



de carne y leche. Es factible que las condiciones extensivas de explotación lechera de Argentina en contraposición con el sistema intensivo de feedlot que se utiliza en California, haya incidido en la frecuencia de su aislamiento de fetos en el presente trabajo. *C. jejuni* posee una considerable diversidad ecológica y puede ser aislado de diferentes fuentes.

Otras técnicas como la inmunofluorescencia o el cultivo del contenido abomasal, del pulmón o fluidos fetales son utilizadas frecuentemente en el diagnóstico del aborto. Cuando las mismas no son factibles de realizar, ya sea por tratarse de material contaminado, razones de costo o infraestructura de laboratorio, el empleo de la técnica IHQ realizada en el presente trabajo puede resultar una herramienta adecuada en el diagnóstico del aborto bovino y ovino a partir de tejidos fetales formolados.

#### SUMMARY

An immunostaining was performed on a total of 25 fetal (2 ovine and 23 bovine) aborted cases where *Campylobacter* spp. were bacteriologically isolated. A system based on avidin-biotin complex and a primary rabbit antiserum against *C. fetus* subsp *venerealis* and *C. fetus* subsp *fetus*. Positive immunostaining were seen in all 12 fetuses aborted due to *C. fetus* subsp *venerealis*, 2 ovine fetuses due to *C. fetus* subsp *fetus* and 1 of 4 bovine fetuses were *Campylobacter* spp. All *C. jejuni* fetal tissues were negative. Immunostain organisms in positive cases were identified mainly in the lung, gastrointestinal tract, brain and placenta. The immunohistochemistry test can help as a practical tool for the diagnosis of bovine and ovine campylobacter abortion due to *C. fetus* on histological formalin fixed specimens.

#### REFERENCIAS

**Alterkruse, SF; Swerdlow, DL; Stern, NJ.** 1998. *Campylobacter jejuni*. *Vet. Clin. North Amer: Food Anim. Pract.* 14: 31-40.

**Anderson, ML; Blanchard, PC; Barr, BC; Hoffman, RL.** 1990. A survey of causes of bovine abortion occurring in the San Joaquin Valley, California. *J. Vet. Diagn. Investig.* 2: 283-287.

**Campero, CM; Ballabene, N; Cipolla, AL; Zamora, AS.** 1987. Dual infection in bulls with campylobacteriosis and trichomoniasis: treatment with dimetridazole chlorhydrate. *Aust. Vet. J.* 64: 320-321.

**Campero, CM; Odriozola, E; Odeon, AC; Casaro, AP.** 1994. The causes of abortion and death occurring in calves during their first week of life in the south east of Buenos Aires Province, Argentina. VII International Symposium of Veterinary Laboratory Diagnosticians. Proceedings, Buenos Aires, 8-11 Nov. p. 104

**Campero, CM; Odriozola, E; Cipolla, A; Odeon, A; Moreira, A; Bretschneider, G; Odriozola, H.** 1996. Causas de abortos y pérdidas neonatales en bovinos del sudeste de la Provincia de Buenos Aires. XV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, Campo Grande, Brasil, 21-25 Octubre. Abstract PN9 486, 242.

**García, MM; Eaglesome, MD; Rigby, C.** 1983. *Campylobacter* important in veterinary medicine. *Vet. Bull.* 53: 793-818.

**Hsu, SM; Raine, L; Fanger, H.** 1981. The use of avidin biotin peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J. Histochem. Cytochem.* 29: 577-580.  
**Jamaluddin, AA; Case, J; Hird, DW; Blanchard, PC; Peauroi, JR; Anderson, ML.** 1996. Dairy cattle abortion in California: evaluation of diagnostic laboratory data. *J. Vet. Diagn. Investig.* 8: 210-218.

**Martínez, A.** 1994. Situación actual de tricomoniasis, campylobacteriosis y brucelosis. Mesa redonda sobre aborto bovino. VII Congreso Argentino de Ciencias Veterinarias, Buenos Aires, Argentina, 8-11 de Noviembre. p. 68.

**Véron, M., Chatelain, R.,** 1973. Taxonomic study of the genus *Campylobacter* Sebald and Véron and designation of the neotype strain for the species *Campylobacter fetus* (Smith and Taylor) Sebald and Véron. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 23, 122-134.

