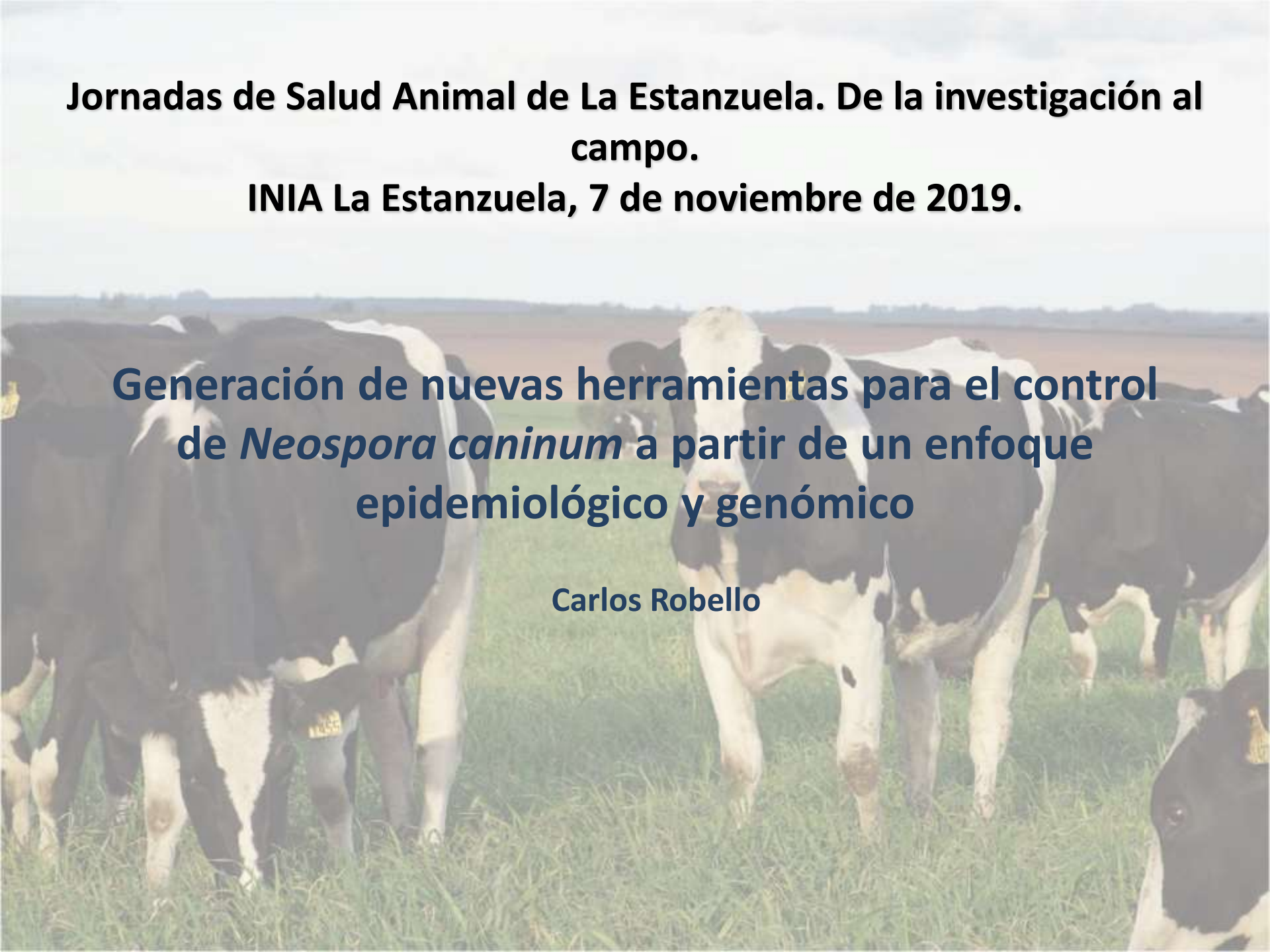


Jornadas de Salud Animal de La Estanzuela. De la investigación al campo.

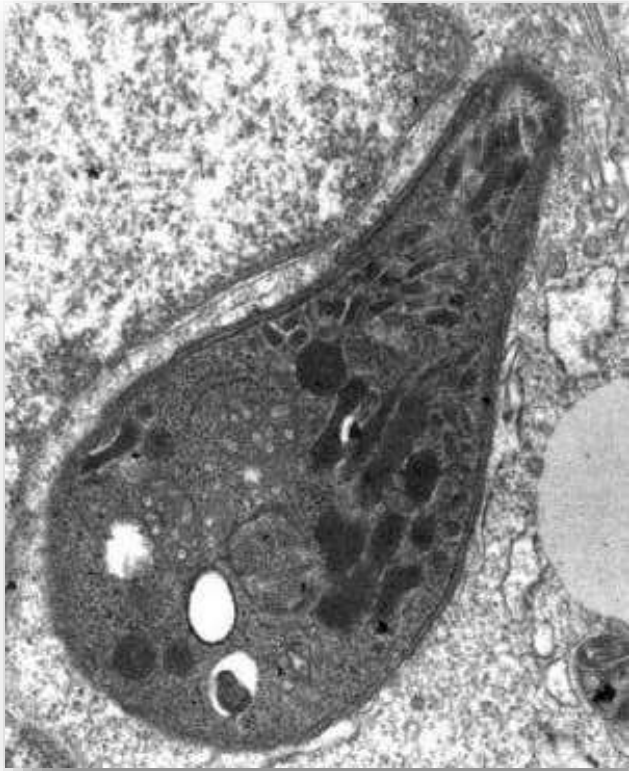
INIA La Estanzuela, 7 de noviembre de 2019.

