

RESPUESTA HUMORAL IgG1 E IgG2 FRENTE NEOSPORA CANINUM EN GESTACIONES DE VACAS LECHERAS PURAS Y CRUZADAS

Almería, S.¹, Santolaria, P.², Martínez-Bello, D.³, Nogareda, C.⁴, Mezo, M.⁵, Gonzalez-Warleta, M.⁵, Castro-Hermida, JA.⁵, Yániz, JL.², López-Gatius, F.⁴

¹Centre de Recerca en Sanitat Animal (CReSA), UAB-IRTA, y Departament de Sanitat i Anatomia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona.

²Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos e Instituto de Ciencias Ambientales (IUCA), Universidad de Zaragoza, Huesca. ³UTE Bos-FEFRIGA, Bos-Guisamo-15640, Bergondo-A Coruña. ⁴Departamento de Producción Animal, Universidad de Lleida, Lleida. ⁵Centro de Investigación Agraria de Mabegondo (CIAM), La Coruña.

*E-mail: Sonia.Almeria@uab.cat

INTRODUCCIÓN

Neospora caninum es un parásito protozoo del tipo Apicomplexa de distribución mundial, considerado en la actualidad como una de las causas más importante de abortos y mortalidad neonatal en el ganado vacuno (Dubey et al., 2007). En el Noreste de España el riesgo de aborto en vacas seropositivas es de 12-19 veces mayor comparado con las vacas seronegativas en los mismos rebaños y el aborto se produce en el 30% al 44% de los animales seropositivos (López-Gatius et al., 2004a; López-Gatius et al., 2004b). El aborto puede tener lugar en vacas de cualquier edad, con la mayoría de los abortos produciéndose entre los 4-6 meses de gestación (Dubey et al., 2006).

Las causas del aborto no están totalmente aclaradas pero, entre otros factores, se encuentran el daño parasitario a nivel de la placenta y la respuesta inmune tanto de la madre como del feto (Dubey et al., 2006). Estudios previos han demostrado que la inseminación de vacas lecheras seropositivas con semen de vacuno de carne disminuye la tasa de aborto en dichas vacas (López-Gatius et al. 2005; Almería et al. 2009, Yániz et al. 2010), medida que además disminuye la prevalencia de infección en los rebaños. El presente estudio tuvo como objetivo analizar las posibles diferencias en las respuestas humorales a lo largo de la gestación en vacas puras y cruzadas frente *N. caninum* tanto en vacas que abortaron como en las que no, con la finalidad de encontrar una explicación a las diferencias encontradas en las tasas de aborto en estos animales.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en 4 rebaños (3 de leche y uno de carne). Los rebaños tenían casos confirmados de aborto asociado a *N. caninum*. En total se examinaron 98 vacas gestantes seropositivas a *N. caninum* antes del inicio del estudio, 14 vacas lecheras Frisonas puras (Grupo HF), 54 vacas lecheras inseminadas con Limusín (grupo HF-L) y 28 vacas de carne de la raza Rubia Gallega inseminadas con semen de la misma raza (grupo RG).

La gestación se diagnosticó mediante ecografía a los 40 días de gestación (dg) y por palpación rectal a los 90 dg, 120 dg, 150 dg, 180 dg y a los 210 dg. Se tomaron muestras de sangre en tubos con heparina inmediatamente antes de cada diagnóstico de gestación. Los anticuerpos totales y los isotipos se analizaron mediante el ELISA CIVTEST® anti-*Neospora* de la compañía Hipra mediante el cálculo del índice relativo de anticuerpos. Para el estudio de los isotipos se empleó conjugado de ovino anti-bovino marcado con peroxidasa de la empresa Serotec (Oxford, UK). Los valores IgG2/IgG1 se obtuvieron a partir de los respectivos índices relativos de IgG1 e IgG2 en cada animal.

