILVÁN, L., THIAUCOURT, F., THÉBAULT, P., BRETON, M., SIRAND-PUGNET, P., BLANCHARD, A., GARNIER, A., GIBERT, P., GAME, Y., POUMARAT, F., CITTI, C., 2012. Emergence of atypical *Mycoplasma agalactiae* strains harboring a new prophage and associated with an alpine wild ungulate mortality episode. *Applied and Environmental Microbiology* 78, 4659–4668.
- 146- TARDY, F., MAIGRE, L., TRICOT, A., POUMARAT, F., NGUYEN, L., LE GRAND, D., 2011 Comparison of isolates of *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* from asymptomatic and septicaemic goats. *Journal of Comparative Pathology* 144,70–77.
- 147- THIAUCOURT F. & BOLSKE G. (1996). Contagious caprine pleuropneumonia and other pulmonary mycoplasmoses of sheep and goats. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.*, 15, 1397–1414.
- 148- THIAUCOURT, F., BÖLSKE, G., 1996. Contagious caprine pleuropneumonia and other pulmonary mycoplasmoses of sheep and goats. *Revue Scientifique et Technique (Office International des Épizooties)* 15, 1397–1414.

- 149- TOLA S., ANGIOI A., ROCCHIGIANI A.M., IDINI G., MANUNTA D., GALLERI G. & LEORI G. (1997). Detection of *Mycoplasma agalactiae* in sheep milk samples by polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol.*, 54, 17–22.
- 150- TOLA S., MANUNTA D., COCCO M., TURRININ F., ROCCHIGIANI A.M., IDINI G., ANGIOI A. & LEORI G. (1997). Characterisation of membrane surface proteins of *Mycoplasma agalactiae* during natural infection. *FEMS Microbiol. Lett.*, 154, 355–362.
- 151- TOLA S., MANUNTA D., ROCCA S., ROCCHIGIANI A.M., IDINI G., ANGIOI A. & LEORI G. (1999). Experimental vaccination of against *Mycoplasma agalactiae* using different inactivated vaccine. *Vaccine* 17, 2764–2768.
- 152- TOLA, S., MANUNTA, D., ROCCA, S., ROCCHIGIANI, A.M., IDINI, G., ANGIOI, P.P., LEORI, G., 1999. Experimental vaccination against *Mycoplasma agalactiae* using different inactivated vaccines. *Vaccine* 16, 2764–2768.
- 153- TRICHARD C.J.V., JORDAN P., PROZESKY L., JACOBSZ E.P. & HENTON M.M. (1993). The identification of *Mycoplasma mycoides* subsp.*mycoides* LC as the aetiological agent of balanoposthitis and vulvovaginitis in sheep in South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 60, 29–37.
- 154- TRICHARD, C.J., JORDAAN, P., PROZESKY, L., JACOBSZ, E.P., HENTON, M.M., 1993. The identification of *Mycoplasma mycoides mycoides* LC as the aetiological agent of balanoposthitis and vulvovaginitis in sheep in South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 60, 29–37.
- 155- TURKASLAN J. (1990). Control of important mycoplasma diseases in Turkey with special emphasis on CCPP and contagious agalactia. *IOM Lett.*, 1, 184–185.
- 156- VERBISCK, G., GONZÁLEZ CANDELA, M., GALIÁN, J., CUBERO PABLO, M.J., MARTÍN ATANCE, P., LEÓN VIZCAÍNO, L., 2008. Epidemiology of *Mycoplasma agalactiae* infection in free-ranging Spanish ibex (*Capra pyrenaica*) in Andalusia, Southern Spain. *Journal of Wildlife Disease* 44, 369–380.
- 157- WALZ, P.H., MULLANEY, T.P., RENDER, J.A., WALKER, R.D., MOSSER, T., BAKER, J.C., 1997. Otitis media in preweaned Holstein dairy calves in Michigan due to *Mycoplasma bovis*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 9, 250–254.
- 158- WISE, K.S., FOECKING, M.F., RÖSKE, K., LEE, Y.J., LEE, Y.M., MADAN, A., CALCUTT, M.J., 2006. Distinctive repertoire of contingency genes conferring mutation-based phase variation and combinatorial expression of surface lipoproteins in *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* of the *Mycoplasma mycoides* phylogenetic cluster. *Journal of Bacteriology* 188, 4926–4941, Erratum in: *Journal of Bacteriology* 2006, 188, 6716–6717.