Generación de nuevas herramientas para el control de *Neospora caninum* a partir de un enfoque epidemiológico y genómico

Carlos Robello

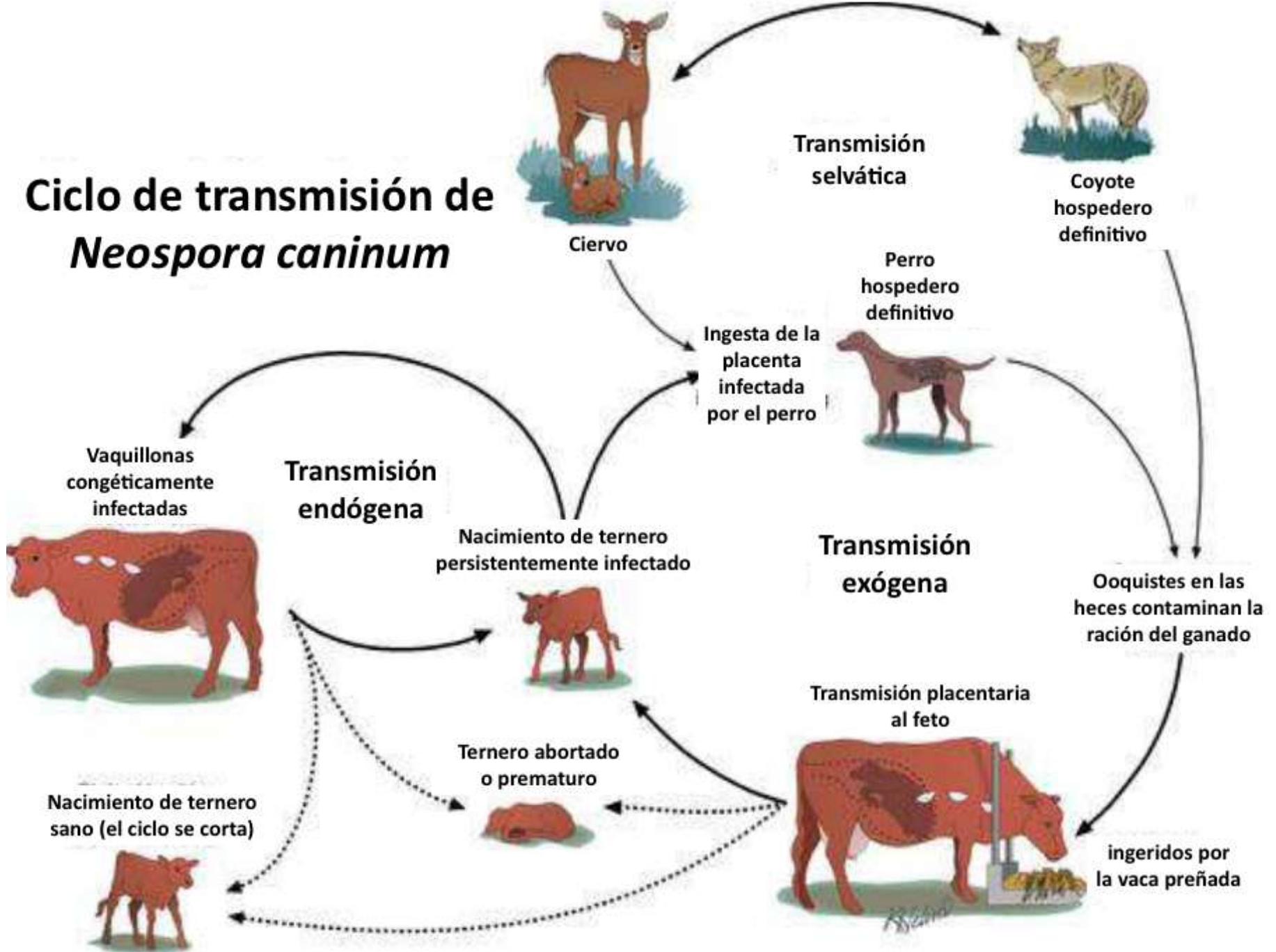


Neospora caninum

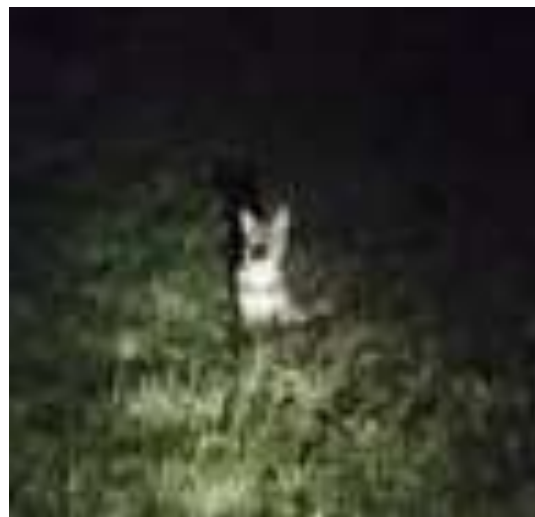


- Es un parásito que causa una enfermedad llamada **neosporosis**.
- El hospedero principal (definitivo) es el perro, que lo transmite al ganado bovino (consumo de alimentos o agua contaminada con ooquistes).
- La neosporosis es la **causa principal de abortos** en el ganado bovino en todo el mundo.
- También puede afectar a ovinos, caprinos y equinos.