Análisis estadístico: Los efectos del día de gestación y de la paridad en los títulos de anticuerpos frente *N. caninum* fueron analizados mediante análisis de varianza con modelos GLM de medidas repetidas del programa SPSS, tanto en vacas que abortaron como en las que no abortaron. En las vacas que abortaron, sólo se incluyeron en los análisis los tres últimos muestreos previos y/o al momento del aborto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 96 gestaciones examinadas, 12 animales abortaron (12,5% de los animales analizados). Ninguna de las vacas del grupo HF abortó, mientras que 6 (11,0%) de las 54 vacas inseminadas con Limusín (grupo HF-L) y 6 (21,4%) de las 28 inseminadas con Rubia Gallega (grupo RG) abortaron. En los 84 animales que no abortaron se observó un efecto significativo del día de gestación sobre el total de anticuerpos y de los isotipos IgG1 e IgG2 ($P < 0.0001$ para las tres variables), de acuerdo a lo observado en estudios previos (Almería et al., 2009). Los mayores niveles de los tres tipos de anticuerpos se observaron en las vacas RG a lo largo de toda la gestación, lo cual parece indicar que los animales de vacuno de carne puro presentan una respuesta humoral más marcada frente *N. caninum* comparados con las vacas de leche o cruzadas, lo cual puede ser indicativo de diferencias en la susceptibilidad a la parasitación entre las diversas razas.

También se observaron diferencias importantes en el patrón IgG2/IgG1, con el vacuno de carne mostrando predominantemente patrones IgG1 (ratios $< 1,0$) a lo largo de la gestación (Tabla 1), lo mismo que el vacuno lechero puro, mientras que los animales de gestaciones cruzadas mostraron predominantemente patrones IgG2 a lo largo de la gestación. Estos patrones pueden ser debidos a diferencias en la parasitemia que tiene lugar en los diferentes animales, ya que las fluctuaciones de anticuerpos a lo largo de la gestación varían según el momento en que se produce dicha parasitemia (Guy et al., 2001; Weston et al., 2005).

Las mayores diferencias se observaron en las vacas que abortaron, con las vacas del grupo RG mostrando niveles significativamente menores de IgG totales e IgG2 a lo largo de la gestación. No se observaron diferencias en los niveles de anticuerpos IgG1. Estos resultados indican un importante papel de los anticuerpos del isotipo IgG2 en la protección frente los abortos asociados a *N. caninum* en las vacas de carne seropositivas al parásito. Por otro lado, elevados niveles de IgG2 no fueron suficientes para proteger frente al aborto en las vacas cruzadas, en las que los niveles más elevados se dieron precisamente en los animales que abortaron. Por tanto, en las vacas cruzadas seropositivas a *N. caninum* son necesarios otros mecanismos inmunes, independiente de los niveles de IgG2, para la protección frente al aborto asociado a *N. caninum*.

En conclusión, estos resultados indican que la respuesta humoral frente *N. caninum*, e indirectamente la respuesta de tipo celular (Th2, asociada a los anticuerpos IgG1 y Th1, asociadas a los anticuerpos IgG2), son diferentes entre las vacas de carne, las vacas lecheras y entre las vacas lecheras cruzadas con vacuno de carne.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almería, S., López-Gatius, F., García-Ispierto, I., Nogareda, C., Bech-Sabat, G., Serrano, B., Santolaria, P., Yániz, J.L. 2009. Effect of different cross-breed pregnancies on the risk of abortion of Neospora-infected dairy cows. *Vet Parasitol.* 164: 323-329.
- Dubey, J.P., Buxton, D., Wouda, W. 2006. Pathogenesis of bovine neosporosis. *J. Comp. Path.* 134, 267-89
- Dubey, J.P., Schares, G., Ortega-Mora, L.M. 2007. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin. Microbiol. Rev.* 20: 323-367.
- Guy, C.S., Williams, D.J.L., Kelly, D.F., McGarry, J.W., Guy, F., Bjorkman, C., Smith, R.F., Trees, A.J., 2001. *Vet Rec.* 149: 443-449.
- Lopez-Gatius, F., Lopez-Bejar, M., Murugavel, K., Pabon, M., Ferrer, D., Almería, S., 2004a. Neospora-associated abortion episode over a 1-year period in a dairy herd in north-east Spain. *J. Vet. Med. B.* 51: 348-352.
- Lopez-Gatius, F., Pabon, M., Almería, S., 2004b. *Neospora caninum* infection does not affect early pregnancy in dairy cattle. *Theriogenology* 62: 606-613.
- López-Gatius, F., Santolaria, P., Yániz, J.L., Garbayo, J.M., Almería, S. 2005. Use of beef semen reduces the risk of abortion in Neospora-seropositive dairy cows. *J. Vet. Med. B* 52: 88-92.
- Yániz, J.L., López-Gatius, F., García-Ispierto, I., Bech-Sabat, G., Serrano, B., Nogareda, C., Sánchez-Nadal, J.A., Almería, S., Santolaria, P. 2010. Some factors affecting the abortion rate in dairy herds with high incidence of neospora-associated abortions are different in cows and heifers. *Reprod. Domestic Anim.* 45: 699-705.
- Weston JF, Williamson NB, Pomroy WE. *N Z Vet J.* 53: 142-148.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado gracias a los proyectos AGL2007-65521/GAN y AGL2010-21273/GAN.

