



### **Artículo N° 17 del Estatuto de la Academia**

La Academia no se solidariza con las ideas vertidas por sus miembros en los actos que sta realice salvo pronunciamiento expreso al respecto que cuente con el voto unanime de los acadmicos presentes en la sesin respectiva.

## **Presentación del Dr. Carlos O. Scoppa, Jornada sobre Neosporosis bovina. Balcarce 17-11-06**

**Señores Académicos  
Señores Profesionales  
Señoras y Señores**

Las enfermedades emergentes y reemergentes infecciosas constituyen un nuevo desafío para la seguridad alimentaria mundial. En su mayoría son de ocurrencia global, muestran resistencia a los antimicrobianos, incremento de su incidencia, expansiones dentro de áreas geográficas determinadas o cambio de hospedador o vector y un conjunto de factores antropogénicos asociados.

Según la OIE el 75% de esas enfermedades son zoonosis y para favorecer su aparición existe un amplio espectro de factores asociados como: la adaptación y los cambios microbianos, la susceptibilidad del hospedador a la infección, el clima y el tiempo, las variaciones en el uso de la tierra y el desarrollo económico, los cambios en los ecosistemas y la densidad de población, la aparición de nuevas tecnologías, la industria, el comercio, el turismo internacional, la falta de motivación política, e incluso la intención de daño o bioterrorismo. Así, aparentemente, la era de las zoonosis emergentes podría continuar y aun expandirse ya que los factores que las producen o favorecen, se incrementarían, pasando muy pronto de ser de carácter local a tener impacto global, creciendo en escala e importancia.

Es por estas circunstancias, que la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria, junto con el Grupo de Sanidad Animal de la EEA Balcarce del INTA, han creído importante y necesario realizar esta Jornada de Actualización sobre Neosporosis bovina. Es que esta enfermedad emergente, parasitaria, abortogénica, producida por el *Neospora caninus* y de reciente diagnóstico serológico en el país, pues data de 1995, detectada también en la provincia de Buenos Aires, ya ha alcanzado un alto grado de prevalencia a nivel mundial. De transmisión fundamentalmente vertical, madre a feto, aunque también extra placentaria o postnatal, parece estar causando gran daño a la economía pues estaría asociada a altas tasas de aborto en el ganado bovino. Esta afectación se daría tanto sobre bovinos lecheros como de carne, aunque en USA, N. Zelanda y Holanda los abortos parecerían ser mas frecuentes en vacas lecheras.

Según algunos autores las pérdidas económicas producidas por esta enfermedad serían de 5 millones de dólares en Suiza, 35 millones en USA y 85 millones en Australia.

Reportada por primera vez Noruega en 1984, más recientemente la infección fue también descripta en Alemania, Argentina, Bélgica, Canadá, Dinamarca, España, Hungría, Inglaterra, Italia, Japón, México, Suecia y Zimbabwe, lo que da una idea clara de su expansión.

Pero serán los distinguidos especialistas que tendrán a su cargo esta Jornada, quienes nos expondrán todo el conocimiento mas reciente y

enjundioso sobre esta enfermedad. A ellos la Academia les agradece su colaboración, la cual le posibilita cumplir con su mandato social y llegar al medio a través de sus Comisiones Académicas Regionales.

# Reunión de la Academia de Agronomía y Veterinaria y el Grupo de Sanidad Animal del INTA (Balcarce 2006) Actualización en Neosporosis Bovina

Dadin Prando Moore, MV, MSc, DMV - Investigador de CONICET  
pmoore@balcarce.inta.gov.ar

## Definición y Evolución Histórica

La neosporosis bovina es una enfermedad parasitaria que causa aborto y nacimiento de terneros con deficiencia neuromuscular producida por el protozoo *Neospora caninum*. Aunque *N. caninum* fue identificada por primera vez en Noruega en perros jóvenes padeciendo encefalomiелitis y miositis (Bjerkas *et al.* 1984) y seguidamente se aisló el agente en cultivo celular (Dubey *et al.*, 1988); el interés por este protozoo se acrecentó cuando Thilsted y Dubey (1989) identificaron por primera vez a *N. caninum* como agente etiológico de aborto en bovinos. En 1993 se consiguió el primer aislamiento procedente de un feto bovino abortado (Conrad *et al.*, 1993). Posteriormente, se logró la reproducción de la muerte fetal en vacas gestantes inoculadas experimentalmente (Barr *et al.*, 1994).

El descubrimiento del perro como el hospedador definitivo de *N. caninum* (McAllister *et al.*, 1998) puso de manifiesto la posibilidad de transmisión horizontal de la infección. Actualmente, esta enfermedad parasitaria es considerada una de las causas más frecuentes de fallo reproductivo en bovinos de las principales zonas productoras del mundo (Dubey 1999a, b, 2003).

## Etiología

### Taxonomía

*N. caninum* pertenece al *phylum* Apicomplexa, clase Sporozoea, subclase Coccidia, orden Eucoccidia, suborden Eimeriina, familia Sarcocystidae y género *Neospora* (Dubey, 1999a, b, 2003). En el Cuadro 1 se resumen las características morfológicas y biológicas.

La ubicación taxonómica de *N. caninum* es aún motivo de debate. Inicialmente se la relacionó con tres especies de importancia veterinaria y de salud pública: *Toxoplasma gondii*, *Hammondia hammondi* y *Hammondia heydomi*. Aunque el análisis de la secuencia de la subunidad menor del ARN ribosomal (nss-ARNr) demostró un elevado grado de homología entre *N. caninum* y *T. gondii* (Ellis *et al.*, 1994; Holmdahl *et al.*, 1994), otros autores mediante RAPD-PCR encontraron diferencias significativas entre el genoma de *Neospora*, *T. gondii* y *Sarcocystis* (Guo y Jonson, 1995). Aunque otros estudios concluyen que *N. caninum* estaría filogenéticamente más próximo a *H. heydomi* (Ellis *et al.*, 1999; Mugridge *et al.*, 1999; Mehlhorn y Heydorn, 2000; Heydorn y Mehlhorn, 2002a,b); se han demostrado diferencias no sólo biológicas, inmunológicas, y morfológicas sino también moleculares entre estos dos parásitos (Dubey *et al.*, 2002).

### **Aislamientos de *N. caninum***

El primer aislamiento de *N. caninum* tuvo origen en un canino (Dubey *et al.*, 1988). Posteriormente se obtuvieron otros aislamientos desde fetos bovinos, terneros congénitamente infectados, bovinos adultos, ovinos, caprinos, búfalos (Dubey 2003; Dubey *et al.*, 2006). En el Cuadro 2 se muestran algunos de los aislamientos de *N. caninum*.

### **Morfología y ultraestructura del parásito**

En el ciclo biológico se reconocen tres estadios diferentes: los taquizoítos, los bradizoítos contenidos en quistes tisulares y los esporozoítos encontrados en los esporocistos de los ooquistes. Los taquizoítos tienen un tamaño que oscila entre 3-7µm de longitud y 1-5µm de anchura y una morfología ovoide, globular o lunar, dependiendo de la etapa de división en la que se encuentren (Dubey *et al.*, 2002). Ultraestructuralmente, los taquizoítos poseen una película integrada por un plasmalema y una membrana interna, un complejo apical formado por: 22 microtúbulos subpeliculares, dos anillos apicales, un conoide y un anillo polar; organelas secretoras compuestas por: micronemas, 8-24 roptrias y gránulos densos; mitocondria, núcleo, nucleolo, aparato de Golgi, ribosomas, polisomas, gránulos de amilopectina, cuerpos lipídicos, vesículas, retículo endoplásmico liso y rugoso y un poro posterior (Speer y Dubey, 1989; Lindsay *et al.*, 1993).

Los bradizoítos son de aproximadamente 6-8µm de longitud por 1-1,8µm de ancho y contienen las mismas organelas que los taquizoítos, aunque en los bradizoítos el número de roptrias es menor y tienen más gránulos de amilopectina (Speer y Dubey, 1989; Jardine 1996). Los quistes, que pueden contener en su interior hasta 200 bradizoítos pueden medir 100µm de diámetro siendo de forma redondeada u oval. La pared quística (que puede alcanzar más de 4 µm de espesor) está formada por dos membranas, la externa, una única membrana electrodensa, y la interna de mayor grosor, granular y con estructuras tubulares (Bjerkas y Dubey, 1991).

Los esporozoítos tienen 6,5µm de longitud por 2,0µm de ancho y se encuentran en número de cuatro dentro de dos esporocistos contenidos en los ooquistes. Los ooquistes de *N. caninum* son morfológicamente similares a los de *T. gondii* y *H. heydomi*; tienen forma esférica o subesférica y su tamaño es de 11,7µm de longitud y 11,3µm de anchura. La pared del ooquiste es lisa, de 0,6-0,8µm de espesor y no contiene micropilo (Bjerkas y Dubey, 1991; Dubey *et al.*, 2002)

### **Composición proteica y antigénica**

Proteínas de 17 - 18 y 30 - 45 kDa han sido localizadas en la superficie del taquizoíto (Björkman *et al.*, 1994). Björkman y Hemphill (1998) caracterizaron antígenos inmunodominantes de 18, 30, 32 y 41 kDa. Schares *et al.* (1999) identificaron tres antígenos de superficie de 19, 28 y 40 kDa que concordarían con los anteriormente descritos. La proteína NcSRS2, de 43 kDa fue la primera proteína clonada de *N. caninum* (Hemphill *et al.*, 1996; Hemphill y Gottstein, 1996; Hemphill *et al.*, 1997b). Esta proteína de superficie se expresa de forma compartida tanto en taquizoítos como bradizoítos (Fuchs *et al.*, 1998) y está

considerada como uno de los antígenos inmunodominantes. A continuación, Hemphill *et al.* (1997a) caracterizaron la glicoproteína SAG1 de 36 kDa localizada tanto en la superficie del parásito como en el interior de los gránulos densos. Esta proteína se expresa únicamente en la fase de taquizoíto (Fuchs *et al.*, 1998). Bjerkas *et al.*, (1994) identificaron dos proteínas inmunodominantes de 29 y 30 kDa localizadas en los gránulos densos. Lally *et al.* (1996) clonaron dos proteínas de gránulos densos de taquizoítos (NcGRA6 y NcGRA7 de 37 y 33 kDa, respectivamente). La proteína NcGRA7 se expresa tanto en el taquizoíto como en el bradizoíto (Fuchs *et al.*, 1998). Otras proteínas de gránulos densos son las de 29 y 67 kDa, denominadas NcNTPasa-I (Asai *et al.*, 1998) y NcGRA2 (Ellis *et al.*, 2000). Considerada como inmunodominante, sólo se ha identificado una proteína de 17 kDa de las roptrias (Barta *et al.*, 1992). Asimismo, se han caracterizado tres proteínas de micronemas, NcMIC3, NcMIC2 y NcMIC1 de 38, 95 y 60 kDa, respectivamente (Lovett *et al.*, 2000; Sonda *et al.*, 2000; Keller *et al.*, 2002). NcMIC3 ha sido identificada como uno de los antígenos inmunodominantes de *N. caninum* (Sonda *et al.*, 2000). La única enzima clonada de *Neospora* es una serinproteasa de 65 kDa (Louie *et al.*, 1997, 2002) localizada en los micronemas del taquizoíto y denominada NcSUB1.

### Ciclo biológico

La presencia de *N. caninum* ha sido demostrada no sólo en especies domésticas como caninos, bovinos, caprinos, ovinos y equinos, sino también en especies silvestres: búfalos de agua, camélidos, rinocerontes, ciervos, antílopes, mapaches, liebres, coyotes, zorros dingos, felinos salvajes y roedores (Dubey 2003, Dubey *et al.*, 2006). El rol de cada una de estas especies hospedadoras en el ciclo biológico del parásito y su importancia en relación con la transmisión de la infección no es completamente conocida.