Ciclo de transmisión de *Neospora caninum*



Generación de nuevas herramientas para el control de *Neospora caninum* a partir de un enfoque epidemiológico y genómico



Grupos participantes del Proyecto

- **INIA La Estanzuela**
- **Facultad de Veterinaria**
- **IIBCE**
- **Facultad de Medicina**
- **Institut Pasteur de Montevideo**
- **ATGen**

Antecedentes

Ganado de Carne (229 establecimientos – todos los departamentos excepto Montevideo)

- Seroprevalencia: 14%
- Presencia en 69% de los establecimientos

Bañales, 2006

Cuenca Lechera Sur (117 establecimientos -2001-2003-
Florida, San José y Colonia)

- Seroprevalencia: 22%
- Presencia en 92% de los establecimientos

Piaggio, 2006

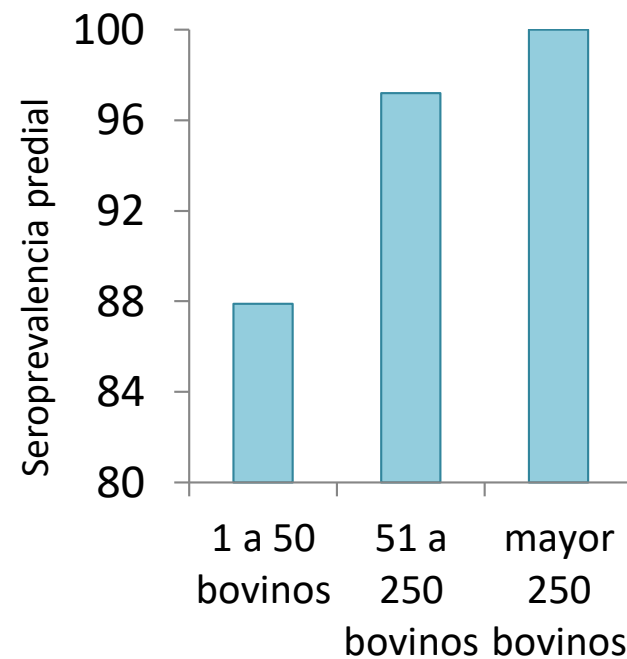
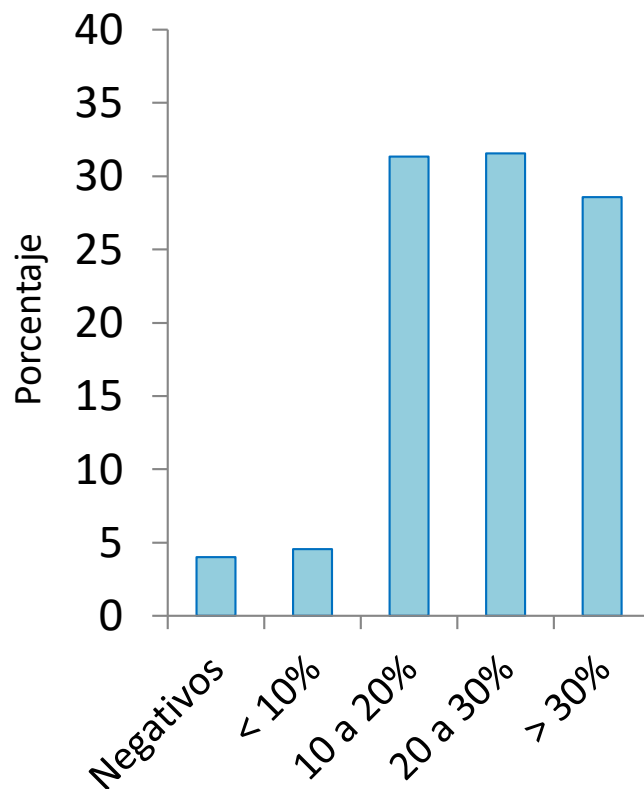
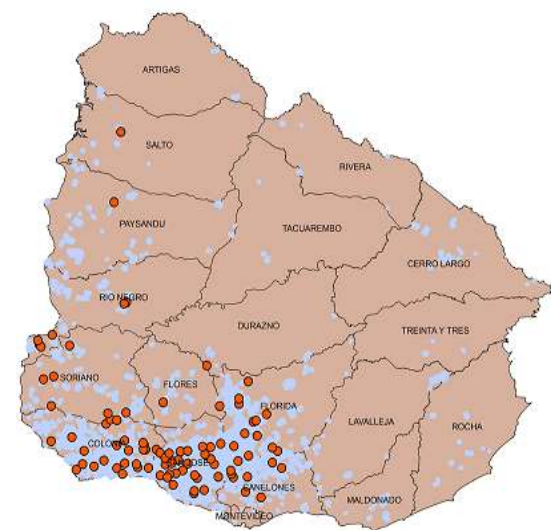
Objetivos de nuestro proyecto

Profundizar en la situación actual de la neosporosis en Uruguay para evaluar su impacto, las herramientas de diagnóstico, para optimizar el manejo reproductivo y la prevención

1. Estudios **epidemiológicos** de *N. caninum*
2. **Aislamiento y caracterización** de las cepas de *N. caninum* circulantes en Uruguay.
3. Caracterización **molecular**
4. Generación de herramientas para **diagnóstico** y **vacunas**
5. Determinar el rol de zorros y cánidos silvestres en el ciclo de vida de *N. caninum* en Uruguay

