CINÉTICA DE LAS POBLACIONES LEUCOCITARIAS EN VACAS LECHERAS INFECTADAS EXPERIMENTALMENTE CON *NEOSPORA CANINUM*

Serrano-Pérez[1], B., Mur-Novales, R., López-Helguera, I., Darwich, L., Cabezón, O., Garcia-Ispierto, I., López-Gatius, F., Almería, S.
[1]Dpto. Producción Animal, Agrotecnio, Universidad de Lleida, Lleida, España.
bserrano@prodan.udl.cat

INTRODUCCIÓN

Neospora caninum es una parásito coccidio intracelular que causa aborto en ganado vacuno a nivel mundial (Dubey y Schares, 2011). En condiciones de campo, los animales naturalmente infectados abortan principalmente en el segundo trimestre de gestación (Almería y López-Gatius, 2013). En condiciones experimentales, se han observado diferencias en la respuesta frente al aborto dependiendo del momento de la infección (Regidor-Cerrillo et al., 2014; Almería et al., 2014). Las infecciones realizadas a principio del segundo trimestre (ej. días 70-90) suelen asociarse con la muerte fetal (Regidor-Cerrillo et al., 2014), mientras que en infecciones posteriores (ej. día 110), aunque generalmente no se produce aborto, se puede observar muerte fetal si el periodo de estudio tras la infección es de 6 semanas (Almería et al., 2010). El objetivo de este estudio fue evaluar la cinética semanal de las poblaciones leucocitarias en novillas gestantes experimentalmente infectadas el día 110 entre el momento de la infección y posterior sacrificio 6 semanas después.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el estudio se incluyeron 10 novillas frisonas sanas seronegativas a *N. caninum* y 3 novillas crónicamente infectadas frente al parásito. Todas las novillas fueron inseminadas artificialmente (IA). Los diagnósticos de gestación se realizaron los días 28-34 post IA mediante ecografía transrectal, y se confirmó la gestación a los días 90, 120, 150 mediante palpación rectal. La infección experimental se realizó en 6 animales sanos el día 110 de gestación con 10^7 taquizoitos de la cepa Nc-Spain7, altamente patógena. De cada animal se tomaron muestras de sangre de la vena coccígea en tubos con EDTA (5 ml) (BD Vacutainer®, Becton, Dickinson and Company, Plymouth, GB) semanalmente entre los días 110 y 150 de gestación. El recuento total y diferencial de leucocitos se determinó mediante un analizador automático de sangre (HemaVet® Sistema multi-especie de Hematología, Drew scientific, inc., Dallas, EEUU), estandardizado para el análisis de sangre bovina y expresado en número de células por microlitro (n x 10^3/µL). De cada animal se registraron la temperatura rectal y los recuentos de leucocitos totales, neutrófilos, linfocitos, monocitos y eosinófilos en el momento de la infección, y los días 7, 14, 21, 28, 35 y 42 post-infección (p.i), así como la incidencia de aborto. Los animales con una temperatura superior a 39,5 ºC se consideraron febriles. Los datos se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza GLM de medidas repetidas con el paquete SPSS v.17 (SPSS Inc., Chicago, IL, EEUU). En caso de que las varianzas no fueran iguales se realizó la prueba de comparación múltiple T2 de Tamhane. Los valores medios se expresaron como la media ± desviación estándar (SD).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La incidencia de aborto se registró en el 50% de los animales infectados experimentalmente. Dos novillas abortaron 2-3 semanas p.i., y se encontró el feto momificado en el momento del sacrificio en otro animal. De acuerdo a los análisis de medidas repetidas (GLM), la infección experimental por *N. caninum* afectó significativamente la temperatura rectal y los recuentos totales y diferenciales de leucocitos (Figuras 1 y 2). Las novillas infectadas experimentalmente presentaron un incremento de la temperatura los días 1-7 y 28-35 p.i. (P=0,05 y P=0,024, respectivamente; efecto intrasujetos) respecto a los animales sanos o crónicamente infectados (Figura 1). Las novillas experimentalmente infectadas presentaron una tendencia en el incremento de leucocitos los días 1-7 y 28-35 p.i (P=0,09 y P=0,072, respectivamente; efecto intrasujetos) (datos no mostrados), asociado al incremento significativo de neutrófilos los días 28-35 p.i (P=0,027, efecto intrasujetos) (Figura 2A). Los recuentos de monocitos fueron significativamente superiores (P=0,05, efecto intersujetos)

