

CARACTERÍSTICAS UTERINAS Y OVÁRICAS EN LOS PRIMEROS 240 DÍAS DE GESTACIÓN EN VAQUILLONAS HOLSTEIN NATURALMENTE INFECTADAS POR *Leptospira* spp. PATOGENICAS

Urioste, V.¹, Lockhart, B.¹; Garzón, J.P.¹; Zarantonelli, L.^{2,3}; Buschiazzo, A.^{2,3}; Riet-Correa,

F¹, Hamond, C; Gastal, G.D.A.¹

1- Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, La Estanzuela, Uruguay;

2- Laboratorio de Microbiología Molecular y Estructural, Instituto Pasteur de Montevideo, Uruguay;

3- Unidad Mixta, Instituto Pasteur de Montevideo y INIA, Montevideo, Uruguay. E-mail: ggastal@inia.org.uy

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar las características del cuerpo lúteo y placentomas durante los primeros 240 días de gestación en vaquillonas naturalmente infectadas, previo al servicio reproductivo, por especies de *Leptospira borgpeterseniie interrogans*. Del total de 60 vaquillonas Holstein (16 infectadas y 44 no infectadas), 51 resultaron preñadas (13 infectadas y 38 no infectadas) y fueron evaluadas por ecografía modo B y color Doppler a los 30, 60, 120, 180 y 240 días de gestación. El diámetro y flujo sanguíneo del cuerpo lúteo y placentomas fueron similares ($P > 0.05$) entre infectadas y no infectadas. Por lo tanto, cuando analizados los placentomas de todas las vaquillonas en conjunto, observamos una correlación positiva ($r = 0.783$, $P < 0.001$) entre el flujo sanguíneo y el diámetro; lo que puede permitir detectar cambios en la funcionalidad de la estructura. Los resultados preliminares de este estudio demuestran que la infección natural por *L. borgpetersenii* e *interrogans*, previo al servicio, no causaron alteraciones en las estructuras ováricas y placentarias durante los primeros 240 días de gestación.

SUMMARY

The goal of this study was to evaluate the characteristics of the corpus luteum and placentomes during the first 240 days of gestation in heifers naturally infected prior to the reproductive service by species of *Leptospira borgpetersenii* and *interrogans*. Out of 60 Holstein heifers (16 infected and 44 noninfected), 51 became pregnant (13 infected and 38 noninfec-

ted) and were evaluated by mode B ultrasound and Doppler color at 30, 60, 120, 180 and 240 days gestation. The diameter and blood flow of the corpus luteum and placentomes were similar ($P > 0.05$) between infected and noninfected. Therefore, when we analyzed the placentomas of all heifers together, we observed a positive correlation ($r = 0.783$, $P < 0.001$) between blood flow and diameter; which may allow to detect changes in the functionality of the structure. The preliminary results of this study have shown that the natural infection by *L. borgpetersenii* and *interrogans* prior to the service did not cause alterations in the ovarian and placental structures during the first 240 days of gestation.

INTRODUCCIÓN

La Leptospirosis es una enfermedad zoonótica, distribuida a nivel mundial, causada por bacterias del género *Leptospira* (Bourhy et al., 2014; Levett, 2015; Picardeau, 2017; Puche et al., 2018). En bovinos, la leptospirosis tiene impacto negativo en la reproducción, provocando abortos, partos prematuros, nacimiento de terneros débiles e infertilidad a través de muertes embrionarias tempranas y repetición de estros (Ellis, 2015). La leptospirosis genital bovina podría ser considerada como un síndrome específico disociado de la enfermedad renal y sistémica; varios estudios reportados en una revisión reciente (Loureiro and Lilenbaum, 2020) mencionan que *Leptospiras del sv. Hardjo* presenta tropismo por el tracto genital bovino; pudiendo causar micro inflamaciones en las células uterinas, afectando el ambiente uterino, la concepción y el desarrollo embrionario.