1- Estudios epidemiológicos

Valentina Macchi
José Piaggio
F. Veterinaria



Seroprevalencia individual **22,3 ± 1,8 %**

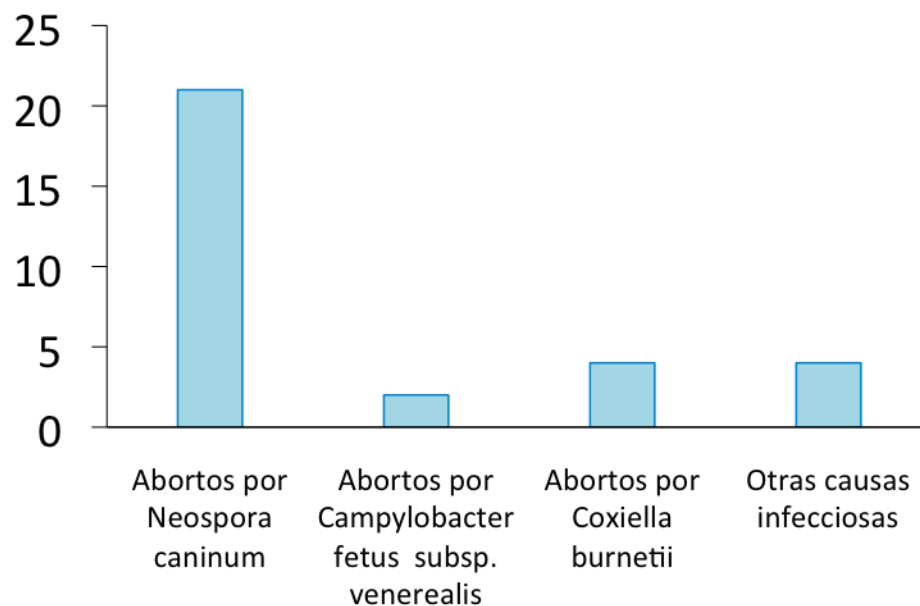
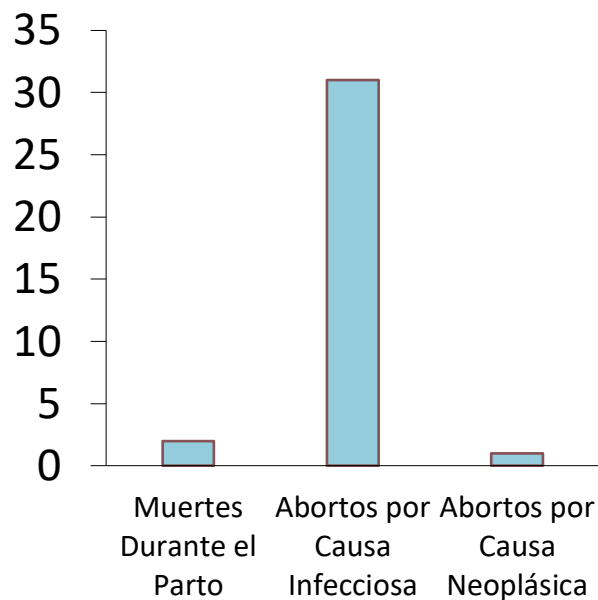
Seroprevalencia predial **96,0 ± 1,9 %**

1- Estudios epidemiológicos

Datos generados por el equipo de INIA-LE

La situación de neosporosis no ha variado sustancialmente desde los estudios pioneros.

Neosporosis es la principal causa de abortos por agentes infecciosos.