McAllister *et al.* (1998) demostró que el hospedador definitivo de *N. caninum* es el perro (*Canis familiaris*). Los ooquistes se eliminaban en las heces luego que los perros consumen cerebros de ratones infectados. Asimismo, se logró la transmisión cíclica de *N. caninum* entre perros y terneros (Gondim *et al.*, 2002). Recientemente, se demostró experimentalmente que el coyote americano (*Canis latrans*) se puede comportar como el perro, descubriéndose así un nuevo hospedador definitivo de *N. caninum* (Gondim *et al.*, 2004). Por otro lado, muchos otros aspectos de este ciclo como los estados enteroepiteliales del parásito antes de la formación del ooquiste, la excrección de ooquistes después de la ingestión de ooquistes esporulados o el papel de los carnívoros silvestres como hospedadores definitivos se desconocen.

Los bovinos se infectan por vía transplacentaria o por transmisión horizontal mediante la ingestión de comida o agua contaminada con ooquistes (Dubey, 2003). Los taquizoítos y quistes tisulares con bradizoítos, son las fases asexuales de *N. caninum* que se encuentran en el hospedador intermediario. Los taquizoítos son los responsables de la fase aguda, multiplicándose intracelularmente por endodiogenia (Dubey *et al.*, 2006). En la fase crónica, los taquizoítos se diferencian en bradizoítos formando los quistes tisulares, localizándose principalmente en el tejido nervioso aunque también se han descrito la presencia de quistes en tejido muscular (Dubey *et al.*, 2006, Peters *et al.*, 2001).

## Epidemiología

### Prevalencia y distribución geográfica

La neosporosis bovina ha sido informada en África, América, Asia, Europa y Oceanía (Dubey, 2003). Los valores de seroprevalencia obtenidos varían de acuerdo al país, región, técnica diagnóstica, punto de corte, tamaño de muestra seleccionado, características del muestreo, tipo de ganado (para leche o para carne), explotaciones con o sin antecedentes de sufrir pérdidas reproductivas) siendo difícil su comparación. Por otro lado, los datos sobre la prevalencia de la neosporosis en bovinos para carne son muy escasos. En los Cuadros 3 y 4 se muestran algunos trabajos de seroprevalencia en bovinos para carne y para leche de diferentes países.

### Transmisión vertical

La transmisión vertical transplacentaria es el principal modo de infección en el ganado bovino siendo el modo de propagación y mantenimiento de la enfermedad (Björkman *et al.*, 1996; Paré *et al.*, 1996; Anderson *et al.*, 1997; Schares *et al.*, 1998). La ausencia de variaciones en las tasas de prevalencia entre los distintos grupos de edad en un rebaño y la detección de anticuerpos precalostrales frente a *N. caninum* en el suero de terneros nacidos de vacas seropositivas, indican la presencia de la infección congénita y la importancia relativamente escasa de la transmisión postnatal (Davison *et al.*, 1999b; Hietala y Thurmond, 1999). Una vez adquirida la infección (*in utero* o desde el medio), los animales permanecen infectados probablemente de por vida y pueden transmitir la infección a su descendencia en distintas gestaciones, consecutivas o no, con porcentajes que oscilan entre el 50% y el 95% (Paré *et al.*, 1996; Schares *et al.*, 1998; Wouda *et al.*, 1998; Davison *et al.*, 1999b; Pereira-Bueno *et al.*, 2000). La transmisión vertical transplacentaria se produce tanto en animales en los que no se observa patología abortiva, como en aquellos que han abortado (Dubey 1999). La transmisión del parásito de la madre al ternero por el calostro o la leche puede ocurrir, aunque hasta ahora sólo se ha demostrado experimentalmente (Uggla *et al.*, 1998; Davison *et al.*, 2001). Asimismo, se ha demostrado recientemente la presencia de ADN del protozoo en el calostro de vacas infectadas (Moskwa *et al.*, 2006).

### Transmisión horizontal

La infección postnatal en el perro tiene lugar por ingestión de tejidos de bovinos infectados (fetos abortados y placentas), calostro o leche de origen bovino contaminados con taquizoítos de *N. caninum* (Dijkstra *et al.*, 2002). La infección causa la eliminación de los ooquistes en las heces del perro (Dijkstra *et al.*, 2001b). Se ha señalado la presencia de *N. caninum* en la placenta (Shivaprasad *et al.*, 1989) demostrándose la eliminación de ooquistes en las heces de perros alimentados con placentas de vacas seropositivas (Dijkstra *et al.*, 2001b). La presencia de ooquistes en perros naturalmente infectados se ha informado en escasas ocasiones (Basso *et al.*, 2001a; Slapeta *et al.*, 2002; McGarry *et al.*, 2003). McGarry *et al.* (2003) han observado en un perro naturalmente infectado la eliminación de ooquistes en más de una ocasión.

La infección por transmisión horizontal del ganado bovino adulto tiene lugar luego que el hospedador definitivo elimina ooquistes que contaminan pastos, forrajes, agua de bebida y piensos almacenados (McAllister *et al.*, 1998; Dubey 1999b). Por otro lado, la infección no fue detectada en el ganado bovino alimentado con placentas infectadas (Davison *et al.*, 2001).

La transmisión venérea del parásito podría ser posible, ya que recientemente se ha descrito la presencia esporádica de ADN de *N. caninum* tanto en semen fresco como congelado (Ortega-Mora *et al.*, 2003). Sin embargo, esta vía no tendría importancia desde el punto de vista epidemiológica (Dubey *et al.*, 2006).

### **Características epidemiológicas del aborto por neosporosis**

En los rebaños infectados por *N. caninum*, los abortos pueden presentarse de forma endémica o epidémica (Davison *et al.*, 1999d). La forma esporádica es poco frecuente y ocurre en rebaños donde la tasa de aborto es baja y los abortos se producen a intervalos irregulares. Los abortos con presentación epidémica, con una elevada tasa anual de abortos localizada en un corto periodo de tiempo, se han descrito en diversos estudios (Dubey 2003, Dubey *et al.*, 2006).

En los rodeos infectados por *N. caninum* que presentan un patrón de abortos endémico las pérdidas reproductivas persisten durante periodos de tiempo prolongados (Anderson *et al.*, 2000). El patrón endémico es la forma más frecuente de presentación de los abortos causados por neosporosis y se presenta en hatos donde el parásito se transmite, principalmente, de modo vertical entre generaciones sucesivas. En los rebaños con aborto endémico, se ha observado una correlación clara entre la seropositividad de las madres y la prole con una distribución de los animales seropositivos igual en los diferentes grupos de edad (Dijkstra *et al.*, 2001a; Schares *et al.*, 2002a).

El patrón de aborto epidémico se ha asociado con una infección reciente y la transmisión postnatal del parásito, evidenciado por la falta de asociación entre la seropositividad de las madres y la descendencia y la presencia de IgG anti-*N. caninum* de baja avidéz en los animales abortados (Wouda *et al.*, 1999a; McAllister *et al.*, 2000). Recientemente en un rebaño con aborto epidémico, se han detectado anticuerpos de alta avidéz en algunos animales que no abortaron. Este hecho se ha relacionado con la presencia de animales crónicamente infectados antes de la introducción de la nueva infección y con una protección parcial frente a la reinfección (McAllister *et al.*, 2000; Schares *et al.*, 2002a). En algunos estudios se ha sugerido que los brotes de aborto pueden producirse por la actuación de factores inmunodepresores que causen recrudescencia de la infección en un alto número de animales crónicamente infectados, ya que en algunos rebaños no se encontraron diferencias en la seroprevalencia entre los distintos grupos de edad (Scharés *et al.*, 1998; Wouda *et al.*, 1999a; Atkinson *et al.*, 2000; Dijkstra *et al.*, 2001a). Por otra parte, las vacas afectadas abortan con cualquier edad y estado de gestación, describiéndose abortos desde los 3 hasta los 8 meses de gestación (Thornton *et al.*, 1994; Yaeger *et al.*, 1994; McAllister *et al.*, 1996), aunque la edad gestacional media de los fetos abortados suele estar comprendida entre el quinto y sexto mes (Thilsted *et al.*, 1989; Anderson *et al.*, 1991; Thornton *et al.*, 1994; Moen *et al.*, 1998; Wouda *et al.*, 1999).

### Situación en el país

Los primeros trabajos en el país referidos a esta enfermedad abortigénica permitieron identificar vacas con pérdidas reproductivas serorreactoras a *N. caninum* (Venturini *et al.*, 1995). Posteriormente, se confirmó su presencia mediante inmunohistoquímica (IHQ) en tejidos fetales, (Campero *et al.*, 1998) y por inoculación en ratones (Bacigalupe *et al.*, 1998). Otros relevamientos seroepidemiológicos en las provincias de Santa Fe y Córdoba detectaron una prevalencia del 15 al 27,5% en 320 bovinos lecheros, siendo positivos los 8 rodeos en estudio (Echaide *et al.*, 1998). En fetos provenientes de frigoríficos, se encontró que 20 de 82 (24%) y 1 de 22 (4,5%) especímenes de rodeos para leche y para carne, respectivamente, tenían anticuerpos a *N. caninum* (Venturini *et al.*, 1999). La distribución de la enfermedad ha sido parcialmente caracterizada estableciéndose que 52,9% de 17 rodeos para carne y 92,3% de 52 rodeos para leche tuvieron al menos 1 animal seropositivo (Moore *et al.*, 2002). En dicho trabajo se postuló que la diferente situación epidemiológica podía tener su explicación en los sistemas de producción existentes. Aunque puede existir asociación entre la prevalencia de *N. caninum* y el tipo de explotación considerado; el potencial de dicho agente como etiología de importantes pérdidas reproductivas ha sido destacado en rodeos bovinos para carne (Moore *et al.*, 2003b). Investigando las causas de aborto en Argentina se involucró a *N. caninum* en 7,3% de 354 casos (Campero *et al.*, 2003b).

Para una mejor caracterización de la situación epidemiológica regional otras técnicas serológicas deberían ser aplicadas. Trabajos realizados por Echaide *et al.*, (2002) compararon los resultados de un enzimo inmuno ensayo indirecto (ELISA, del término sajón "enzyme-linked immunoassay") con la inmunofluorescencia indirecta (IFI), obteniéndose una buena concordancia entre ambas técnicas.

Trabajos tendientes a lograr el aislamiento de *N. caninum* a partir de homogeneizados de SNC de fetos bovinos abortados han permitido identificar quistes de *N. caninum* en el SNC de ratones (*Mus musculus*) y meriones (*Meriones unguiculatus*) inoculados con tejido cerebral de fetos bovinos y terneros prematuros infectados (Venturini ~~*et al.*~~, 2000, 2001). *N. caninum* ha sido aislada desde la materia fecal de un canino infectado naturalmente demostrando el rol espontáneo de esta especie como hospedador definitivo (Basso *et al.*, 2001a).

### Impacto económico

En California y Holanda, el 20% de los abortos bovinos son causados por *N. caninum*; en Bélgica y Reino Unido alrededor del 12,5% (Davison *et al.*, 1999a; De Meerschman *et al.*, 2002). En nuestro país 7% de los abortos estarían causados por *N. caninum* de acuerdo a la casuística del INTA Balcarce (Campero *et al.*, 2003).

En California se calculan pérdidas de 35 millones de dólares al año (Dubey, 1999a); en Nueva Zelanda y en Australia, donde la infección es responsable de aproximadamente el 25% de los abortos diagnosticados, se considera la causa más importante de pérdidas económicas, con un gasto de 100 millones de dólares australianos anuales (Reichel, 2000). En Canadá se estima que

en una explotación de 50 animales, las pérdidas pueden llegar a ser de 2305 dólares canadienses por año (Chi *et al.*, 2002). En la Argentina, Campero y Odeón estimaron que se pierden 80 millones de dólares por año (datos no publicados).