- 159- Woubit S., Lorenzon S., Peyraud A., Manso-Silvan L. & Thiaucourt F. (2004). A specific PCR for the identification of *Mycoplasma capricolum* subsp. *capripneumoniae*, the causative agent of contagious caprine pleuropneumonia (CCPP). *Vet. Microbiol.*, 104, 125–132.
- 160- Rurangirwa F.R., Masiga W.N., Masiga W.N., Muriu D.N., Muthomi E., Murila G., Kagumba M. and Nandhoka E., 1981a. Treatment of contagious caprine pleuropneumonia. *Tropical Animal Health and Production* 13:177-182.

ANEXO 1

Identificación	Resultados
AI009	POSITIVO
AI002	NEGATIVO
AI007	NEGATIVO
AI010	NEGATIVO
AI005 MC	NEGATIVO
AII020	NEGATIVO
AII021 MC	POSITIVO
AII037	NEGATIVO
AII017	NEGATIVO
AII014	NEGATIVO
AIII047	NEGATIVO
AIII045	NEGATIVO
AIII050	NEGATIVO
AIII046	NEGATIVO
AIII043	NEGATIVO
AIV094	NEGATIVO
AIV098	NEGATIVO
AIV099	NEGATIVO
AIV097	POSITIVO
AV125	POSITIVO
AV126	NEGATIVO
AV127	NEGATIVO
AV130	NEGATIVO
AVI170	NEGATIVO
AVI172	NEGATIVO
AVI166	NEGATIVO
AVI164	NEGATIVO
AVI161	NEGATIVO
AVII211	NEGATIVO
AVIII174	NEGATIVO
AVIII192	NEGATIVO
AVII209	NEGATIVO
AVII200	NEGATIVO

BI572	NEGATIVO
BII3527087	NEGATIVO
BII0620	NEGATIVO
BII619	POSITIVO
BII3527700	NEGATIVO
BIII3520997	NEGATIVO
CI54	NEGATIVO
CI51 MC	NEGATIVO
CI57	POSITIVO
CI55	NEGATIVO
CI53	NEGATIVO
CI58	POSITIVO
CI52 MC	NEGATIVO
CII101	NEGATIVO
CII102	NEGATIVO
CII103	NEGATIVO
CII105	NEGATIVO
CII106	POSITIVO
CII104	POSITIVO
CIII156	NEGATIVO
CIV A 23	NEGATIVO
CIV203	POSITIVO
CIV 20 B	NEGATIVO
CV212	NEGATIVO
CV216	NEGATIVO
CV215	POSITIVO
CV12	POSITIVO
CV214 MC	POSITIVO
CV211 MC	POSITIVO
CV222	POSITIVO
CV18	POSITIVO
DI919	NEGATIVO
DI938	NEGATIVO
DI926	NEGATIVO
DI	NEGATIVO