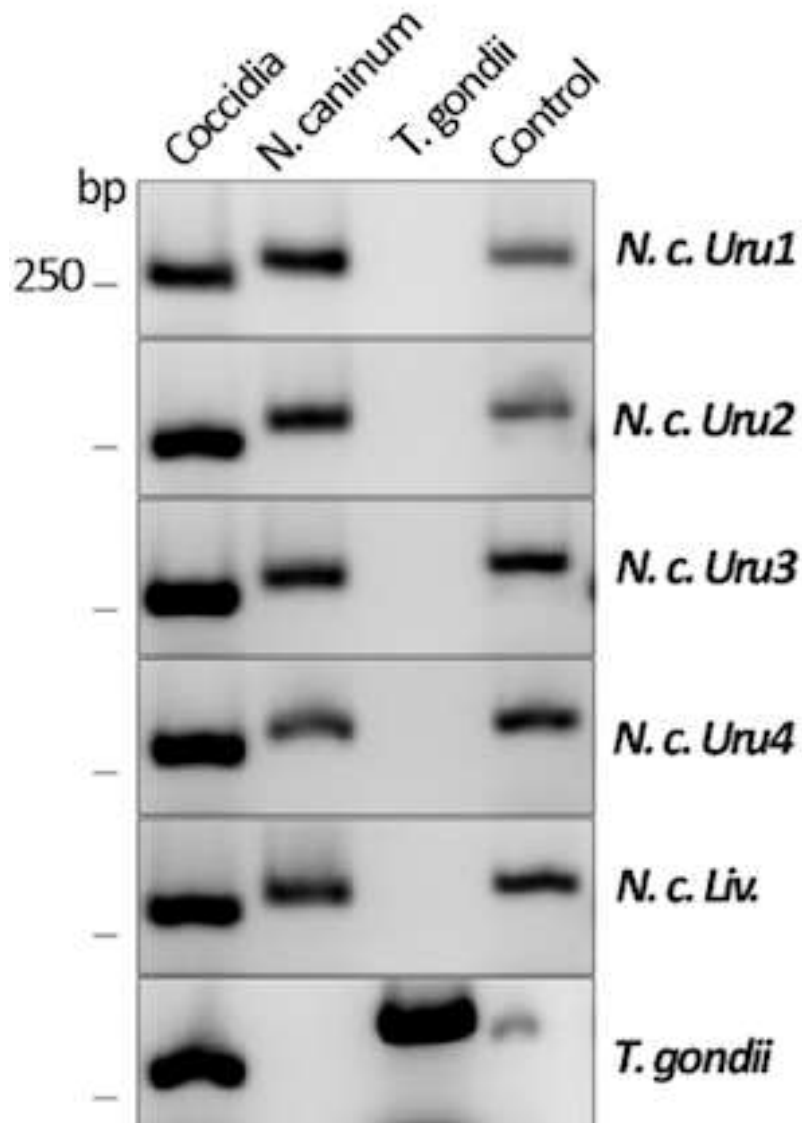
2- Aislamiento y caracterización

Establecimiento de condiciones y procedimientos para el aislamiento de cepas locales circulantes



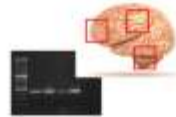
Nota: los resultados obtenidos utilizando distintos kits de ELISA son diferentes.
Necesidad de mejorar los métodos diagnósticos

2- Aislamiento y caracterización



Nota: La puesta a punto de un método diagnóstico para *Coccidia*, *Neospora caninum* y *Toxoplasma gondii*, permite su aplicación en futuros desarrollos que trascienden la neosporosis (*Cryptosporidium*, *Sarcocystis*, *Eimeria*, *Isospora*, *Hammondia*)

2- Aislamiento y caracterización



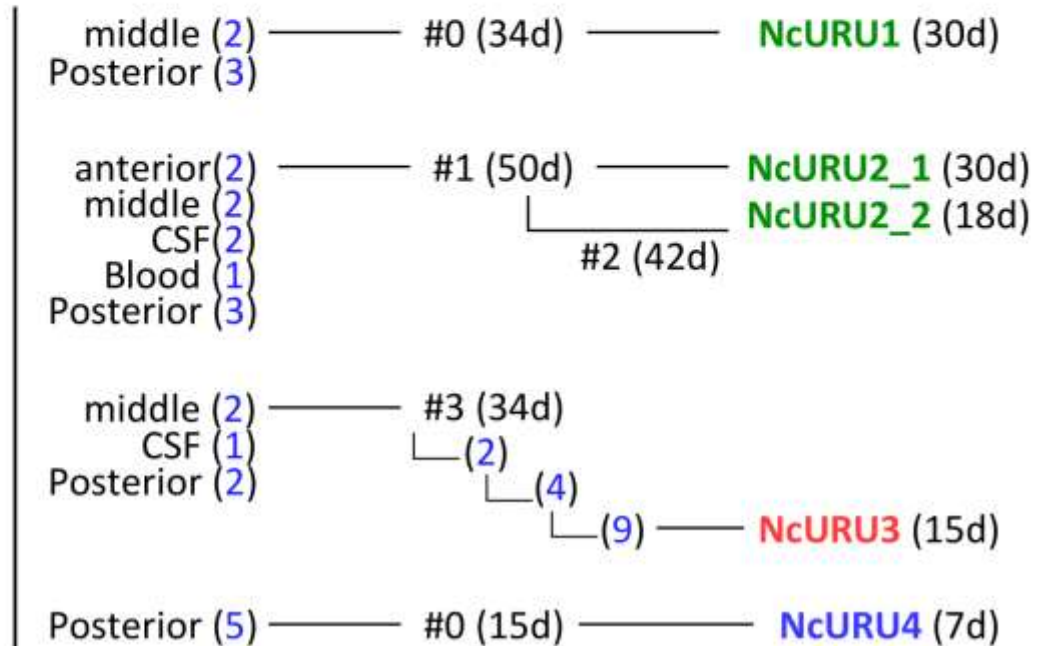
PCR positive
brain region inoculated
(number of
IFN γ KO mice)