durante todo el periodo de estudio en las novillas infectadas experimentalmente comparadas con las novillas sanas (Figura 2B).
La mayoría de los animales presentaron los recuentos de leucocitos totales y diferenciales dentro de los rangos de referencia (Smith, 2014). Una novilla presentó leucocitosis (día 21) y neutrofília (días 14 y 21) en los días previos al aborto probablemente en un intento de control del parásito a nivel placentario. La cinética observada en los neutrófilos y los recuentos elevados de monocitos posiblemente esté asociada al reclutamiento de fagocitos hacia los focos de infección. En un estudio previo, recuentos superiores de monocitos fueron observados en vacas primíparas seropositivas frente a las seronegativas al final del segundo trimestre de gestación (Serrano et al., 2011). Los resultados de este estudio muestran como la infección experimental se asoció a una fuerte movilización de células fagocíticas en las semanas posteriores a la infección en un intento de control del parásito.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Almeria, S., Araujo, R., Tuo, W., Lopez-Gatius, F., Dubey, J.P. & Gasbarre, L.C. 2010. Vet. Parasitol. 169: 304–311. • Almería, S. & López-Gatius, F. 2013. Res. Vet. Sci. 95: 303-309. • Almería, S., Serrano-Pérez, B., Darwich, L., Araujo, R.N., López-Gatius, F., Dubey, J.P. & Gasbarre, L.C. 2014. Vet. Parasitol. 204: 146-152. • Dubey, J.P. & Echares, G. 2011. Vet Parasitol, 180: 90-108. • Regidor-Cerrillo, J., Arranz-Solís, D., Benavides, J., Gómez-Bautista, M., Castro-Hermida, J.A., Mezo, M., Pérez, V., Ortega-Mora, L.M., González-Warleta, M. 2014. Vet. Res. 45: 10. • Serrano, B., Almería, S., García-Ispierto, I., Yániz, J.L., Abdelfattah-Hassan, A. & López-Gatius, F. 2011. Res. Vet. Sci. 90: 457-462. • Smith, BP. Large Animal Internal Medicine. 5th ed. St. Louis, MO: Mosby, 2014: 381–385

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por los proyectos MICINN (AGL2012-39830-C02-01 y AGL2012-39830-C02-02). R. Mur-Novales disfruta de una beca FPI (BES-2013-063215).

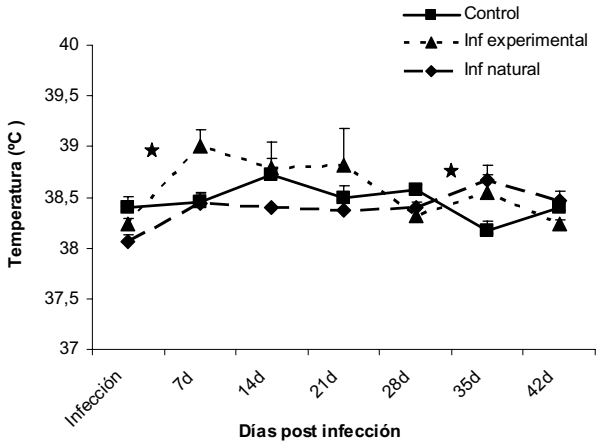


Figura 1. *Medias (±error estándar) de la temperatura registrada semanalmente entre el día 110 (infección experimental) y 150 de gestación (sacrificio) en vacas gestantes sanas (n=4), infectadas naturalmente (n=3) y experimentalmente (n=6) con Neospora caninum.*

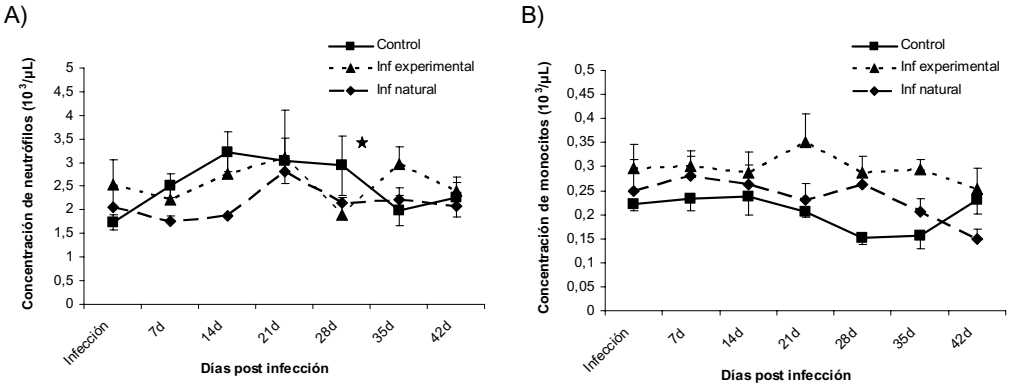


Figura 2. *Medias (±error estándar, x10^3/µL) de los recuentos de neutrófilos (A) y monocitos (B) medidos semanalmente entre el día 110 (infección experimental) y 150 de gestación en vacas gestantes sanas, infectadas naturalmente (n=3) y experimentalmente (n=6) con Neospora caninum.*

DYNAMICS PERIPHERAL WHITE BLOOD CELLS IN *NEOSPORA CANINUM* EXPERIMENTALLY INFECTED HEIFERS

ABSTRACT: The objective of this work was to study the kinetics of peripheral leukocyte concentrations in *Neospora caninum* uninfected (n=4), naturally infected (n=3) and experimentally infected (n=6) pregnant heifers. Experimental animals were infected at 110 days of gestation with 10^7 tachyzoites of the high pathogenic strain Nc-Spain 7 and were sampled for blood and temperature for 6 weeks after infection. Abortion was registered at some point along the infection period in 3 (50%) on the *Neospora*-experimentally infected heifers. General Linear Model (GLM) repeated measures analysis of variance showed that experimental infection significantly affected temperature, and neutrophil and monocyte counts. Increasing neutrophil counts were observed in experimentally infected heifers on days 28-35 post-infection and significant higher monocyte counts were observed throughout the study period compared to uninfected and naturally infected ones. Increased phagocytes in experimentally infected dams probably are associated to an attempt of the dam to control parasite infection.

Keywords*: Neospora caninum*, pregnancy, heifers, white blood cells.