Detección molecular de *Neospora caninum* como causa de aborto bovino.

Maria Fatima Rodriguez V[1]., Soledad Patiño[1].,Rodrigo Mereles.[1]

[1] Centro de Diagnóstico Veterinario del Paraguay, Laboratorio de Biología Molecular. CEDIVEP. SRL. San Lorenzo, Paraguay.
m.rodriguez@cedivep.com.py

Introducción

La Neosporosis es una enfermedad parasitaria, ocasionada por el protozoario *Neospora caninum*. Los bovinos son hospedadores intermediarios de este parásito, los cuales se infectan al ingerir esporozoítos conteniendo oocistos eliminados por el hospedador definitivo que es el perro y también vía transplacentaria (1). El signo más común de esta enfermedad en bovinos es el aborto, que ocasiona pérdidas económicas en la producción ganadera (2).

Metodología

Ingresó al laboratorio Cedivep, una muestra de placenta de una vaca de la raza Brangus de 2 años, que había abortado, la muestra era proveniente del departamento de San Pedro, correspondiente al distrito de 25 de Diciembre. Solo se pudo obtener los restos de placenta, y el feto ya no fue encontrado. Para poder detectar la causa del aborto, se extrajo el ADN y ARN de la placenta, y luego se realizó una Nested PCR (nPCR) para la detección *Neospora caninum* a través de la amplificación del gen pNC-5 (3). Así como también la PCR de otros patógenos que pueden ocasionar abortos en bovinos (*Leptospira interrogans,* Herpesvirus bovino tipo 1, *Toxoplasma gondii, Neospora caninum,* Virus de la diarrea viral bovina). También se realizaron análisis complementarios como el cultivo bacteriológico e histopatología de la placenta.

Resultados

Se detectó ADN de *Neospra caninum* en la placenta (Fig. 1) y no se detectó ADN ni ARN de los demás patógenos estudiados. No se obtuvo crecimiento bacteriano y las lesiones histológicas correspondieron a un infiltrado de neutrófilos segmentados y degenerados, macrófagos, linfocitos y plasmocitos alrededor de los vasos sanguíneos. Además de células trofoblásticas con aspecto hipereosinofílico y núcleo ausente (necrosis) (Tabla 1). Los amplicones obtenidos luego de la nPCR fueron confirmados por secuenciación genómica a través del método de Sanger.

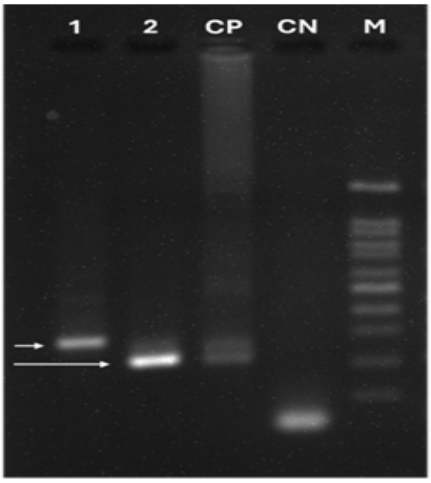
Tabla 1. Resultados obtenidos del estudio molecular, bacteriológico e histológico de la placenta.

Muestra	PCR Convencional					Análisis complementarios	
Placenta	*Leptospira interrogans* Gen LipL32	*Toxoplasma gondii* Gen ITS1	*Neospora caninum* Gen pNC-5	*HVB-1* Gen gB	VDVB Gen 5'UTR	Cultivo bacteriológico	Histopatología
Resultados	Negativo	Negativo	**POSITIVO**	Negativo	Negativo	No se obtuvo desarrollo bacteriano a las 72 hs.	Placentitis necrótica difusa moderada.

Conclusión

Se detectó por primera vez en Paraguay por métodos moleculares el patógeno *N. caninum* como causa de aborto en una placenta de bovino. la misma fue confirmada por secuenciación genómica y las lesiones histológicas fueron compatibles con el proceso patológico. Con este trabajo pudimos constatar que los restos placentarios son un material propicio para poder diagnosticar la causa de abortos en la especie bovina.

Fig. 1. Imagen del gel de agarosa de la nPCR de *N. caninum*



Carril 1: *N. caninum* (1st. Round), Carril 2: *N. caninum* (2nd. Round), CP: Control Positivo (2nd. Round), CN: Control negativo, M: Marker.

Bibliografía.

1. Benavides, J. et al. (2014) 'Experimental ruminant models for bovine neosporosis: What is known and what is needed', Parasitology, 141(11), pp. 1471–1488. doi:10.1017/s0031182014000638.

2. Dubey, J.P., Buxton, D. and Wouda, W. (2006) 'Pathogenesis of bovine neosporosis', *Journal of Comparative Pathology*, 134(4), pp. 267–289. doi:10.1016/j.jcpa.2005.11.004.

3. Baszler, T.V. et al. (1999) 'Detection by PCR ofneospora caninumin fetal tissues from spontaneous bovine abortions', Journal of Clinical Microbiology, 37(12), pp. 4059–4064. doi:10.1128/jcm.37.12.4059-4064.1999.