#### CAMBIOS HISTOPATOLÓGICOS Y PRESENCIA DE AGREGADOS LINFOIDEOS EN GENITALES DE VAQUILLONAS INFECTADAS EXPERIMENTALMENTE CON TRICHOMONAS FOETUS

**Campero<sup>a</sup>, CM; BonDurant<sup>b</sup>, RH;  
Anderson<sup>c</sup>, ML; Van Hoosear<sup>b</sup>, K.**

#### RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue caracterizar los cambios patológicos y la presencia de agregados linfoides en el tracto genital de vaquillonas experimentalmente infectadas con *Trichomonas foetus*. Se infectaron 25 vaquillonas vírgenes A. Angus y Hereford por vía vaginal con la cepa D1. La infección se mantuvo du-

rante las 3 primeras semanas en todas las vaquillonas. Los animales se faenaron a intervalos de 3 semanas en las 3 a 12 semanas postinfección. Luego de faenadas se recolectó el tracto genital y las secreciones vaginales y uterinas se cultivaron para aislamiento de *T. foetus*. Se obtuvieron cultivos uterinos positivos en 4/6 faenadas a las 3 semanas, 6/6 a las 6 semanas, 4/6 a las 9 semanas y 3/7 a las 12 semanas. Se observó vaginitis moderada e inflamación de moderada a severa uterina y en el oviducto con infiltrado linfoplasmático o mononuclear submucoso. Los agregados linfoides

**a Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, (INTA), Patología Veterinaria, CC 276 (7620)  
Balcarce, Argentina**

**b Department of Population Health and Reproduction, School of Veterinary Medicine,  
University of California, Davis, USA**

**c California Veterinary Laboratory Diagnostic System, School of Veterinary Medicine,  
University of California, Davis, USA**



## XXVII Jornadas Uruguayas de Buiatría

se observaron en el tracto genital de 24/25 animales. La localización vaginal y uterina fueron los más frecuentes. Estos agregados linfocitos representan sitios de inducción inmunológica en el tracto reproductor.

### INTRODUCCION

Escasos trabajos se han realizado para dilucidar la patogénesis de *Trichomonas foetus* en la hembra y la respuesta inmune local en animales infectados desde las investigaciones originales de Parsonson et al. (1976). La participación del sistema mucosal inmune en el tracto genital de la hembra bovina en la inmunidad de *T. foetus*, resulta relevante. Como parte de una investigación tendiente a mejorar la información disponible sobre la patogénesis de la enfermedad en la hembra y la respuesta inmune local en animales infectados con *T. foetus* se realizó un trabajo, parte de cuya información se suministra en este reporte.

### MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron 25 vaquillonas A. Angus y Hereford vírgenes de 300kg de peso alojadas en el feedlot de la Universidad de Davis, California, USA. Los animales fueron asignados al azar en grupos homogéneos los cuales fueron desafiados con un cultivo de *T. foetus* cepa D1 por vía vaginal (BonDurant et al. 1993).

A las 3 semanas post infección (PI) y con un intervalo de 3 semanas, se faenaron 6 animales de cada grupo recolectándose los órganos genitales. Al momento de la faena se efectuó el cultivo para *T. foetus* de vagina y útero. La totalidad del tracto genital se formoló realizándose la histopatología por técnicas de rutina (Luna 1968). Se caracterizaron y cuantificaron los agregados linfocitos microscópicamente realizándose su recuento en las diferentes partes del tracto genital a bajo aumento (x4) mediante la lectura de cada corte.

### RESULTADOS

La totalidad de las vaquillonas se infectaron con la vía y cepa utilizadas. Al momento de la faena se obtuvieron aislamientos de *T. foetus* en todos los grupos de animales (Tabla 1).

Tabla 1: Cultivos de *T. foetus* en vagina y útero al momento de la faena

Faena post desafío	Nº de Anim.	Cultivos (+) a la faena	
		Vagina	Útero
3 semanas	6	6/6	4/6
6 semanas	6	2/6	6/6
9 semanas	6	4/6	4/6
12 semanas	7	2/7	3/7

En el presente trabajo, se encontraron cultivos positivos de *T. foetus* en el tracto genital de las 25 vaquillonas durante las primeras 3 semanas PI. Los cultivos uterinos de los animales faenados resultaron positivos en 4/6 a las 3 semanas, en 6/6 a las 6 semanas, en 4/6 a las 9 semanas y en 3/7 de las vaquillonas

faenadas a las 12 semanas.