Por otra parte, también se deben considerar los costos indirectos asociados al aborto tales como infertilidad, repetición de celo, asistencia veterinaria, gastos de diagnóstico, reposición, posibles pérdidas de producción de leche y compra de ganado en caso de sacrificio. Las pérdidas postnatales debidas a la neosporosis son difíciles de valorar, puesto que en los animales adultos, excluyendo el aborto, la infección es asintomática.

La infección por *N. caninum* también podría afectar a la producción láctea, sin embargo, los datos obtenidos son controvertidos. En un estudio, la infección por *N. caninum* en una explotación en Florida causó el 3-4% de disminución en la producción láctea, ocasionando pérdidas de 128 dólares por vaca en lactación (Hernández *et al.*, 2001). Por el contrario, también se ha señalado un aumento en la producción de leche en vacas seropositivas (Pfeiffer *et al.*, 2002). Hobson *et al.* (2002) han sugerido que la presencia del aborto es el factor que afecta a la producción láctea y no la seropositividad del animal. En este estudio realizado en 6864 vacas en producción láctea procedentes de 140 granjas en los EE.UU., se ha observado que los animales seropositivos procedentes de explotaciones con problemas de aborto produjeron menos leche que los seronegativos, sin embargo, en las granjas sin problemas de aborto, la cantidad de leche fue la misma en las vacas seropositivas y seronegativas.

En el sector cárnico, las pérdidas económicas debidas a *N. caninum* son menos conocidas debido a la dificultad de cuantificación, sin embargo se ha observado una asociación negativa entre la ganancia de peso y la presencia de anticuerpos anti-*N. caninum* con pérdidas de 15,6 dólares americanos por vaca (Barling *et al.*, 2000a, 2001).

Cuadro 1. Resumen de las características morfológicas y biológicas de la familia Sarcocystidae.

CLASIFICACIÓN	NOMBRE	CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS
Phylum	Apicomplexa Formas	Invasivas con complejo apical
Clase	Sporozoea	Locomoción de formas invasivas mediante movimientos de flexión, ondulación y deslizamiento.
Subclase	Coccidia	El ciclo biológico incluye merogonia, gametogonia, y esporogonia.
Orden	Eucoccidia	La merogonia tiene lugar en hospedadores vertebrados.
Suborden	Eimeriina	Existe desarrollo independiente de gametos masculinos (microgametos) y femeninos (macrogametos).
Familia	Sarcocystidae	Parásitos heteroxenos y formadores de quistes en el hospedador intermediario (diferentes especies de herbívoros). El hospedador definitivo (diferentes especies de carnívoros) elimina oocistos en las heces.

Cuadro 2. Aislamientos de *N. caninum*.

DENOMINACIÓN	PAÍS	ORIGEN	MUESTRA	REFERENCIA
NC-1	EE.UU.	Canino	Cerebro	Dubey <i>et al.</i> , 1988a
NC-3	EE.UU.	Canino	Cerebro	Cuddon <i>et al.</i> , 1992
BPA-3	EE.UU.	Ternero	Cerebro	Barr <i>et al.</i> , 1993
BPA-4	EE.UU.	Ternero	Cerebro	Barr <i>et al.</i> , 1993
NC-Liv	Reino Unido	Canino	Cerebro	Barber <i>et al.</i> , 1993
BPA-1	EE.UU.	Feto	Cerebro	Conrad <i>et al.</i> , 1993
BPA-2	EE.UU.	Feto	Cerebro	Conrad <i>et al.</i> , 1993
JPA-1	Japón	Ternero	Cerebro	Yamane <i>et al.</i> , 1996
NC-SweB1	Suecia	Ternero	Cerebro	Stenlund <i>et al.</i> , 1997
JPA-2	Japón	Ternero	Cerebro	Yamane <i>et al.</i> , 1998
JPA-4	Japón	Ternero	Cerebro	Yamane <i>et al.</i> , 1998
JPA-5	Japón	Ternero	Cerebro	Yamane <i>et al.</i> , 1998
BT2	Japón	Ternero	Cerebro	Yamane <i>et al.</i> , 1998
NC-LivB1	Reino Unido	Ternero	Cerebro	Davison <i>et al.</i> , 1999b
NC-PV1	Italia	Ternero	Cerebro	Magnino <i>et al.</i> , 1999
NC-Beef	EE.UU.	Ternero	Cerebro	McAllister <i>et al.</i> , 2000
KBA-1	Corea	Ternero	Cerebro	Kim <i>et al.</i> , 2000
KBA-2	Corea	Feto	Cerebro	Kim <i>et al.</i> , 2000
NC-GER1	Alemania	Canino	Cerebro	Peters <i>et al.</i> , 2000
NC-Bahia	Brasil	Canino	Cerebro	Gondim <i>et al.</i> , 2001
NC-Porto1	Portugal	Feto	Cerebro	Canada <i>et al.</i> , 2002
NC6-Argentina	Argentina	Canino	Heces	Basso <i>et al.</i> , 2001 <sup>a</sup>
NC7-Japón	Japón	Oveja	Cerebro	Koyama <i>et al.</i> , 2001
NC-Nowra	Australia	Ternero	Cerebro	Miller <i>et al.</i> , 2002
NC-Illinois	EE.UU.	Ternero	Cerebro	Godim <i>et al.</i> , 2002
BNC-PR1	Brasil	Ternero	Cerebro	Locatelli-Dittrich <i>et al.</i> , 2003

Cuadro 3. Seroprevalencia individual de la infección por *N. caninum* en el ganado bovino de aptitud lechera.

PAÍS	Nº DE ANIMALES	PREVALENCIA (%)	TÉCNICA DIAGNÓSTICA	REFERENCIAS
Alemania	1357	6,8	ELISA	Weber <i>et al.</i> , 2000
Argentina	1048	16,6	IFI	Moore <i>et al.</i> , 2002
Bélgica	70	29	IFI	De Meerschman <i>et al.</i> , 2000
Brasil	447	14	IFI	Gondim <i>et al.</i> , 1999
	172	34,8	ELISA	Locatelli-Dittrich <i>et al.</i> , 2001
	223	11,2	IFI	Corbellini <i>et al.</i> , 2002
Canadá	2037	21,9	ELISA	Bergeron <i>et al.</i> , 2000
	3412	7,0	ELISA	Cramer <i>et al.</i> , 2002
	3702	12,1	ELISA	Hobson <i>et al.</i> , 2002
	3162	10,5	ELISA	Hobson <i>et al.</i> , 2002
Corea	492	23	ELISA	Bae <i>et al.</i> , 2000
Costa Rica	3002	39,7	ELISA	Romero <i>et al.</i> , 2002
Dinamarca	1561	22,0	ELISA, IFI	Jensen <i>et al.</i> , 1999
Estados Unidos	1029	28,0	IFI	Dyer <i>et al.</i> , 2000
España	889	30,6	ELISA	Mainar-Jaime <i>et al.</i> , 1999
	1121	36,8	ELISA	Quintanilla-Gozalo <i>et al.</i> , 1999
Francia	1170	11,1	ELISA	Pitel <i>et al.</i> , 2001
	2141	17,0	ELISA	Pitel <i>et al.</i> , 2001
Holanda	2430	39,4	ELISA	Dijkstra <i>et al.</i> , 2001 <sup>a</sup>
Italia	5912	24,4	IFI	Magnino <i>et al.</i> , 1999
Malasia	100	9	IFI	Cheah <i>et al.</i> , 2001
Méjico	187	59,0	ELISA	García-Vázquez <i>et al.</i> , 2002
Nueva Zelanda	880	7,6	IFI	Reichel, 1998
Paraguay	297	35,7	ELISA	Osawa <i>et al.</i> , 2002
Polonia	45	15,6	ELISA	Cabaj <i>et al.</i> , 2000
Portugal	119	49	ELISA	Thompson <i>et al.</i> , 2001
Reino Unido	4295	17,0	ELISA	Davison <i>et al.</i> , 1999d
República Checa	463	3,9	ELISA, IFI	Václavěk <i>et al.</i> , 2003
Rusia	391	9,9	ELISA	Conraths <i>et al.</i> , 2000
Tailandia	904	6,0	IFI	Suteeraparp <i>et al.</i> , 1999
Taiwán	613	44,9	IFI	Ooi <i>et al.</i> , 2000
Vietnam	200	5,5	ELISA	Huong <i>et al.</i> , 1998

<sup>a</sup> Técnica diagnóstica: ELISA: análisis inmunoenzimático; IFI: inmunofluorescencia indirecta

Cuadro 4: Seroprevalencia de la infección por *N. caninum* en bovinos para carne.

PAÍS	Nº DE ANIMALES	PREVALENCIA (%)	TÉCNICA DIAGNÓSTICA	REFERENCIAS
Argentina	400	4,7	IFI	Moore <i>et al.</i> , 2002
Bélgica	93	14	IFI	De Meerschman <i>et al.</i> , 2000
Canadá	1806	9,0	ELISA	Waldner <i>et al.</i> , 1999
Corea	438	4,1	IFI	Kim <i>et al.</i> , 2002b
EE.UU.	2585	23	ELISA	Sanderson <i>et al.</i> , 2000
	1009	12,9	DAT	Barling <i>et al.</i> , 2000b
España	1712	17,9	ELISA	Quintanilla-Gozalo <i>et al.</i> , 1999
Francia	219	4,1	ELISA	Klein <i>et al.</i> , 1997
Paraguay	582	26,6	ELISA	Osawa <i>et al.</i> , 2000

<sup>a</sup> Técnica diagnóstica: ELISA: análisis inmunoenzimático; IFI: inmunofluorescencia indirecta; DAT: inmunoadhesión directa

## Bibliografía:

- Anderson, M. L., A. G. Andrianarivo, and P. A. Conrad. 2000. Neosporosis in cattle. *Anim Reprod.Sci.* 60-61:417-431.
- Anderson, M. L., J. P. Reynolds, J. D. Rowe, K. W. Sverlow, A. E. Packham, B. C. Barr, and P. A. Conrad. 1997. Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp infection in dairy cattle. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 210:1169-1172.
- Anderson, M. L., P. C. Blanchard, B. C. Barr, J. P. Dubey, R. L. Hoffman, and P. A. Conrad. 1991. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 198:241-244.
- Asai, T., D. K. Howe, K. Nakajima, T. Nozaki, T. Takeuchi, and L. D. Sibley. 1998. *Neospora caninum*: tachyzoites express a potent type-I nucleoside triphosphate hydrolase. *Exp.Parasitol.* 90:277-285.
- Atkinson, R. A., R. W. Cook, L. A. Reddacliff, J. Rothwell, K. W. Broady, P. Harper, and J. T. Ellis. 2000. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection following an abortion outbreak in a dairy cattle herd. *Aust.Vet.J.* 78:262-266.
- Bacigalupe, D.; Venturini, M.C.; Unzaga, J.M.; Machuca, M.; Alvarez, M.L.; Di Lorenzo, C.; Abdala, A.; Guglielmone, A.; Basso, W.; Venturini, L. 1998. Infecciones transplacentarias por *Neospora caninum* en bovinos. Memorias XVI Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. 9-13 Nov. Santa Cruz de la Sierra. Bolivia. p. 143.
- Bae, J. S., D. Y. Kim, W. S. Hwang, J. H. Kim, N. S. Lee, and H. W. Nam. 2000. Detection of IgG antibody against *Neospora caninum* in cattle in Korea. *Korean J.Parasitol.* 38:245-249.
- Barber, J., A. J. Trees, M. Owen, and B. Tennant. 1993. Isolation of *Neospora caninum* from a British dog. *Vet.Rec.* 133:531-532.
- Barling, K. S., D. K. Lunt, K. F. Snowden, and J. A. Thompson. 2001. Association of serologic status for *Neospora caninum* and postweaning feed efficiency in beef steers. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 219:1259-1262.
- Barling, K. S., J. W. McNeill, J. A. Thompson, J. C. Paschal, F. T. McCollum, III, T. M. Craig, and L. G. Adams. 2000a. Association of serologic status for *Neospora caninum* with postweaning weight gain and carcass measurements in beef calves. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 217:1356-1360. 230
- Barling, K. S., M. Sherman, M. J. Peterson, J. A. Thompson, J. W. McNeill, T. M. Craig, and L. G. Adams. 2000b. Spatial associations among density of cattle, abundance of wild canids, and seroprevalence to *Neospora caninum* in a population of beef calves. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 217:1361-1365.
- Barr, B. C., J. D. Rowe, K. W. Sverlow, R. H. BonDurant, A. A. Ardans, M. N. Oliver, and P. A. Conrad. 1994. Experimental reproduction of bovine fetal *Neospora*

infection and death with a bovine *Neospora* isolate. *J.Vet.Diagn.Invest* 6:207-215.  
Barr, B. C., P. A. Conrad, R. Breitmeyer, K. Sverlow, M. L. Anderson, J. Reynolds, A. E. Chauvet, J. P. Dubey, and A. A. Ardans. 1993. Congenital *Neospora* infection in calves born from cows that had previously aborted *Neospora*-infected fetuses: four cases (1990-1992). *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 202:113-117.