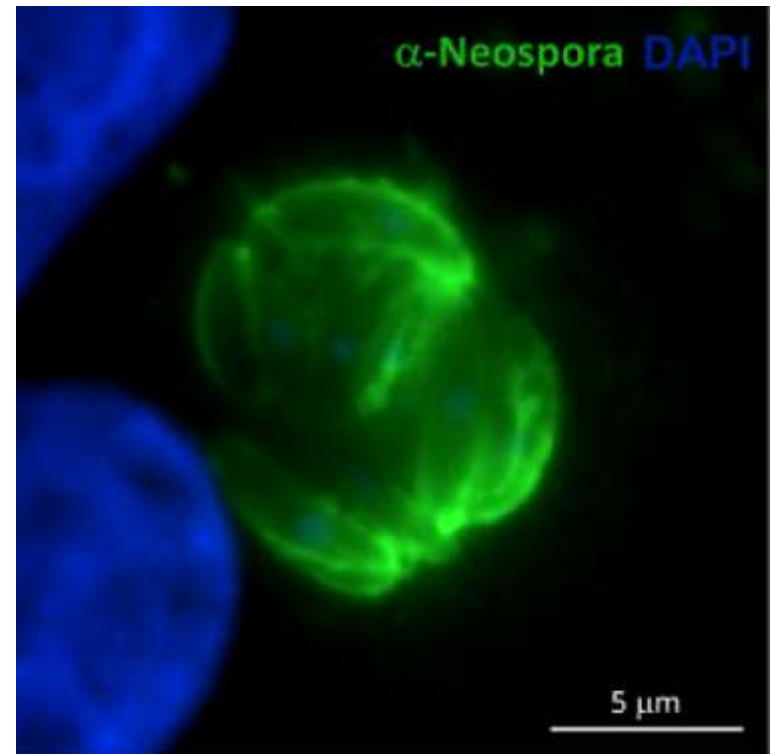
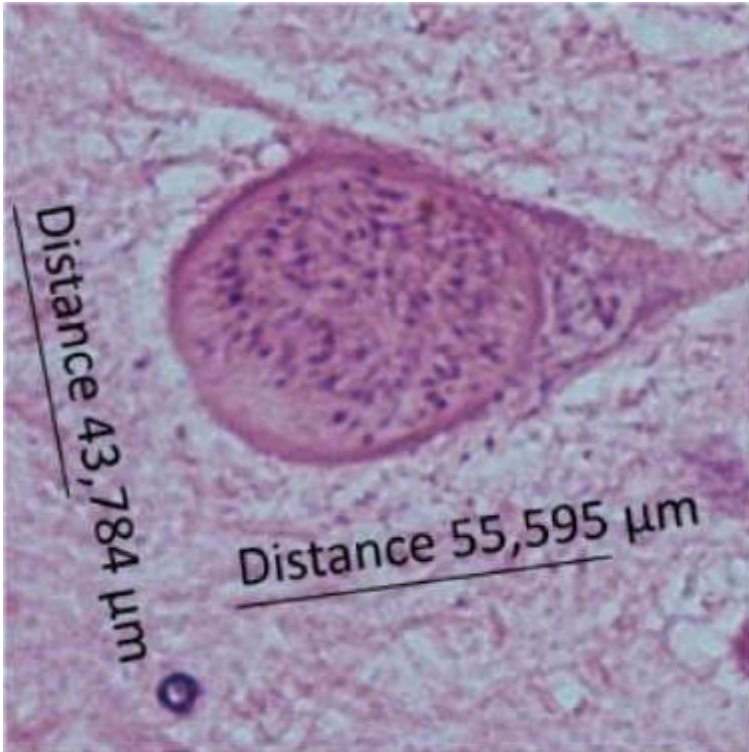
Mice with
Nc-compatible
Symptoms
(dpi)



Strain Isolation in
Tissue Culture
(dpi)

