

Comunicación breve

Relationship between *Neospora caninum* and early pregnancy losses in dairy cow

Relación entre *Neospora caninum* y el aborto temprano en vacas lecheras

Quintero Rodríguez Luis E^{1,2}

¹Instituto en Reproducción Animal (INIRA), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP), La Plata, Argentina; ²Comisión Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), CABA, Argentina; 1900; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1333-1971> correo electrónico: luiseqrar@gmail.com, Tlf. +543143931109.

Introduction: The fertility of high-producing lactating dairy cows has decreased during the last decades. Pregnancy losses in dairy cows are an important aspect of infertility leading to poor economic performance. Late embryo losses (LEL) are assumed to be of multifactorial origin, being *N. caninum* infection one potential cause.

Objective: The objective was to evaluate the association of *N. caninum* infection with LEL in grazing dairy cows.

Material and Methods: A case-control study was carried out in a commercial dairy herd (32°49' S, 62°52' W, Argentina) where Holstein cows (n=92) were enrolled. Pregnancy was diagnosed by ultrasonography at 30-44 days post-insemination. Lack of heart beats, identification of membrane detachment, disorganization or echoic floating structures including embryo remnants were used as indicative of LEL (case). Cows with positive pregnancy diagnosis on the same date of each case were considered as control and the ratio of case-control was 1. For each case animal, the conceptus was sampled (day 0) with an insemination pistol attached to a 10 mL syringe and transported in an Eppendorf tube refrigerated at 4°C to the laboratory. Cows were bled on days 0 and 30 for serological studies. Blood samples were refrigerated at 4°C and transported to the laboratory within 24 h, centrifuged and sera were stored at -20°C until analysis. Sera were tested by indirect fluorescent antibody test (IFAT) for the detection of antibodies against *N. caninum* using a cut-off titer of 1:200 and processed to final titer. The DNA from conceptus from seropositive cows, was extracted using a commercial kit according manufacturer's recommendations. The DNA samples were analyzed by PCR with the specific primer pair Np 6+/Np21+ for *N. caninum*. Chi squared test was used to detect differences between group and P<0.05 was considered as significant.

Results: The proportion of seropositive cows to *N. caninum* was similar between Case and Control groups (21% [10/46] vs. 15% [7/46]; Chi²=0.574, DF=1; P=0.448). The proportion of cows showing seroconversion was 2.1% (1/46) for both groups (Chi²=1.376, DF=1; P=0.241). Finally, PCR analysis resulted negative for *N. caninum* DNA in all the conceptus from Case cows (n=12).

Conclusion: We conclude that *N. caninum* would not be associated with LEL in grazing dairy cows from Argentina.

Keywords: cow, early pregnancy losses, *N. caninum*.

Introducción: La fertilidad de las vacas lecheras de alta producción ha disminuido durante las últimas décadas. Las pérdidas de gestación en las vacas lecheras son un aspecto importante de la infertilidad que conduce a un rendimiento económico deficiente. Se supone que las pérdidas tardías de embriones (LEL) son de origen multifactorial, siendo la infección por *N. caninum* una posible causa.

Objetivo: El objetivo fue evaluar la asociación de la infección por *N. caninum* con LEL en vacas lecheras en pastoreo.

Material y Métodos: Se realizó un estudio de casos y controles en un hato lechero comercial (32 ° 49' S, 62 ° 52' W, Argentina) donde se incluyeron vacas Holstein (n = 92). La gestación se diagnosticó mediante ecografía entre 30 y 44 días post-inseminación. La falta de latidos cardíacos, la identificación de desprendimiento de membranas, la desorganización o las estructuras ecoicas flotantes, incluidos los remanentes embrionarios, se utilizaron como indicativos de LEL (caso). Las vacas con diagnóstico de gestación positivo en la misma fecha de cada caso se consideraron como control y la proporción de casos y controles fue 1. Para cada animal de caso, se muestreó el concepto o embrión (día 0) con una pistola de inseminación conectada a una jeringa de 10 ml y fue transportado al laboratorio en tubo Eppendorf refrigerado a 4° C. En los días 0 y 30 se tomaron muestras de sangre de estas vacas para realizar estudios serológicos. Las muestras de sangre se refrigeraron a 4° C y se transportaron al laboratorio dentro de las 24 h, se centrifugaron y los sueros se almacenaron a -20 ° C hasta su análisis. Los sueros se analizaron mediante una prueba de anticuerpos fluorescentes indirectos (IFAT) para la detección de anticuerpos contra *N. caninum* utilizando un título de corte de 1: 200 y se procesaron hasta el título final. El ADN del concepto de vacas seropositivas se extrajo utilizando un kit comercial de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Las muestras de ADN se analizaron mediante PCR con el par de cebadores específicos Np 6 + / Np21 + para *N. caninum*. Se utilizó la prueba de Chi-cuadrado para detectar diferencias entre el grupo y se consideró significativa una P <0,05.

Autor de correspondencia: Luis E. Quintero Rodríguez. Instituto en Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina. Correo: luiseqrar@gmail.com

Resultados: La proporción de vacas seropositivas a *N. caninum* fue similar entre los grupos de casos y controles (21% [10/46] vs. 15% [7/46]; $\text{Chi}^2 = 0.574$, $\text{DF} = 1$; $P = 0.448$). La proporción de vacas que mostraron seroconversión fue 2.1% (1/46) para ambos grupos ($\text{Chi}^2 = 1.376$, $\text{DF} = 1$; $P = 0.241$). Finalmente, el análisis de PCR resultó negativo para el ADN de *N. caninum* en todos los embriones de las vacas caso ($n = 12$).

Conclusión: Concluimos que *N. caninum* no está asociado con LEL en vacas lecheras en pastoreo de Argentina.

Palabras clave: vaca, aborto temprano, *N. caninum*.

Recibido: 10-04-2019

Aceptado: 09-05-2019

Publicado: 09-05-2019

Ciencia y Tecnología Agropecuaria es una revista publicada por la Universidad de Pamplona bajo la licencia: [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/) (CC BY-NC-SA 4.0)