Barta, J. R. and J. P. Dubey. 1992. Characterization of anti-*Neospora caninum* hyperimmune rabbit serum by western blot analysis and immunoelectron microscopy. *Parasitol.Res.* 78:689-694.

Basso, W., L. Venturini, M. C. Venturini, D. E. Hill, O. C. Kwok, S. K. Shen, and J. P. Dubey. 2001. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. *J.Parasitol.* 87:612-618.

Bergeron, N., G. Fecteau, J. Pare, R. Martineau, and A. Villeneuve. 2000. Vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* in dairy herds in Quebec. *Can.Vet.J.* 41:464-467.

Bjerkas, I. and J. P. Dubey. 1991. Evidence that *Neospora caninum* is identical to the *Toxoplasma*-like parasite of Norwegian dogs. *Acta Vet.Scand.* 32:407-410.

Bjerkas, I., M. C. Jenkins, and J. P. Dubey. 1994. Identification and characterization of *Neospora caninum* tachyzoite antigens useful for diagnosis of neosporosis. *Clin.Diagn.Lab Immunol.* 1:214-221.

Bjerkas, I., S. F. Mohn, and J. Presthus. 1984. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z.Parasitenkd.* 70:271-274.

Björkman, C. and A. Hemphill. 1998. Characterization of *Neospora caninum* iscom antigens using monoclonal antibodies. *Parasite Immunol.* 20:73-80.

Björkman, C., A. Lundén, J. Holmdahl, J. Barber, A. J. Trees, and A. Uggla. 1994. *Neospora caninum* in dogs: detection of antibodies by ELISA using an iscom antigen. *Parasite Immunol.* 16:643-648.

Björkman, C., O. Johansson, S. Stenlund, O. J. Holmdahl, and A. Uggla. 1996. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 208:1441-1444.

Cabaj, W., L. Choromanski, S. Rogers, B. Moskwa, and A. Malczewski. 2000. *Neospora caninum* infections in aborting dairy cows in Poland. *Acta Parasitol.* 45:113-114.

Campero, C. M., D. P. Moore, A. C. Odeon, A. L. Cipolla, and E. Odriozola. 2003a. Aetiology of bovine abortion in Argentina. *Vet.Res.Comm.* 27:359-369.

Campero, C.M.; Moore, D.P.; Lagomarsino, H.; Odeon, A.C.; Castro M.; Visca H. 2003b. Serological status and abortion rate in progeny obtained by natural service or embryo transfer from *Neospora caninum*-seropositive cows. *J. Vet. Med. Series B.* 50: 458-460.

Campero, C. M., M. L. Anderson, G. Conosciuto, H. Odriozola, G. Bretschneider, and M. A. Poso. 1998. *Neospora caninum*-associated abortion in a dairy herd in Argentina. *Vet.Rec.* 143:228-229.

Canada, N., C. S. Meireles, A. Rocha, S. Sousa, G. Thompson, J. P. Dubey, S. Romand, P. Thulliez, and J. M. Correia da Costa. 2002. First Portuguese isolate of *Neospora caninum* from an aborted fetus from a dairy herd with endemic neosporosis. *Vet.Parasitol.* 110:11-15.

Çeah, T. S., R. A. Sani and P. Chandrawathani. 2001. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in a dairy cattle farm in Malaysia. *WAAVP, Stresa, Italia*, 19.

Chi, J., J. A. VanLeeuwen, A. Weersink, and G. P. Keefe. 2002. Management factors related to seroprevalences to bovine viral-diarrhoea virus, bovine-leukosis virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, and *Neospora caninum* in dairy herds in the Canadian Maritimes. *Prev.Vet.Med.* 55:57-68.

Conrad, P. A., B. C. Barr, K. W. Sverlow, M. Anderson, B. Daft, H. Kinde, J. P. Dubey, L. Munson, and A. Ardans. 1993. In vitro isolation and characterization of a *Neospora* sp. from aborted bovine fetuses. *Parasitology* 106 ( Pt 3):239-249.

Conraths, F. J., G. Schares, G. Tschernychova, and O. A. S. Bessnov. 2000. Seroepidemiological evidence for bovine neosporosis and *N. caninum*-associated abortions in the Russian Federation, in: Hemphill, A., Gottstein, B. A European perspective on *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 30: 890-891.

Corbellini, L. G., D. Driemeier, C. F. Cruz, L. F. Gondim, and V. Wald. 2002. Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Vet.Parasitol.* 103:195-202.

Cramer, G., D. Kelton, T. F. Duffield, J. C. Hobson, K. Lissemore, S. K. Hietala, and A. S. Peregrine. 2002. *Neospora caninum* serostatus and culling of Holstein cattle. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 221:1165-1168.

Çuddon, P., D. S. Lin, D. D. Bowman, D. S. Lindsay, T. K. Miller, I. D. Duncan, A. deLahunta, J. Cummings, M. Suter, and B. Cooper. 1992. *Neospora caninum* infection in English Springer Spaniel littermates. Diagnostic evaluation and organism isolation. *J.Vet.Intern.Med.* 6:325-332.

Davison, H. C., C. S. Guy, J. W. McGarry, F. Guy, D. J. Williams, D. F. Kelly, and A. J. Trees. 2001. Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. *Res.Vet.Sci.* 70:163-168.

Davison, H. C., A. Otter, and A. J. Trees. 1999a. Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborting cattle. *Int.J.Parasitol.* 29:1189-1194

Davison, H. C., A. Otter, and A. J. Trees. 1999b. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. *Int.J.Parasitol.* 29:1683-1689.

Davison, H. C., F. Guy, A. J. Trees, C. Ryce, J. T. Ellis, A. Otter, M. Jeffrey, V. R. Simpson, and J. J. Holt . 1999c. In vitro isolation of *Neospora caninum* from a stillborn calf in the UK. *Res.Vet.Sci.* 67:103-105.

Davison, H. C., N. P. French, and A. J. Trees. 1999d. Herd-specific and age-specific seroprevalence of *Neospora caninum* in 14 British dairy herds. *Vet.Rec.* 144:547- 550.

De Meerschman, F., N. Speybroeck, D. Berkvens, C. Rettignera, C. Focant, T. Leclipteux, D. Cassart, and B. Losson. 2002. Fetal infection with *Neospora caninum* in dairy and beef cattle in Belgium. *Theriogenology* 58:933-945.

De Meerschman, F., C. Focant, R. Boreux, T. Leclipteux, and B. Losson. 2000. Cattle neosporosis in Belgium: A case control in dairy and beef cattle, in: Hemphill, A., Gottstein, B. A European perspective on *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 30: 887-890.

Dijkstra, T., H. W. Barkema, M. Eysker, J. W. Hesselink, and W. Wouda. 2002. Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farm dogs and cattle. *Vet.Parasitol.* 105:99-104.

Dijkstra, T., H. W. Barkema, M. Eysker, and W. Wouda. 2001a. Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. *Int.J.Parasitol.* 31:209-215.

Dijkstra, T., M. Eysker, G. Schares, F. J. Conraths, W. Wouda, and H. W. Barkema. 2001b. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. *Int.J.Parasitol.* 31:747-752.

Dubey J.P., Buxton D and Wouda W. 2006. Pathogenesis of Bovine Neosporosis *J. Comp. Path.* 134: 267-289

Dubey, J. P. 2003. Neosporosis in cattle. *J.Parasitol.* 89 (Suppl):S42-S56.

Dubey, J. P. 1999a. Neosporosis in cattle: biology and economic impact.

*J.Am.Vet.Med.Assoc.* 214:1160-1163.

Dubey, J. P. 1999b. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet.Parasitol.* 84:349-367.

Dubey, J. P., B. C. Barr, J. R. Barta, I. Bjerkas, C. Björkman, B. L. Blagburn, D. D. Bowman, D. Buxton, J. T. Ellis, B. Gottstein, A. Hemphill, D. E. Hill, D. K. Howe, M. C. Jenkins, Y. Kobayashi, B. Koudela, A. E. Marsh, J. G. Mattsson, M. M.

McAllister, D. Modry, Y. Omata, L. D. Sibley, C. A. Speer, A. J. Trees, A. Uggla, S.

J. Upton, D. J. Williams, and D. S. Lindsay. 2002. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *Int.J.Parasitol.* 32:929-946.

Dubey, J. P., A. L. Hattel, D. S. Lindsay, and M. J. Topper. 1988. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 193:1259-1263.

Dyer, R. M., M. C. Jenkins, O. C. Kwok, L. W. Douglas, and J. P. Dubey. 2000. Serologic survey of *Neospora caninum* infection in a closed dairy cattle herd in Maryland: risk of serologic reactivity by production groups. *Vet.Parasitol.* 90:171-181.

Echaide, I.; Valentini, B.; Mondino, D.; Torioni, S. 2002. Neosporosis bovina: análisis seroepidemiológico de un hato lechero mediante IFA y ELISA. XIV Reunión

- Científico Técnica, Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico. Villa General Belgrano, Córdoba. PAR-01.
- Echaide, I.E.; Valentini, B.; Baszler, T.V. 1998. Detección de anticuerpos contra *Neospora caninum* en bovinos de la cuenca lechera de Santa Fe y Córdoba. Resultados preliminares. XII Reunión Científico Técnica, Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico, Mar del Plata. p. 71.
- Ellis, J. T., C. Ryce, R. Atkinson, S. Balu, P. Jones, and P. A. Harper. 2000. Isolation, characterization and expression of a GRA2 homologue from *Neospora caninum*. *Parasitology* 120 (Pt 4):383-390.
- Ellis, J. T., D. A. Morrison, S. Liddell, M. C. Jenkins, O. B. Mohammed, C. Ryce, and J. P. Dubey. 1999. The genus *Hammondia* is paraphyletic. *Parasitology* 118 ( Pt 4):357- 362.
- Ellis, J., K. Luton, P. R. Baverstock, P. J. Brindley, K. A. Nimmo, and A. M. Johnson. 1994. The phylogeny of *Neospora caninum*. *Mol.Biochem.Parasitol.* 64:303-311.
- Fuchs, N., S. Sonda, B. Gottstein, and A. Hemphill. 1998. Differential expression of cell surface- and dense granule-associated *Neospora caninum* proteins in tachyzoites and bradyzoites. *J.Parasitol.* 84:753-758.
- García-Vázquez, Z., C. Cruz-Vázquez, L. Medina-Espinoza, D. García-Tapia, and B. Chavarria-Martínez. 2002. Serological survey of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Aguascalientes, Mexico. *Vet.Parasitol.* 106:115-120.
- Gondim LFP, McAllister M.M., Pitt W.C., Zemlicka D.E. 2004. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum* *International Journal for Parasitology.* 34: 159–161
- Gondim, L. F. P., L. Gao, and M. M. McAllister. 2002. Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. *J.Parasitol.* 88:1159-1163.
- Gondim, L. F., A. M. Pinheiro, P. O. Santos, E. E. Jesus, M. B. Ribeiro, H. S. Fernandes, M. A. Almeida, S. M. Freire, R. Meyer, and M. M. McAllister. 2001. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. *Vet.Parasitol.* 101:1-7.
- Gondim, L. F., I. F. Sartor, M. Hasegawa, and I. Yamane. 1999. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. *Vet.Parasitol.* 86:71-75.
- Guo, Z. G. and A. M. Johnson. 1995. Genetic comparison of *Neospora caninum* with *Toxoplasma* and *Sarcocystis* by random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction. *Parasitol.Res.* 81:365-370.
- Hemphill, A. and B. Gottstein. 1996. Identification of a major surface protein on *Neospora caninum* tachyzoites. *Parasitol.Res.* 82:497-504.
- Hemphill, A., N. Fuchs, S. Sonda, B. Gottstein, and B. Hentrich. 1997a. Identification and partial characterization of a 36 kDa surface protein on *Neospora caninum* tachyzoites. *Parasitology* 115 ( Pt 4):371-380.
- Hemphill, A., R. Felleisen, B. Connolly, B. Gottstein, B. Hentrich, and N. Müller. 1997b. Characterization of a cDNA-clone encoding Nc-p43, a major *Neospora*