DI928	NEGATIVO
D130 MC	NEGATIVO
DII7309	NEGATIVO
DII6709	POSITIVO
DII6702	NEGATIVO
DII6704	NEGATIVO
DII7218	POSITIVO
DIII899	NEGATIVO
DIII947	POSITIVO
DIII945	NEGATIVO
DIII878	NEGATIVO
DIII877	NEGATIVO
DIV771	NEGATIVO
DIV772	POSITIVO
DIV793	NEGATIVO
DIV757	NEGATIVO
DV847	POSITIVO
DV846	NEGATIVO
DV824	NEGATIVO
DV788	POSITIVO
DV812	POSITIVO
DV825	POSITIVO
EI262	POSITIVO
EI255 MC	POSITIVO
EII281 MC	POSITIVO
EII284	POSITIVO
EII289	NEGATIVO
EII283	NEGATIVO
EII282 MC	POSITIVO
EII288	POSITIVO
EII285	NEGATIVO
EIII323	NEGATIVO
EIII312	NEGATIVO
EIII337	POSITIVO
EIV357	NEGATIVO

EIV360	POSITIVO
EV386	NEGATIVO
EV379	NEGATIVO
EV399	NEGATIVO
EV397	POSITIVO
EV375 MC	POSITIVO
EV388	NEGATIVO
EVI947	NEGATIVO
EVI935	POSITIVO
EVI937	POSITIVO
EVI401	NEGATIVO
EVII115 MC	NEGATIVO
EVII410	POSITIVO
EV119	POSITIVO
EVII285	NEGATIVO
FI037	NEGATIVO
FI069	NEGATIVO
FI070	NEGATIVO
FI083	NEGATIVO
FI69	NEGATIVO
F1067 MC	NEGATIVO
F7076	POSITIVO
FII954	NEGATIVO
FII953	NEGATIVO
FII950	POSITIVO
FII966 MC	POSITIVO
FII940 MC	NEGATIVO
FII972	NEGATIVO
FII961 MC	POSITIVO
FII962	POSITIVO
FIII935 MC	NEGATIVO
FIII932	POSITIVO
FIV70	POSITIVO
FIII926	NEGATIVO
FIII934	NEGATIVO

FIII937	POSITIVO
FIII929	POSITIVO
FIV541	NEGATIVO
FV308	NEGATIVO
FV312	NEGATIVO
FVI275	NEGATIVO
GII802	NEGATIVO
GII629	NEGATIVO
GII804	NEGATIVO
GIII196	NEGATIVO
GIII192	NEGATIVO
GIII182	NEGATIVO
GIII105 D	NEGATIVO
GIII204	NEGATIVO
GIII178	NEGATIVO
HI527	POSITIVO
HI533 MC	POSITIVO
HI539	NEGATIVO
HII856	POSITIVO
HII91	POSITIVO
HII87	NEGATIVO
HII328	NEGATIVO
HII3	NEGATIVO
HII361	NEGATIVO
IIII871	NEGATIVO
IIII862	POSITIVO
HIV624	NEGATIVO
HIV611	POSITIVO
HIV615	POSITIVO
HIV625	NEGATIVO
HV802	NEGATIVO
HV3496801	NEGATIVO
HV857	NEGATIVO
HIV103	NEGATIVO
HVI824	NEGATIVO

HVI700	POSITIVO
HVI684	NEGATIVO
HVI694	POSITIVO
HVI695	NEGATIVO
I130 MC	NEGATIVO
I 1506	NEGATIVO
I 1516	NEGATIVO
I 1508	NEGATIVO
I 1502	NEGATIVO
I III127	NEGATIVO
I III128	NEGATIVO
I III129	NEGATIVO
IV112	NEGATIVO
J1478	NEGATIVO
J1477	POSITIVO
J1494 MC	NEGATIVO
J1453 MC	NEGATIVO
J1479	NEGATIVO
JII523	NEGATIVO
JII525	NEGATIVO
JII521	NEGATIVO
JIII505	NEGATIVO
JIII507	NEGATIVO
JIII508	NEGATIVO
JIII503	NEGATIVO
JIV5	NEGATIVO
JIV3	POSITIVO
JV2	NEGATIVO
JV3	POSITIVO
JV5	NEGATIVO
JVI4	NEGATIVO
NN	NEGATIVO

Tabla N° 2: Resultados de las observaciones al microscopio optico.