En la Tabla 2 se detalla la presencia de los agregados linfocitos microscópicamente observados en los diferentes tejidos genitales.

Tabla 2: Agregados linfocitos en tejidos genitales de vaquillonas infectadas con *T. foetus* según semanas y localización

semanas	Localización genital / Nº Total			
	vagina	cérvix	útero	oviducto
3*	3/6	1/6	2/6	0/6
6	3/6	2/6	5/6	2/6
9	5/6	1/6	6/6	1/6
12	7/7	0/7	4/7	1/7

\* Una sola vaquillona no evidenció agregados linfocitos

A los 55 y 66 días post infección, 4 animales se liberaron de la infección por el desarrollo de la inmunidad natural. Las características microscópicas más relevantes fueron la presencia de vaginitis media y endometritis con infiltrado linfoplasmático y presencia de agregados linfocitos submucosos en diferentes partes del tracto genital.

La inflamación fue más severa a las 6 y 9 semanas que al inicio y al final del período en estudio, indicando que el mecanismo de autoinmunidad se desarrolla paralelamente con la mayor extensión de los cambios inflamatorios a todo nivel genital. Los principales hallazgos histopatológicos observados en la vagina fueron infiltrado medio difuso linfoplasmático con presencia de eosinófilos en algunos casos o bien infiltrado pleomórfico siendo más severa en los animales faenados a las 6 semanas post infección. También se observaron agregados linfocitos ubicados en la submucosa. En el cérvix se detectó una leve respuesta inflamatoria con escasa formación de respuesta linfocítica.

En el útero se destacaron lesiones inflamatorias de tipo medio a moderado con presencia de exudado submucoso linfoplasmático, presencia de eosinófilos y agregados linfocitos en la superficial y/o en las partes profundas de la lámina propia o periglandulares. Se observó fibrosis periglandular con cambios císticos en animales faenados a las 9 y 12 semanas. En el oviducto, la inflamación fue media con infiltrado linfoplasmático. Las lesiones a nivel de infundíbulo fueron significativas en algunos casos. Resulta de interés remarcar que si bien *T. foetus* estuvo presente en el lumen de las glándulas endometriales, no se observaron cambios epiteliales atribuibles a dichos organismos.

### DISCUSION

En el presente trabajo, la totalidad de las vaquillonas se infectaron sin inconvenientes indicando la correcta dosis, cepa y procedimientos utilizados. Al faenarse los animales en diferentes períodos, permitió que algunos permanecieran infectados al finalizar el ensayo (84 días PI) y 20/25 animales permanecían aún infectados al momento de su faena. Los cultivos del



material de animales necropsiados por Parsonson et al. (1976) resultaron positivos a *T. foetus* en el tracto genital de 15/20 siendo los animales negativos de 73 a 100 días post infección.

Es de suponer un rol importante en la presencia de los linfocitos T y el mecanismo de liberación de la infección. El aumento de agregados linfocitos se correlaciona con el aumento de anticuerpos circulantes y la población de células contenedoras de inmunoglobulinas (Campero et al., datos sin publicar) en el tracto genital junto a una mayor población de diferentes subtipos de linfocitos T permitiendo concluir que la inmunidad mediada por células juega un rol participativo importante en la inmunidad de la tricomoniasis bovina. En los agregados linfocitos se detectaron diferentes subtipos de linfocitos T y células reconocedoras de antígenos (MHC class II, CD3, CD4 y CD8, Campero et al. datos sin publicar). Los hallazgos histopatológicos en el presente trabajo son similares a los mencionados por otros autores (Parsonson et al. 1976; Campero et al. 1993). Básicamente, se observó una inflamación media a severa en sus períodos iniciales que luego pasa a moderada o leve en la medida que la infección es superada por el sistema inmune local y general. La inflamación del tipo linfoplasmática es relevante en todo el tracto con presencia de agregados linfocitos coincidiendo con lo mencionado por otros autores (Parsonson et al. 1976, Campero et al. 1993, Anderson et al. 1996, Corbeil et al. 1998).

Resulta de interés destacar que tan pronto como el animal se libera de la infección se observa una tendencia a decrecer la severidad de las lesiones pasando al tipo medio o no significativo en casi todo el tracto genital sugiriendo una reversibilidad del proceso inflamatorio. De todas formas, se consideran de importancia la fibrosis periglandular en el útero y las lesiones en oviducto e infundibulum que podrían explicar los casos de infertilidad observados en algunos animales que se recuperan de la infección. La presencia de *T. foetus* en el lumen glandular se observó en 5/25 (20%) de los animales sin lesiones secundarias en el epitelio glandular. Las escasas lesiones observadas en el cérvix probablemente se deban a la estructura histológica (mucus, epitelio columnar alto).