- caninum* tachyzoite surface protein. Parasitology 115 ( Pt 6):581-590.
- Hemphill, A., B. Gottstein, and H. Kaufmann. 1996. Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. Parasitology 112 ( Pt 2):183-197.
- Hernández, J., C. Risco, and A. Donovan. 2001. Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows. J. Am. Vet. Med. Assoc. 219:632-635.
- Heydorn, A. O. and H. Mehlhorn. 2002a. A re-evaluation of *Neospora* and *Hammondia* spp. Trends Parasitol. 18 :246.
- Heydorn, A. O. and H. Mehlhorn. 2002b. *Neospora caninum* is an invalid species name: an evaluation of facts and statements. Parasitol.Res. 88:175-184.
- Hietala, S. K. and M. C. Thurmond. 1999. Postnatal *Neospora caninum* transmission and transient serologic responses in two dairies. Int.J.Parasitol. 29:1669-1676.
- Hobson, J. C., T. F. Duffield, D. Kelton, K. Lissemore, S. K. Hietala, K. E. Leslie, B. McEwen, G. Cramer, and A. S. Peregrine. 2002. *Neospora caninum* serostatus and milk production of Holstein cattle. J.Am.Vet.Med.Assoc. 221:1160-1164.
- Holmdahl, O. J., J. G. Mattsson, A. Ugglå, and K. E. Johansson. 1994. The phylogeny of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* based on ribosomal RNA sequences. FEMS Microbiol.Lett. 119:187-192.
- Huong, L. T., B. L. Ljungstrom, A. Ugglå, and C. Björkman. 1998. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes in southern Vietnam. Vet.Parasitol. 75:53-57.
- Jardine, J. E. 1996. The ultrastructure of bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum* in dogs: absence of distinguishing morphological features between parasites of canine and bovine origin. Vet. Parasitol. 62:231-240.
- Jensen, A. M., C. Björkman, A. M. Kjeldsen, A. Wedderkopp, C. Willadsen, A. Ugglå, and P. Lind. 1999. Associations of *Neospora caninum* seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds. Prev.Vet.Med. 40:151-163.
- Keller, N., A. Naguleswaran, A. Cannas, N. Vonlaufen, M. Bienz, C. Björkman, W. Bohne, and A. Hemphill. 2002. Identification of a *Neospora caninum* microneme protein (NcMIC1) which interacts with sulfated host cell surface glycosaminoglycans. Infect.Immun. 70:3187-3198.
- Kim, J. H., J. K. Lee, E. K. Hwang, and D. Y. Kim. 2002. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in Korean native beef cattle. J.Vet.Med.Sci. 64:941-943.
- Kim, J. H., H. J. Sohn, W. S. Hwang, E. K. Hwang, Y. H. Jean, I. Yamane, and D. Y. Kim. 2000. In vitro isolation and characterization of bovine *Neospora caninum* in Korea. Vet.Parasitol. 90:147-154.

- Klein, F., S. K. Hietala, H. Berthet, P. Very, and D. Gradinaru. 1997. *Neospora caninum*: enquête sérologique sur les avortements des bovins normands et charolais. *Le point Vétérinaire* 28:65-68.
- Koyama, T., Y. Kobayashi, Y. Omata, M. Yamada, H. Furuoka, R. Maeda, T. Matsui, A. Saito, and T. Mikami. 2001. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a pregnant sheep. *J.Parasitol.* 87:1486-1488.
- Lally, N. C., M. C. Jenkins, and J. P. Dubey. 1996b. Evaluation of two *Neospora caninum* recombinant antigens for use in an enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of bovine neosporosis. *Clin.Diagn.Lab Immunol.* 3:275-279.
- Lindsay, D. S., C. A. Speer, M. A. Toivio-Kinnucan, J. P. Dubey, and B. L. Blagburn. 1993. Use of infected cultured cells to compare ultrastructural features of *Neospora caninum* from dogs and *Toxoplasma gondii*. *Am.J.Vet.Res.* 54:103-106.
- Locatelli-Dittrich, R., R. R. Richartz, M. E. Joineau, R. D. Pinckney, R. S. de Sousa, L. C. Leite, and V. Thomaz-Soccol. 2003. Isolation of *Neospora caninum* from a blind calf in Parana, southern Brazil. *Vet.Rec.* 153:366-367.
- Locatelli-Dittrich, R., V. T. Soccol, R. R. Richartz, M. E. Gasino-Joineau, R. Vinne, and R. D. Pinckney. 2001. Serological diagnosis of neosporosis in a herd of dairy cattle in southern Brazil. *J.Parasitol.* 87:1493-1494.
- Louie, K., R. Nordhausen, T. W. Robinson, B. C. Barr, and P. A. Conrad. 2002. Characterization of *Neospora caninum* protease, NcSUB1 (NC-P65), with rabbit anti-N54. *J.Parasitol.* 88:1113-1119.
- Louie, K., K. W. Sverlow, B. C. Barr, M. L. Anderson, and P. A. Conrad. 1997. Cloning and characterization of two recombinant *Neospora* protein fragments and their use in serodiagnosis of bovine neosporosis. *Clin.Diagn.Lab Immunol.* 4:692-699.
- Lovett, J. L., D. K. Howe, and L. D. Sibley. 2000. Molecular characterization of a thrombospondin-related anonymous protein homologue in *Neospora caninum*. *Mol.Biochem.Parasitol.* 107:33-43.
- Magnino, S., P. G. Vigo, M. Fabbi, M. Colombo, C. Bandi, and C. Genchi. 1999. Isolation of a bovine *Neospora* from a newborn calf in Italy. *Vet.Rec.* 144:456.
- Mainar-Jaime, R. C., M. C. Thurmond, B. Berzal-Herranz, and S. K. Hietala. 1999. Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. *Vet.Rec.* 145:72-75.
- McAllister, M. M., C. Björkman, R. Anderson-Sprecher, and D. G. Rogers. 2000. Evidence of point-source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 217:881-887.

- McAllister, M. M., J. P. Dubey, D. S. Lindsay, W. R. Jolley, R. A. Wills, and A. M. McGuire. 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int.J.Parasitol.* 28:1473-1478.
- McAllister, M. M., E. M. Huffman, S. K. Hietala, P. A. Conrad, M. L. Anderson, and M. D. Salman. 1996. Evidence suggesting a point source exposure in an outbreak of bovine abortion due to neosporosis. *J.Vet.Diagn.Invest* 8:355-357.
- McGarry, J. W., C. M. Stockton, D. J. Williams, and A. J. Trees. 2003. Protracted shedding of oocysts of *Neospora caninum* by a naturally infected foxhound. *J.Parasitol.* 89:628-630.
- Mehlhorn, H. and A. O. Heydorn. 2000. *Neospora caninum*: is it really different from *Hammondia heydorni* or is it a strain of *Toxoplasma gondii*? An opinion. *Parasitol.Res.* 86:169-178.
- Miller, C. M., H. E. Quinn, P. A. Windsor, and J. T. Ellis. 2002. Characterisation of the first Australian isolate of *Neospora caninum* from cattle. *Aust.Vet.J.* 80:620-625.
- Moen, A. R., W. Wouda, M. F. Mul, E. A. Graat, and T. van Werven. 1998. Increased risk of abortion following *Neospora caninum* abortion outbreaks: a retrospective and prospective cohort study in four dairy herds. *Theriogenology* 49:1301-1309.
- Moore, D.P.; Campero, C.M.; Odeon, A.C.; Chayer R.; Bianco M.A. 2003. Reproductive losses due to *Neospora caninum* in a beef herd in Argentina. *J. Vet. Med. B.* 50: 304–308.
- Moore, D.P.; Campero, C.M.; Odeon, A.C.; Poso, M.A.; Cano, D.; Leunda, M.R.; Basso, W.; Venturini, M.C.; Späth, E.A.J. 2002. Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. *Vet. Parasitol.* 107: 303-316.
- Moskwa B, Pastusiak K, Bien J, Cabaj W., 2006. The first detection of *Neospora caninum* DNA in the colostrum of infected cows. *Parasitol Res.* *In press*
- Mugridge, N. B., D. A. Morrison, A. R. Heckerroth, A. M. Johnson, and A. M. Tenter. 1999. Phylogenetic analysis based on full-length large subunit ribosomal RNA gene sequence comparison reveals that *Neospora caninum* is more closely related to *Hammondia heydorni* than to *Toxoplasma gondii*. *Int.J.Parasitol.* 29:1545-1556.
- Ooi, H. K., C. C. Huang, C. H. Yang, and S. H. Lee. 2000. Serological survey and first finding of *Neospora caninum* in Taiwan, and the detection of its antibodies in various body fluids of cattle. *Vet.Parasitol.* 90 :47-55.
- Ortega-Mora, L. M., I. Ferre, I. del Pozo, A. Caetano-da-Silva, E. Collantes-Fernández, J. Regidor-Cerrillo, C. Ugarte-Garagalza, and G. Aduriz. 2003. Detection of *Neosporacanium* in semen of bulls. *Vet.Parasitol.* 117:301-308.
- Osawa, T., J. Wastling, L. Acosta, C. Ortellado, J. Ibarra, and E. A. Innes. 2002.

Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Paraguay. *Vet.Parasitol.* 110:17-23.

Paré, J., M. C. Thurmond, and S. K. Hietala. 1996. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhood mortality. *Can.J.Vet.Res.* 60:133-139.

Paré, J., M. C. Thurmond, and S. K. Hietala. 1997. *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *J.Parasitol.* 83:82-87.

Pereira-Bueno, J., Quintanilla-Gozalo, A., Seijas-Carballedo, A., Costas, E., Ortega-Mora, L. M. 2000. Observational studies in *Neospora caninum* infected dairy cattle: pattern of transmission and age-related antibody fluctuations, in: Hemphill, A., Gottstein, B. A European perspective on *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 30: 906-909.

Peters, M., E. Lutkefels, A. R. Heckerroth, and G. Schares. 2001. Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. *Int.J.Parasitol.* 31:1144-1148.

Peters, M., F. Wagner, and G. Schares. 2000. Canine neosporosis: clinical and pathological findings and first isolation of *Neospora caninum* in Germany. *Parasitol.Res.* 86:1-7.