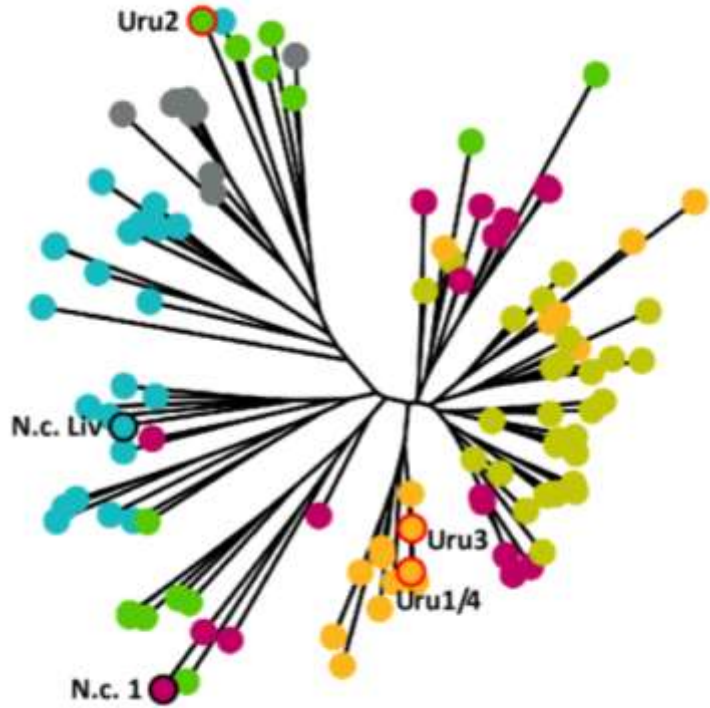


2- Aislamiento y caracterización



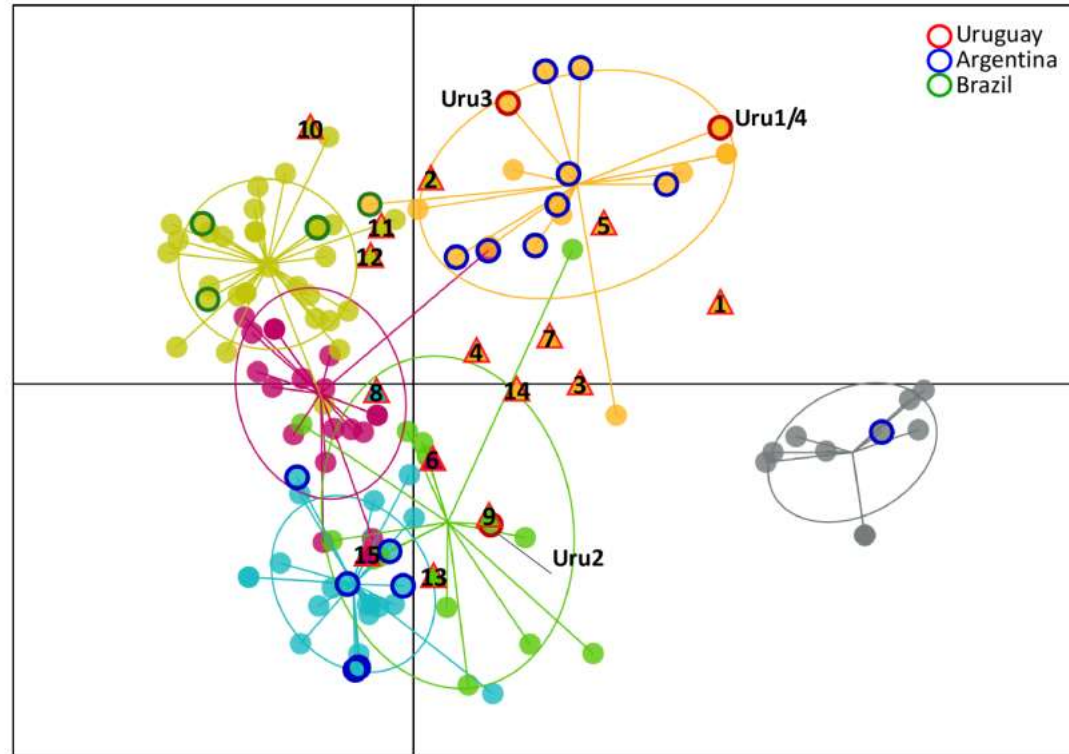
Nota: La puesta a punto de un método de IFI con nuestros aislados.

3- Aislamiento y caracterización



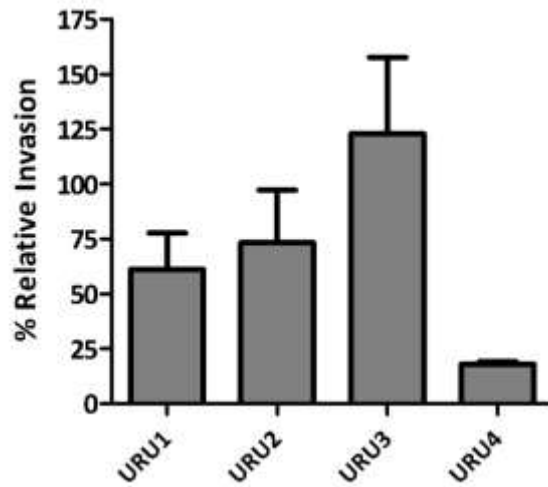
2- Los aislados de Uruguay **difieren** sustancialmente de los aislados de hemisferio norte, que son los que se usan en los **kits diagnósticos**

1- En el estudio identificamos una gran diversidad genética de neosporas que circulan en el país.

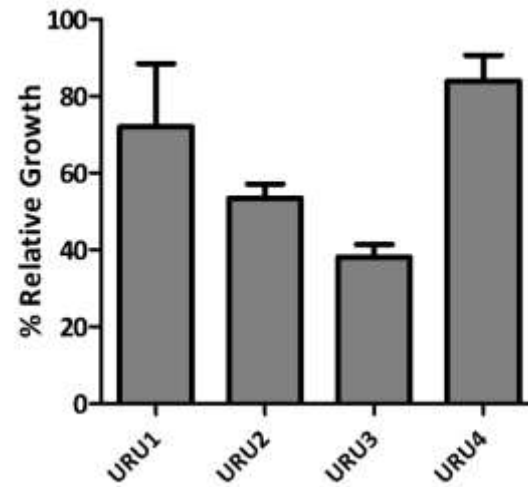


¿En qué se traduce esta variabilidad genética?

Eficiencia de invasión



Replicación Intracelular

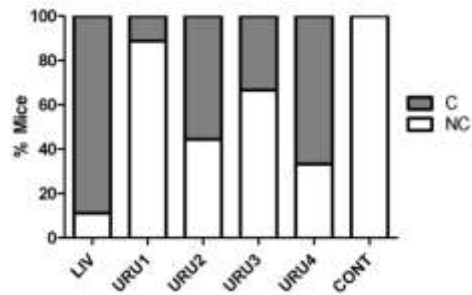


Comportamiento en cultivo celular

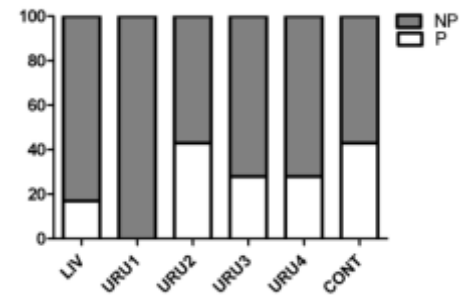


¿En qué se traduce esta variabilidad genética?