Tabla 1. Media (\pm error estandar de la media) de los ratios IgG2/IgG1 a lo largo de la gestación en vacas abortadas y no abortadas por *N. caninum*

Grupos	Días						Patrón de IgG predominante
	40	90	120	150	180	210	
Vacas no abortadas							
HF	1,12	0,91	0,63	0,59	0,71	0,57	Ambos
N =14	$\pm 0,3$	$\pm 0,4$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,2$	$\pm 0,2$	
HxL	1,11	2,62	1,08	1,1	1,19	0,80	Ambos
N = 48	$\pm 0,2$	$\pm 1,0$	$\pm 0,1$	$\pm 0,2$	$\pm 0,4$	$\pm 0,1$	
RG	0,97	0,90	0,92	1,69	0,70	0,68	IgG2
N = 22	$\pm 0,2$	$\pm 0,1$	$\pm 0,2$	$\pm 0,9$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	
Vacas abortadas	Toma 2	Toma 1	Aborto				
HxL	1,69	1,74	2,06				IgG2
N= 6	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,6$				
RG	0,54	0,55	0,50				IgG1
N =6	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$				

HUMORAL IGG1 AND IGG2 RESPONSES AGAINST NEOSPORA CANINUM INFECTION IN PURE AND CROSSBREED GESTATIONS OF BEEF AND DAIRY CATTLE

ABSTRACT: The possible differences of *N. caninum*-specific total antibodies, IgG1 antibodies and IgG2 antibodies were analyzed in pure and crossbreed pregnancies of beef and dairy cattle throughout pregnancy. The population examined comprised 96 pregnant parous cows seropositive for *N. caninum*. Antibodies were analyzed on Days 90, 120, 150, 180 and 210 of gestation or until abortion. Of the 96 pregnancies examined, 12 ended in abortion. None of the 14 Holstein-Friesian (HF) cows inseminated with HF semen aborted, whereas 6 of the 54 HF cows inseminated with Limousin semen (HF-L) cows (11.0%) and 6 of the 28 Rubia Gallega (RG) beef cows inseminated with RG semen (21.4%) aborted. In the 84 non-aborting cows, a significant positive effect of the day of gestation was observed for the three variables. Significantly higher values of *N. caninum*- IgG total antibodies, IgG1 antibodies and IgG2 antibodies were registered for RG cows throughout gestation. In aborting cows, significantly lower *N. caninum*- IgG antibodies and IgG2 antibody levels were observed for RG-RG cows. The present study showed that the humoral mechanisms against *N. caninum* infection and abortion, and indirectly the cellular immune mechanisms, are different in pure and crossbreed gestations of beef and dairy cattle.

Keywords : Neospora caninum, IgG1, IgG2, dairy cattle, crossbreed gestations.