Pfeiffer, D. U., N. B. Williamson, M. P. Reichel, J. J. Wichtel, and W. R. Teague. 2002. A longitudinal study of *Neospora caninum* infection on a dairy farm in New Zealand. *Prev.Vet.Med.* 54:11-24.

Pitel, P. H., S. Pronost, G. Chatagnon, D. Tainturier, G. Fortier, and J. J. Ballet. 2001a. Neosporosis in bovine dairy herds from the west of France: detection of *Neospora caninum* DNA in aborted fetuses, seroepidemiology of *N. caninum* in cattle and dogs. *Vet.Parasitol.* 102:269-277.

Quintanilla-Gonzalo, A., J. Pereira-Bueno, E. Tabarés, E. A. Innes, R. Gonzalez-Paniello, and L. M. Ortega-Mora. 1999. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Spain. *Int.J.Parasitol.* 29:1201-1208.

Reichel, M. P. 2000. *Neospora caninum* infections in Australia and New Zealand. *Aust.Vet.J.* 78:258-261.

Reichel, M. P. 1998. Prevalence of *Neospora* antibodies in New Zealand dairy cattle and dogs. *N.Z.Vet.J.* 46:38.

Romero, J. J., E. Pérez, G. Dolz, and K. Frankena. 2002. Factors associated with *Neospora caninum* serostatus in cattle of 20 specialised Costa Rican dairy herds. *Prev.Vet.Med.* 53:263-273.

Sanderson, M. W., J. M. Gay, and T. V. Baszler. 2000. *Neospora caninum*

seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States. *Vet.Parasitol.* 90:15-24.

Schares, G., A. Barwald, C. Staubach, P. Söndgen, M. Rauser, R. Schroder, M. Peters, R. Wurm, T. Selhorst, and F. J. Conraths. 2002. p38-avidity-ELISA: examination of herds experiencing epidemic or endemic *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *Vet.Parasitol.* 106:293-305.

Schares, G., J. F. Dubremetz, J. P. Dubey, A. Barwald, A. Loyens, and F. J. Conraths. 1999. *Neospora caninum*: identification of 19-, 38-, and 40-kDa surface antigens and a 33-kDa dense granule antigen using monoclonal antibodies. *Exp.Parasitol.* 92:109-119.

Schares, G., M. Peters, R. Wurm, A. Barwald, and F. J. Conraths. 1998. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. *Vet.Parasitol.* 80:87-98.

Shivaprasad, H. L., R. Ely, and J. P. Dubey. 1989. A *Neospora*-like protozoon found in an aborted bovine placenta. *Vet.Parasitol.* 34:145-148.

Slapeta, J. R., D. Modry, I. Kyselova, R. Horejs, J. Lukes, and B. Koudela. 2002. Dog shedding oocysts of *Neospora caninum*: PCR diagnosis and molecular phylogenetic approach. *Vet.Parasitol.* 109:157-167.

Sonda, S., N. Fuchs, B. Gottstein, and A. Hemphill. 2000. Molecular characterization of a novel microneme antigen in *Neospora caninum*. *Mol.Biochem.Parasitol.* 108:39-51.

Speer, C. A. and J. P. Dubey. 1989. Ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum*. *J.Protozool.* 36:458-463.

Stenlund, S., C. Björkman, O. J. Holmdahl, H. Kindahl, and A. Ugglä. 1997. Characterization of a Swedish bovine isolate of *Neospora caninum*. *Parasitol.Res.* 83:214-219.

Suteeraparp, P., S. Pholpark, M. Pholpark, A. Charoenchai, T. Chompoochan, I. Yamane, and Y. Kashiwazaki. 1999. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* and associated abortion in dairy cattle from central Thailand. *Vet.Parasitol.* 86:49-57.

Thilsted, J. P. and J. P. Dubey. 1989. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *J.Vet.Diagn.Invest* 1:205-209.

Thompson, G., N. Canada, T. M. do Carmo, E. Silva, F. Vaz, and A. Rocha. 2001. First confirmed case of *Neospora caninum*-associated abortion outbreak in Portugal. *Reprod.Domest.Anim.* 36:309-312.

Thornton, R.N., A. Gajadhar, and J. Evans. 1994. *Neospora* abortion epidemic in a dairy herd. *New Zealand Vet. J.* 42: 190-191.

Uggla, A., S. Stenlund, O. J. Holmdahl, E. B. Jakubek, P. Thebo, H. Kindahl, and C. Björkman. 1998. Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves. *Int.J.Parasitol.* 28:1467-1472.

Václavek, P., B. Koudela, D. Modry, and K. Sedlak. 2003. Seroprevalence of *Neospora caninum* in aborting dairy cattle in the Czech Republic. *Vet.Parasitol.* 115:239-245.

Venturini, M.C.; Bacigalupe, D.; Venturini, L.; Basso, W.; Moore, D.P.; Unzaga, J.M.; Machuca, M.; Campero, C.M. (2001) Isolation of *Neospora* sp. from the brain of a dairy calf in Argentina. The 18th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, Stresa, Italy. B9.

Venturini, M.C.; Bacigalupe, D.; Venturini, L.; Rambeaud, M.; Campero, C.M.; Moore, D.P.; Unzaga, J.M.; Basso, W.; Machuca, M. (2000) Detección de *Neospora caninum* en ratones inoculados con cerebros de fetos bovinos abortados. XXI Congreso Mundial de Buiatría, Punta del Este, Uruguay, 4- 8 diciembre. Resúmenes p. 95.

Venturini, M. C., L. Venturini, D. Bacigalupe, M. Machuca, I. Echaide, W. Basso, J. M. Unzaga, C. Di Lorenzo, A. Guglielmone, M. C. Jenkins, and J. P. Dubey. 1999. *Neospora caninum* infections in bovine fetuses and dairy cows with abortions in Argentina. *Int.J.Parasitol.* 29:1705-1708.

Venturini, L.; Dilorenzo, C.; Venturini, C.; Romero, J. 1995. Anticuerpos anti-*Neospora* sp. en vacas que abortaron. *Vet. Arg.* 12: 167-170.

Waldner, C. L., E. D. Janzen, J. Henderson, and D. M. Haines. 1999. Outbreak of abortion associated with *Neospora caninum* infection in a beef herd. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 215:1485-1489.

Weber, v. A., K. Zetmann, and Th. Ewringmann. 2000. Vorkommen von Antikörpern gegen *Neospora caninum* bei Kühen in nordbayerischen Beständen mit Abortproblemen. *Tierärztl.Umschau.* 55:28-29.

Wouda, W., C. J. Bartels, and A. R. Moen. 1999. Characteristics of *Neospora caninum* - associated abortion storms in diary herds in The Netherlands (1995 to 1997). *Theriogenology* 52:233-245.

Wouda, W., A. R. Moen, and Y. H. Schukken. 1998. Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology* 49:1311-1316.

Yaeger, M. J., S. Shawd-Wessels, and P. Leslie-Steen. 1994. *Neospora* abortion storm in a midwestern dairy. *J.Vet.Diagn.Invest* 6:506-508.

Yamane, I., T. Shibahara, T. Kokuho, K. Shimura, T. Hamaoka, M. Haritani, P. A. Conrad, C. H. Park, M. Sawada, and T. Umemura. 1998. An improved isolation technique for bovine *Neospora* species. *J.Vet.Diagn.Invest* 10:364-368.

Yamane, I., T. Kokuho, K. Shimura, M. Eto, M. Haritani, Y. Ouchi, K. W. Sverlow, and P.A. Conrad. 1996. In vitro isolation of a bovine *Neospora* in Japan. *Vet.Rec.* 138:652.

# Reunión de la Academia de Agronomía y Veterinaria y el Grupo de Sanidad Animal del INTA (Balcarce 2006) Actualización en Neosporosis Bovina

Dra. María Cecilia Venturini, Dra. Lucila Venturini  
Lab. de Inmunoparasitología, Cátedra de Parasitología, Facultad de  
C.Veterinarias, UNLP. 60 y 118, (1900) La Plata, Argentina.  
e-mail: cventuri@fcv.medvet.unlp.edu.ar

## INMUNIDAD

### Estructura de *Neospora caninum* y proteínas relevantes en la respuesta inmune

El phylum Apicomplexa incluye todos aquellos protozoos que poseen un Complejo Apical. El Complejo Apical consta de uno o más anillos polares; un conoide formado por varios microtúbulos enrollados en espiral dentro del anillo polar y un grupo de organelas secretorias ubicadas en el extremo anterior del parásito, que facilitan la adhesión y/o penetración a la célula hospedadora. La forma infectante (taquizoíto) penetra activamente en la célula hospedadora, determinando la formación de una vacuola parasitófora (VP) dentro de la cual se ubica y se multiplica. La membrana de la VP se forma a partir de la membrana plasmática de la célula hospedadora. Durante su formación se excluyen las proteínas de membrana del hospedador, lo que impediría la posterior unión con los lisosomas (Buxton y col., 2002). La capacidad invasiva estaría dada por receptores específicos para el protozoo, ubicados en la superficie celular (Hemphill y col., 2006).

Las roptrias, micronemas y gránulos densos de los Apicomplexa son elementos claves en la invasión de la célula hospedadora a través de la interacción con los citados receptores de la superficie celular y la liberación de proteínas. Los micronemas participan en el proceso de adhesión a la célula hospedadora, las roptrias en la biogénesis de la VP y los gránulos densos en la modificación de la VP, contribuyendo a la formación de la red tubulovesicular.

Pasado un período corto se forman los quistes tisulares, en cuyo interior se encuentran los bradizoítos, que son formas de multiplicación lenta que pueden ser viables durante un tiempo indeterminado. Actualmente se están desarrollando pruebas de diagnóstico y estrategias para el desarrollo de vacunas con proteínas recombinantes correspondientes a diferentes estructuras del parásito mencionadas más arriba. Para eso se están tratando de expresar los genes que las codifican, como por ejemplo, proteínas de los gránulos densos (NcGRA), de las roptrias (NcROP) y micronemas (NcMIC).

### Respuesta inmune mediada por células

*N. caninum* es un protozoo de vida intracelular. En términos generales, en las infecciones por parásitos de vida intracelular, la respuesta inmune relacionada con la protección depende en parte, de la respuesta Th1, es decir de los linfocitos colaboradores/ CD4 o "helper"1 (Lh1) y sus productos. Los LTh1 son

activados por epitopes expresados en la superficie de células procesadoras y presentadoras de antígenos (macrófagos, dendríticas), asociados a Moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) clase II. Como consecuencia de esta interacción se producen citoquinas que intervienen en la activación de los mecanismos de protección derivados de la respuesta inmune mediada por células. Cuando las proteínas antigénicas se procesan en el interior de las células, los epitopes también son presentados a los linfocitos citotóxicos (Lc/CD8) asociados a moléculas del CMH I.

En infecciones por protozoos Apicomplexa, como en el caso de *N. caninum*, la respuesta inmune relacionada con la protección es principalmente de tipo Th1 con la producción de interferón gamma (INF- $\gamma$ ), Interleuquina 12, Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y la presencia de células NK (también productoras de INF- $\gamma$  (Hemphill y col, 2006). Algunas de estas citoquinas, beneficiosas para intentar controlar la infección, resultan perjudiciales para la unidad feto-placenta, antagonizando con el buen término de la preñez (Quinn y col 2002, Innes y col. 2002, Innes y col. 2005).

Los tejidos de unión feto-placenta producen citoquinas progestacionales características de la respuesta Th2 (IL4, 5, 10), debido a los altos niveles de progesterona. Esta hormona inhibe la producción de óxido nítrico, con actividad microbicida, TNF- $\alpha$  y la actividad de las células NK.

Por lo tanto es necesaria una respuesta Th1 dominante para combatir la infección, dando como resultado la producción de citoquinas inflamatorias y perjudiciales para el feto en el inicio de la preñez.