En el presente trabajo, los agregados linfocitos fueron observados en el tracto genital del 96% de las vaquillonas (24/25) como respuesta al estímulo antigénico que significó la infección artificial con *T. foetus*. El examen microscópico reveló la presencia de células asociadas con el sistema inmune siendo los agregados linfocitos y nódulos observados, sitios de inducción inmune. Similar hallazgo fue mencionado por otros autores sobre hembras experimentalmente y naturalmente infectadas con *T. foetus* (Campero et al. 1993, Anderson et al. 1996, Corbeil et al. 1998).

Los agregados linfocitos se agruparon con mayor frecuencia y número en el stratum compactum del útero. Dichas estructuras aparecieron también en cérvix, oviducto y en menor grado, en el infundibulum, denotando la extensión de la respuesta inmune en todo el tracto genital. Resulta de interés notar que en la vagina, los agregados linfocitos se observaron tempranamente y permanecieron por más tiempo que en otras localizaciones. Ello sugeriría una mayor persistencia

del organismo en dicha área, produciendo una mayor longevidad del estímulo antigénico. La presencia de linfocitos en el endometrio humano (intraepitelial, intersticial y agregados basales) sugiere un papel importante asociado al sistema mucosal como fue observado en otros tejidos con mucosas (Morris et al. 1985). Un rol relevante en la captación de antígenos y migración a los linfonódulos regionales con circulación de las células inmunocompetente y respuesta in situ en los tejidos ocurre normalmente frente al ingreso de un antígeno en el tracto genital. Un mecanismo similar ocurre en los bovinos.

#### SUMMARY

The purpose of this descriptive study was to characterize the pathological changes and the presence of lymphocytic aggregates within the genital tract of experimentally *Trichomonas foetus* infected heifers. Twenty-five virgin heifers A. Angus y Hereford were vaginally infected with a D1 isolate of *T. foetus*. Vaginal infection was sustained in 25/25 heifers for the first 3 weeks. Six or seven heifers were slaughtered at 3-week intervals from post infection weeks 3-12. After slaughter, the genital tract was dissected and secretions were cultured for *T. foetus*. Uterine positive culture were noted in 4/6 at week 3, 6/6 at week 6, 4/6 at week 9 and 3/7 at week 12. Mild to moderate vaginitis and moderate to severe inflammation in the uterine and oviduct with lymphoplasmacytic or mononuclear submucosa infiltrate were noted. Lymphoid aggregation was observed in all the genital location of 24/25 heifers. Vaginal and uterine lymphoid aggregates were more often seen. These lymphoid aggregates represent inductive sites in the reproductive tract.

#### REFERENCIAS

- Anderson, ML; BonDurant, RH; Corbeil, RR; Corbeil, LB. 1996. Immune and inflammatory responses to reproductive tract infection with *Trichomonas foetus* in immunized and control heifers. *J. Parasitol.* 82: 594-600.
- BonDurant RH, Corbeil RR and Corbeil LB. 1993. Immunization of virgin cows with surface antigen TF1.17 of *Trichomonas foetus*. *Infect. Immun.* 61: 1385-1394.
- Campero, CM; Patitucci, A; Medina, D. 1993. Tricomoniasis bovina: infección experimental y natural en hembras. *Vet. Arg.* 10: 662-670.
- Corbeil, LB; Anderson, ML; Corbeil, RR; Eddow, JM; BonDurant, RH. 1998. Female reproductive tract immunity in bovine trichomoniasis. *Am. J. Reprod. Immunol.* 39: 189-198.
- Luna, LG. 1968. Manual of histologic staining of the Armed Forces Institute of Pathology, 3rd ed., McGraw Hill Book Co., New York. pp. 120-121.
- Morris H; Edwards J; Tiltman A; Emms M. 1985. Endometrial lymphoid tissue: an immunohistological study. *J. Clin. Pathol.* 38: 644-652.
- Parsonson, IM, Clark, BL, Dufty, J. 1976. Early pathogenesis and pathology of *Trichomonas foetus* infection in virgin heifers. *J. Comp. Path.* 86: 59-66.