Se sabe que el rol de la placenta y el cuerpo lúteo son esenciales para mantener la gestación (Bartolomé, 2009; Adeyinka 2013). Dichas estructuras podrían verse afectadas ante la presencia de *Leptospiras* patogénicas (ej. serogrupos Pomona y Sejroe; Fávero et al., 2017), capaz de generar luteólisis prematura y placentitis por la invasión de dichos microorganismos en la unidad fetoplacentaria (Campero, 2017). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el tamaño y flujo sanguíneo del CL y placentomas durante los primeros 240 días de gestación en vaquillonas naturalmente infectadas por *Leptospira borgpetersenii* y *L. interrogans*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Vaquillonas Holstein (n = 60) fueron utilizadas para identificar animales infectados por *Leptospira spp* mediante qPCR del gen lipL32 en orina a los 14 meses de edad (antes del servicio reproductivo) de un predio previamente diagnosticado con animales seropositivos. Fueron diagnosticadas 16 positivas, identificando la infección por las especies de *L. borgpetersenii* (n= 13 vaquillonas) y *L. interrogans* (n=3 vaquillonas) mediante genotipificación directa utilizando rrs y secY en muestras de orina. El establecimiento presentaba protocolo de control y prevención de clostridiosis, cam-

pylobacteriosis, BVD, IBR y leptospirosis. Se realizó un protocolo de IATF en todas las vaquillonas con repaso realizado por IA con celo visto inseminadas por el mismo inseminador. Las evaluaciones ecográficas fueron realizadas vía trans rectal a los 30, 60, 120, 180 y 240 días de gestación por modo B y color Doppler utilizando un ecógrafo (Sonoscape S9V Bedford Hill, NY, EUA) conectado a una sonda lineal (5.0-10.0 MHz / 46 mm). Las configuraciones del ecógrafo para modo B y Doppler fueron mantenidas durante todo el experimento y realizadas por el mismo operador. Para los días de evaluación fue registrado la presencia del feto, tomando medidas del diámetro (mm) y flujo sanguíneo (%) del cuerpo lúteo y placentomas según metodología previamente descrita (Bollwein et al., 2016). Todos los análisis estadísticos fueron realizados en el software Statistix® (V.9 Analytical Software, Florida, USA) utilizando ANOVA y Prueba exacta de Fisher.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La frecuencia de la enfermedad en la población evaluada fue de 27%, lo cual está de acuerdo con resultados anteriores en el Uruguay que muestran una prevalencia individual entre 25-50% (Repiso et al., 2005). Del total de las vaquillonas, 51 fueron diagnosticadas preñadas, 13 infectadas y 38 no infectadas. Los

Tabla 1. Promedio (± SEM) del diámetro y color doppler del cuerpo lúteo y placentoma en vaquillonas infectadas (INF) y no infectadas (NO INF) durante los primeros 240 días de gestación.

Parámetros	30 Días		60 Días		120 Días		180 Días		240Días	
	INF	NO INF	INF	NO INF	INF	NO INF	INF	NO INF	NO INF	INF
CL										
Diámetro	21.4±1	22.2±0.6	22.1±0.8	22.2±0.6	22.1±0.9	21.7±0.6	22.3±1.3	23.6±0.9	-	-
Doppler	76.5±5.1	68.4±3	75±4.5	76.3±2.9	80±5.0	73.8±3.0	58.3±6.6	70±4.8	-	-
Placentoma										
Diámetro	-	-	8.4±0.6 ^a	8.1±0.9 ^a	20.7±0.6 ^b	21.6±0.9 ^b	27.9±0.9 ^c	29.7±1.3 ^{cd}	33.7±0.6 ^{cd}	31.8±1.2 ^d
Doppler	-	-	26±2.9 ^a	35.1±4.3 ^a	54.6±2.9 ^b	56±4.7 ^b	67.9±4.7 ^{bc}	72.2±6.4 ^{bc}	74.2±3.1 ^{bc}	72.1±5.9 ^c

a,b,c,dValores con diferentes letras difieren (P<0.05) entre días en la misma línea.