La determinación de la respuesta inmune mediada por células puede realizarse mediante la detección de los niveles de INF-  $\gamma$ , o bien indirectamente mediante la detección de IgG2, producida durante la respuesta inmune celular. El estudio de la inmunidad mediada por células durante la preñez en vacas infectadas con *N. caninum* permitirá comprender su relación diseñar efectivas estrategias de prevención.

## **Métodos de diagnóstico**

Los métodos de diagnóstico pueden ser directos e indirectos. Para lograr el diagnóstico definitivo es necesario el aislamiento de *N. caninum*. Algunas de las líneas de ratones utilizadas con esos fines son Swiss Webster, Balb/c endocriados e inmunodeprimidos y más recientemente las líneas inmunodeficientes, como los Nude mice y Knock out mice (Hemphill, 1999) y los meriones (*Meriones unguiculatus*) (Dubey y Lindsay, 2000, Venturini y col. 2001). El aislamiento en meriones a partir de diferentes tejidos puede utilizarse con fines diagnósticos. El éxito del aislamiento a partir de tejidos fetales bovinos en cultivos celulares es muy bajo, debido a que la mayoría de los parásitos mueren con la autólisis de las células hospedadoras (Conrad y col., 1993). Se suma a ello la frecuente contaminación del cerebro de fetos abortados.

La inmunohistoquímica contribuye con el diagnóstico histopatológico en cerebro y corazón de fetos abortados, ya que generalmente hay muy pocos parásitos presentes en tejidos autolisados y normalmente son difíciles de identificar con las técnicas de coloración de rutina (Dubey, 1999). En 1998 Campero y col. describieron por primera vez en la Argentina la presencia del protozoo por

IHQ en fetos abortados (Campero y col. 1998). El reconocimiento de los taquizoítos en los órganos lesionados y la eliminación de otras causas de abortos, asociando la utilización de varias pruebas de diagnóstico permitirá relacionar a *N. caninum* como agente causal del aborto (Dubey y Schares, 2006).

La prueba de PCR es un valioso auxiliar para la detección de *N. caninum* en tejidos infectados. Se han desarrollado pruebas de inmunotransferencia, con diferentes preparaciones antigénicas, con el fin de reconocer fracciones antigénicas con valor diagnóstico.

Los métodos serológicos se basan en la detección de anticuerpos para *N. caninum* e incluyen diversas técnicas de ELISA, aglutinación y la inmunofluorescencia indirecta (IFI) (Bjorkman C. y Uggla A. 1999, Dubey, 2003). Esta última fue la primera de las técnicas utilizadas, empleando como antígeno taquizoítos de *N. caninum*. Se la ha utilizado como la prueba de referencia para el desarrollo de otras técnicas. En la Argentina, se detectó el parásito en bovinos por primera vez en 1995 utilizando la prueba de IFI (Venturini L. y col. 1995). Existen distintos criterios con respecto a los títulos serológicos considerados positivos ya que es variable el tiempo de seroconversión, luego de una infección. La detección de anticuerpos en líquidos fetales tiene valor diagnóstico.

## Bibliografía

1. Buxton D, Mac Allister M, Dubey J.P. The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends in Parasitology* 16:546-552. 2002.
2. Bjorkman C., Uggla A. (1999). Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Int. J. for Parasitol.* 29: 1497-1507.
3. Campero, C. M., Anderson, M. L., Conosciuto, G., Odriozola, H., Bretschneider, G., Poso. M. A. (1998). *Neospora caninum*-associated abortion in a dairy herd in Argentina. *Vet. Rec.* 143, 228-229.
4. Conrad, P., Barr, B., Sverlow, K., Anderson, M., Dalf, B., Kindle, H., Dubey, J.P., Munson, L., Adams, A. (1993). In vitro isolation and characterization of a *Neospora* sp. from aborted bovine fetuses. *Parasitology*, 106: 239-249.
5. Dubey J.P. Neosporosis in cattle. *J.Parasitol.*89: S42- S56. 2003.
6. Dubey J.P y Schares G. (2006) Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet. Parasitol.* 140: 1-34.
7. Dubey, J. P. and Lindsay, D. S. (2000). Gerbils (*Meriones unguiculatus*) are highly susceptible to oral infection with *Neospora caninum* oocysts.
8. Dubey JP, Buxton D, Wouda W. (2006) Pathogenesis of Bovine Neosporosis. *J.Comp.Pathol.*134: 267-289.
9. Hemphill, A. (1999). The host-parasite relationship in Neosporosis. *Advances in Parasitology* 43, 47-92.
10. Hemphill, A. Vonlaufen N, Naguleswaran A. (2006). Cellular and immunological basis of the host-parasite relationship during infection with *Neospora caninum*.
11. Innes y col. (2002). Immune response to *Neospora caninum* and prospect for vaccination. *Trends in Parasitology.* 18: 497-503.
12. Innes E y col. (2005). The host – parasite relationship in bovine neosporosis. *Vet.Immunol.Immunopathol.* 108: 29-36.
13. Quinn H, Ellis J, Smith N. (2002 ) *Neospora caninum* a cause of immune mediated failure in pregnancy?. *Trends in Parasitology.* 18: 391-394.
14. Venturini L, Di Lorenzo C, Venturini M.C, .Romero J. Anticuerpos anti *Neospora* sp. en vacas que abortaron.1995 *Vet. Arg.* XII, 113, 167 - 170. ISSN 0326- 4629.
15. Venturini M.C, Bacigalupe D, Venturini L, Basso W, Moore P, Unzaga J.M, Machuca M, Campero C. (2001). Isolation of *Neospora* sp from the brain of a dairy calf in Argentina. *WAAP, Strega, Italia* . Poster B9p.

## Reunión de la Academia de Agronomía y Veterinaria y el Grupo de Sanidad Animal del INTA (Balcarce 2006)

Dr. Carlos M. Campero, MV, DMV, PhD Patología Veterinaria INTA, CC 276  
(7620) Balcarce

### Control

La implementación de medidas de control varía en función de la situación seroepidemiológica de cada rodeo. La premisa principal para controlar la neosporosis es reducir las pérdidas reproductivas.

Dado que la transmisión vertical o congénita contribuye en forma sustancial a la difusión y mantenimiento de la enfermedad en el rodeo, se deberán las máximas medidas para atenuar su impacto. Recientes trabajos realizados en Holanda evidenciaron que la enfermedad tiene una prevalencia del 10,3%, se estudiaron 108 rodeos de los cuales el 81,5% fueron positivos. El 80% de las vaquillonas dieron origen a descendencia infectada mientras que las vacas adultas, esta cifra baja al 66% (Dijkstra *et al.*, 2003). En el mencionado país, el 76% de los rodeos lecheros seropositivos sin episodios de abortos no tuvieron pérdidas económicas. El 24% de los rodeos restante tuvieron impacto económico variable desde 2000 euros por año hasta rodeos con abortos epidémicos con pérdidas mayores por descarte prematuro de vacas, prolongado intervalo entre partos, menor producción de leche, mayores gastos por servicios veterinarios y serología del rodeo.

La transmisión horizontal está asociada con tormentas de abortos y es una situación frecuente. Ambas formas de transmisión (vertical y horizontal) pueden estar presentes simultáneamente en un rodeo. Sin embargo, las tormentas de abortos son condiciones que no se repiten con frecuencia en el tiempo y es muy poco probable que ocurran en el año siguiente siendo más frecuente asumir abortos esporádicos en los próximos 4 años.

La serología inicial de todo el rodeo analizando la distribución etaria de los animales seropositivos es adecuada para interpretar el modo de transmisión (Dijkstra *et al.*, 2003). Si ocurre transmisión vertical, los animales seropositivos estarán igualmente distribuidos en diferentes grupos etarios existiendo hijos seropositivos de vacas seropositivas. En los casos de transmisión horizontal, no existirá asociación entre el estatus serológico de la madre y sus hijos (Dijkstra *et al.*, 2001).

En rodeos para carne y utilizando un modelo de simulación a 5 años realizado en USA evaluando diferentes estrategias de control, se concluyó que en infecciones endémicas sangrando a todo el rodeo y excluyendo las hijas de vacas seropositivas como reemplazo, resultó la mejor opción económica (Larson *et al.*, 2004).

En base a ello, las medidas a adoptar en cada caso deberían depender de las pérdidas económicas estimadas por la infección y abortos en cada establecimiento en particular. Para ello es importante evaluar las pérdidas en rodeos para carne y leche y el beneficio obtenido después de considerar diferentes estrategias de control. Trabajos preliminares sobre estrategias de

control fueron mencionados (Thurmond and Hietala, 1995).

El control estratégico se basa:

1) Disminuir la transmisión vertical reduciendo el número de vacas seropositivas

Para ello se deberían efectuar algunas acciones:

-eliminar las vacas abortadas seropositivas

-no utilizar la reposición de vacas seropositivas

-en los casos que se utilice la transferencia embrionaria de hembras donantes positivas, usar vacas receptoras negativas

-a los fines de disponer mayor reemplazo de terneras en vacas seronegativas se sugiere usar IA con semen sexado

-usar semen de toros para carne

2) Disminuir el riesgo de la transmisión horizontal controlando los perros.

### **Medidas higiénicas**

#### **-Control de la población canina**

La presencia de perros en los establecimientos es un factor de riesgo considerable (Pare *et al.*, 1998; Basso *et al.*, 2001; Schares *et al.*, 2005). Si bien el riesgo de transmisión horizontal es bajo, se debe prevenir el acceso de los perros al pasto, alimentos y agua de los animales. Al disminuir al máximo la población canina se disminuye el riesgo de transmisión horizontal por contaminación de alimentos y agua por heces.

#### **-Eliminación del material abortado**

A los fines de disminuir el riesgo de infección en el hospedador definitivo, los fetos y placentas abortadas deberían eliminarse de forma segura y rápida. Está demostrada la eliminación de ooquistes de *N. caninum* en las heces de perros después de haber ingerido tejidos bovinos infectados con *N. caninum* (McAllister *et al.*, 1998; Dijkstra *et al.*, 2001; Gomidin *et al.*, 2004)

#### **-Calostro**

El calostro es una posible vía de transmisión por lo que el calostro de las vacas infectadas no debería administrarse en la recría ni tampoco debería formar parte de un eventual banco de calostro congelado. Esta vía de infección ha sido demostrada en condiciones experimentales en calostro y leche aunque no ha sido probada en forma natural (Uggla *et al.*, 1998; Davison *et al.*, 2001).

#### **-Control de roedores**

*N. caninum* ha sido detectado recientemente mediante serología y PCR en ratas y ratones naturalmente infectados (Huang *et al.*, 2004; Hughes *et al.*, 2006). Los roedores podrían constituir un reservorio de la infección para el perro por lo que deberían ser controlados.

### **Manejo Reproductivo: diferentes estrategias**

La reciente confirmación de la presencia de ADN de *N. caninum* en el semen de toros (Ortega *et al.*, 2003, Caetano-da-Silva *et al.*, 2004, Ferré *et al.*, 2005) y la transmisión intrauterina en vaquillonas infectadas con semen contaminado con taquizoitos (Serrano *et al.*, 2006) obliga a pensar en estrategias reproductivas aplicables al control de la enfermedad.

#### *Transferencia embrionaria*

Para el caso de reproductoras de alto valor genético, la transferencia de embriones obtenidos de vacas infectadas a hembras receptoras negativas, es una adecuada medida de prevención de la transmisión transplacentaria (Baillargeon *et al.*, 2001; Campero *et al.*, 2003).

#### *IA con semen de raza carnicera*

Un trabajo realizado en España (Lopez Gatus *et al.*, 2005) sugiere que inseminando vacas infectadas con semen de toros para carne reduce el riesgo de abortos. Pese a ello, se deberían realizar otros trabajos más consistentes para confirmar esta medida de manejo.