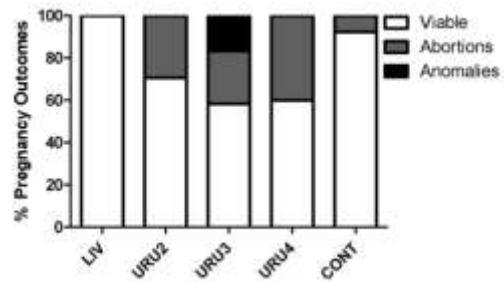
Cronicidad



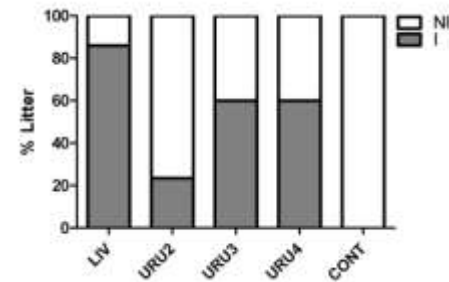
Impacto en la tasa preñez



Potencial abortogénico



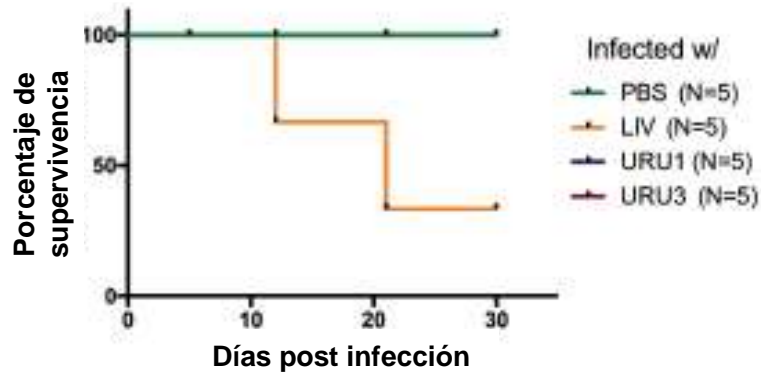
Transmisión vertical



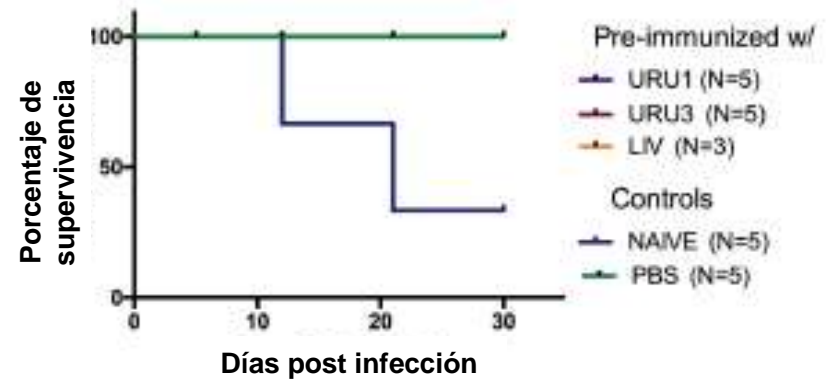
¿En qué se traduce esta variabilidad genética?



¿Nuestras cepas son virulentas?



¿Constituyen cepas vacunales?

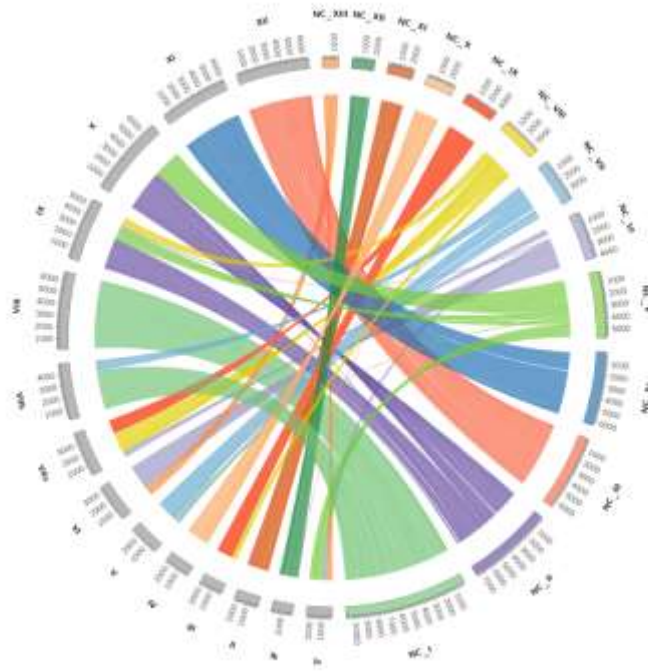


Nuestras cepas son de baja virulencia y son capaces de proteger ante la infección de una cepa virulenta

¿En qué se traduce esta variabilidad genética?

Secuenciamos el genoma y descubrimos:

a) que estaba mal “ensamblado”; b) que habían aproximadamente 400 genes “nuevos”



Lo más importante: Podemos modificar el genoma de nuestros aislados (CRISPR), y crear cepas aún más atenuadas

Los resultados obtenidos abren un nuevo horizonte para trasladar nuestros resultados del laboratorio al campo (Proyecto a presentar):

1- Generación de un método diagnóstico a partir de cepas locales y regionales.

- ELISA como método principal
- IFI y PCR para usos específicos

2- Generación de vacunas a partir de las cepas locales y regionales.

Tres estrategias en paralelo:

- Utilización de los aislados directamente (primera fase)
- Atenuar cepas por ingeniería genética/CRISPR (segunda fase)
- Seleccionar algunas proteínas para vacuna (tercera fase)

Necesidad de un bioterio de grandes animales

Agradecimientos



Andrés Cabrera
Ma. Eugenia Francia
Pablo Fressia
Luisa Berná
Pablo Márquez
Otto Pritsch
Martina Crispo
Paula Arévalo

Susana Gonzalez
Natalia Mannise

Valentina Macchi
Jose Piaggio

Melissa Macias
Caroline Silveira
Franklin Riet
Federico Giannitti
Plat. Salud Animal

Andrés Abín
Ximena Simón





MUCHAS GRACIAS !!