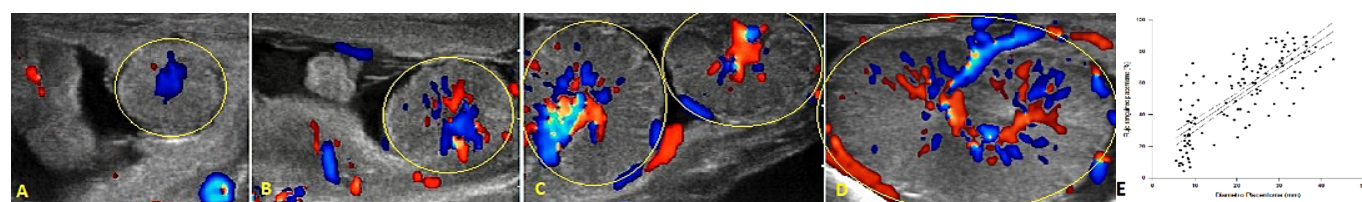


Figura 1: Ilustración de los placentomas (estructuras internas en los círculos) a los días 60 (A), 120 (B), 180 (C) y 240 (D) de gestación; medidas del diámetro (líneas punteadas) y flujo sanguíneo (puntos coloridos internos) evaluados en las vacas a través de ecografía Doppler color. (E) Relación positiva entre el flujo sanguíneo (%) y el diámetro (mm) de los placentomas; La regresión lineal está representada por las tres líneas con su ecuación [(Doppler = 15.281 + (1.805 * Diámetro Placentoma); r = 0.783, R2 = 0.612; P < 0.001].

animales no presentaron sintomatología clínica de la enfermedad durante el período evaluado. Los datos de diámetro y flujo sanguíneo del CL y placentomas en las infectadas y no infectadas, durante los 240 días de gestación evaluados, están presentados en la Tabla 1. El diámetro y flujo sanguíneo del cuerpo lúteo fueron similares ($P > 0.05$) entre los grupos y entre los días de gestación. Sin embargo, el diámetro y flujo sanguíneo de los placentomas aumentaron ($P < 0.001$) entre los días evaluados. A pesar de que nuestros resultados están de acuerdo con descripciones previas sobre las características anatómicas de las estructuras ováricas y uterinas en bovinos (Ginther, 2007; Bollwein et al., 2016), no hay trabajos que demuestran el efecto de la infección de la *Leptospira spp.* sobre las mismas. Además, detectamos que seis animales no infectados al momento de la inseminación abortaron entre los días 60 y de 120 gestación. Observamos que los placentomas de las 6 vaquillonas que abortaron presentaron un menor diámetro y flujo sanguíneo comparado con las vaquillonas que se mantuvieron preñadas; aunque es necesario mayor número de animales abortados para una evaluación estadística comparativa. En la literatura no encontramos información acerca de la relación entre el tamaño e irrigación sanguínea del placentoma, así como efectos que pueden alterar esta relación con su desarrollo normal. Sin embargo, observamos una correlación positiva ($r = 0.783$, $P < 0.001$) entre el flujo sanguíneo y el diámetro de todos los placentomas evaluados (Figura 1); lo que puede estar relacionado con la funcionalidad y viabilidad de la estructura. Por lo tanto, los resultados parciales del presente estudio demuestran que la infección natural, previo al servicio reproductivo, por *L. borgpetersenii* e *interrogans* no causaron alteraciones en el CL y placentomas hasta el día 240 de gestación.

BIBLIOGRAFÍA

- Adeyinka, FD., Laven, R., Lawrence, KE., et al. (2013). New Zealand Vet J. 62. 10.
- Bartolomé, JA. (2009). Taurus, Bs. As 11, 20–28.
- Bollwein, H., Heppelmann, M., & Lüttgenau, J. (2016). VetClinNorth Am Food AniPract 32:149–164.
- Bourhy, P., Collet, L., Brisse, S., Picardeau, M., (2014). IntJSystEvoMicrobiol.64:4061–4067.
- Campero, C., Cantón, G., Moore, D. (2017). Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina, 29–47.
- Ellis, W. A. (2015). Animal leptospirosis. pp.99–137. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Fávero, JF., de Araújo, HL., Lilenbaum, W., et al. (2017). Microbial Pathogenesis 107:149–154.
- Ginther, OJ. (2007). Book 4, OJ Ginther, VMD, PhD, Equiservices Publishing, 2007, 258 pp.
- Levett, P.N., 2015. Systematics of Leptospiraceae. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-45059-8>
- Loureiro, A.P., Lilenbaum, W., 2020. Theriogenology 141, 41–47.
- Picardeau, M., 2017. Virulence of the zoonotic agent of. Nat Rev Microbiol 15, 297–307.
- Puche, R., Ferrés, I., Caraballo, L., et al. (2018). IntJ Syst EvoMicrobiol68:513–517.
- Repiso, MV., Gil, A., Fernandez, L., et al. (2005).FPTA 13.