#### *IA con semen sexado*

La IA con semen sexado está recomendada en vaquillonas vírgenes, altamente fértiles y con adecuado manejo. En este tipo de animales, la eficiencia de la concepción con semen estándar es de 60-65% mientras que con semen sexado es del 45-55% (Cisale, 2006). Esta alternativa biotecnológica puede ser utilizada en rodeos lecheros con elevada seroprevalencia (Campero, datos sin publicar) sobre vaquillonas seronegativas ya que aporta una mayor descendencia de hembras y permite disponer de adecuado porcentaje de hembras para efectuar la reposición de vientres.

#### *Reposición selectiva*

La importancia de efectuar la reposición con vaquillonas seronegativas tiende a disminuir la seroprevalencia del rodeo. El manejo adecuado debería iniciarse con la serología de la ternera de reposición la cual debería hacerse al nacer previo al mamado de calostro (factible en rodeos lecheros) o bien a los 6 meses de vida y luego repetir la serología previo al servicio.

En explotaciones infectadas el objetivo de reducir la seroprevalencia debería ser una constante e ir eliminando en forma gradual las vacas positivas abortadas las cuales deberían pasar a una lista de venta, adicionándole otras condiciones sanitarias causales de refugio (pietín, mastitis, paratuberculosis, leucosis, etc).

En rodeos para carne, la premisa "toda vaca que no tiene su cría al pie al momento del servicio no debe entorarse y debe enviarse a faena" sigue tan vigente como 30 años atrás.

#### *Rodeos con baja prevalencia (<5%)*

Las medidas aconsejadas son:

-Seguimiento del estatus serológico del rodeo a un porcentaje del mismo una

vez por año, reponer con terneras hijas de vacas seronegativas las que se deberán sangrar a los 6 meses de vida y repetir el sangrado al preservicio y controlar ingreso de perros (control de la transmisión horizontal). En estas condiciones, es factible que se mantenga una baja tasa de difusión de la enfermedad.

Un reciente trabajo (Reichel and Ellis, 2006) sugiere, para las condiciones de Nueva Zelanda, la estrategia de no efectuar acciones mientras la seroprevalencia del rodeo fuere baja mientras que en rodeos con prevalencia superiores al 18%, el empleo de la vacuna inactivada puede ser una alternativa a considerar el costo/beneficio dada la posible disminución de la tasa de abortos.

Mayor información deberá generarse en nuestro medio a los fines de adoptar un criterio toda vez que la opción de la vacunación no está disponible *hasta el presente*.

#### *Rodeos infectados con prevalencia media/alta (>18/20%)*

-Control de la transmisión horizontal.

Evitar el acceso de los perros a los depósitos de alimentos, galpones, silos, bebidas, impedir ingesta de fetos y placentas abortadas, no alimentar a los perros con carne sin cocinar (Moore *et al.*, 2000)

-Control de la transmisión vertical.

Reducir el número de vacas seropositivas eliminándolas en forma gradual y selectiva, vender las vacas con antecedentes de abortos Inseminar las vacas seronegativas con semen sexado y reponer con dichosvientres.

Evitar el ingreso de nuevos casos.

Controlar la reposición a partir de vientres seronegativos.

Sangrar al nacer antes del mamado de calostro si es factible.

Sangrar a los 5-6 meses de vida Sangrar al preservicio.

Utilizar títulos de corte bajos al interpretar la serología.

Adquirir animales con serología negativa

### **Test y faena**

La implementación de ésta medida implica sangrar a todo el rodeo y luego eliminar los animales positivos. Los costos de los análisis serológicos más el valor de compra de la reposición hace a esta medida económicamente no viable en la mayoría de los rodeos con seroprevalencia elevada para la continuidad del productor sistema ganadero.

Si la prevalencia de la enfermedad fuere baja (<5%), podría ser factible hacerlo determinando que el reemplazo mayor ocurriera en el primer año. Las expectativas de aborto en los próximos 5 años serían bajas asumiendo que la probabilidad de infección dentro del rodeo derivado de la infección postnatal fuere también baja (0,1/ año) (Hall *et al.*, 2005; Paré *et al.*, 1966) lo cual daría un nivel del 5% (Reichel and Ellis, 2006).

Autores holandeses han sugerido que con un porcentaje de faena del 25% y una seroprevalencia a *N. caninum* no mayor del 40%, es posible reducirla

el número de animales afectados significativamente en pocos años (Dijkstra *et al.*, 2004) mediante esta sola medida. Esta visión es mantenida en otros países europeos si bien resulta de interés destacar que en ellos la política de apoyo económico y subsidios oficiales ayuda al productor al momento de tomar su decisión. Los valores de una vaquillona lechera de reposición varían aproximadamente desde US\$ 700 a US\$ 1.425 en USA y Europa. El precio de una vaquillona de reposición en nuestro medio oscila en US\$ 500/700 haciendo que la opción de test y faena no aplicable en nuestro medio dado que el productor no tiene ningún tipo de apoyo oficial y ser por ende una estrategia de riesgo económico serio.

### **Detección de falsos/positivos/negativos**

Siempre será de utilidad intentar dilucidar las discrepancias referentes al seroestatus entre la madre y su descendencia (casos de transmisión vertical) retestando a la madre y a su cría después de un período de 3-4 semanas. Analizando a las vacas falsas negativas en la segunda mitad de la gestación es útil dado el incremento en los títulos de anticuerpos que a menudo suelen observarse al final de la gestación (Stenlund *et al.*, 1999).

### **Quimioprofilaxis**

Diversos trabajos experimentales empleando coccidiostáticos como el Toltrazuril (BayCox) en terneros infectados experimentalmente por vía endovenosa y subcutánea y tratados durante 1 y 6 días (Kritzner *et al.*, 2002) tuvieron resultados promisorios con una eficacia del 90%. Estos resultados permiten suponer que el 10% restante estaría en riesgo de sufrir una tormenta de abortos o abortos esporádicos. Su posible utilidad en vacas presenta el problema de tener que darse durante 6 días seguidos con un costo de unos 300 US\$ por cabeza además del costo adicional de la eliminación de la leche durante 15 días (Reichel and Ellis, 2006). La falta de practicidad por lo continuado del tratamiento y los costos adicionales hacen poco factible este tratamiento en condiciones prácticas para controlar la infección.

### **Desarrollo de vacunas**

Diferentes trabajos experimentales realizados en la inmunoprofilaxis de la toxoplasmosis bovina hace ya una década permitieron sentar las bases del conocimiento para su potencial aplicación en el control de la neosporosis bovina.

Para prevenir la toxoplasmosis en el ganado ovino, la única medida mediante la cual se consigue una disminución de los abortos y aumento en el número de corderos viables tras el parto (Buxton and Innes, 1995) la constituye la vacuna Toxovax<sup>TM</sup> desarrollada a partir de una cepa avirulenta de *Toxoplasma gondii* (S48). La eficacia de dicha vacuna en estudios experimentales, se basa en la inmunización de ovejas 6 semanas antes del servicio y el desafío con una cepa virulenta en el día 90 de gestación (Buxton *et al.*, 1991).

En el caso de la neosporosis bovina, es importante recordar la información generada por diferentes trabajos experimentales mediante los cuales se sabe que el final del primer tercio de gestación (semana 10), es el momento más apropiado para inducir la muerte fetal (Williams et al., 2000; McAlDowey et al., 2004). Por su parte, la probabilidad del nacimiento de terneros congénitamente infectados aumenta según avanza la gestación. En infecciones naturales, los niveles más elevados de anticuerpos en las vaquillonas que tuvieron terneros congénitamente infectados se han observado entre las semanas 20 y 36 de gestación (Quintanilla-Gozalo et al., 2000; Guy et al., 2001).

Con estos antecedentes es posible idear estrategias de control que permitan inducir una respuesta inmune previa a la gestación para evitar, en alguna medida, el aborto y/o la transmisión de la enfermedad a su descendencia. La vacunación debería ser la herramienta ideal para prevenir la infección exógena.

En base a ello, se están efectuando en estudios experimentales con vacunas vivas las cuales podrían reducir el riesgo de infección en el rodeo (Guy et al., 2005). Para ello se inmunizaron vaquillonas 9 semanas previo a ser inseminadas inoculando por vía endovenosa  $10^7$  taquizoitos vivos de la cepa Nowra de *N. caninum* las cuales fueron resistentes al desafío efectuado a los 70 días de gestación mediante la inoculación endovenosa de  $10^7$  taquizoitos vivos de *N. caninum* cepa Liverpool. Los terneros hijos de las vaquillonas vacunadas resultaron normales, viables y negativos mientras que los animales controles abortaron sus fetos en 5/7 vaquillonas desafiadas de similar forma.

Los primeros ensayos con vacunas inactivadas fueron realizados en USA (Andrianarivo et al., 1999, 2000), quienes obtuvieron buena respuesta inmune utilizando taquizoitos de *N. caninum* con adyuvantes sintéticos de los cuales el Polygen fue el de mejor respuesta aunque estas preparaciones fallaron en prevenir la infección fetal en el ganado preñado desafiado experimentalmente por vía endovenosa o intramuscular con taquizoitos de *N. caninum* (Andrianarivo et al., 2005). Vaquillonas naturalmente infectadas con *N. caninum* fueron inmunizadas con taquizoitos inactivados en una preparación con Polygen como adyuvante y tampoco fueron capaces de prevenir la transmisión vertical de la enfermedad (Andrianarivo et al., 2005).

Actualmente se comercializa una vacuna inactivada a base de taquizoitos de *N. caninum* en adyuvante sintético (Havlogen) (Bovilis NeoGuard, Intervet) la cual se expende en USA a 3,50 US\$ la dosis y en otros países. En un ensayo realizado en Nueva Zelanda, la vacuna confirió una protección variable (5.2%-54%)(Heuer et al., 2003) en 2 de 5 establecimientos. Similar vacuna utilizada en 25 establecimientos de Costa Rica se observó una eficacia del 46% en unos 15 rodeos (Romero et al., 2004). Recientemente se ha sugerido a la vacunación como una medida factible de implementar en países donde está permitida su venta (Reichel and Ellis, 2006). Sin embargo es importante destacar que la vacunación deja títulos residuales los cuales persisten en el tiempo dificultando el conocimiento del verdadero status de la infección en el rodeo.

Finalmente, en nuestro país hemos efectuado estudios en el INTA Balcarce evaluando la respuesta inmune en vaquillonas preñadas inmunizadas con una vacuna experimental inactivada conteniendo taquizoitos de la cepa NC-

1 en un adyuvante oleoso la cual fue capaz de establecer una respuesta inmune muy similar a la que ocasiona la enfermedad natural (Moore et al., 2005).

Recientemente se informó en el World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (New Zealand, 2005) sobre los requisitos que una vacuna debería cumplir para controlar la neosporosis (Conraths and Ortega Mora, 2005):

1. Debería mencionar el objetivo de la vacunación (protección contra el aborto, transmisión transplacental o infección general).
2. Prueba de eficacia en estudios experimentales efectuados en bovinos.
3. Prueba de eficacia en estudios a campo.
4. Prueba de seguridad.
5. Ser compatible con pruebas diagnósticas que permitan distinguir los animales vacunados de los animales infectados (adición de un marcador a las vacunas)
6. Instrucciones sobre frecuencia de dosis, vías y momentos de aplicación.
7. Se debería garantizar la negatividad de priones de BSE en los productos utilizados de origen bovino.

### **Perspectivas**

Dada la trascendencia mundial de la enfermedad, se requieren nuevas formulaciones que permitan evitar el aborto y la transmisión congénita de la enfermedad y además, que las vacunas desarrolladas cuenten con un test que permita diferenciar a los animales vacunados de los animales naturalmente infectados. Si no existe un test que contemple este punto es imposible seguir el estatus de la infección y por ende la aplicación de medidas de control. Los animales vacunados no deberían introducirse en los rodeos libres de la enfermedad.

Por otro lado, las mejoras en las técnicas diagnósticas y su validación local, tanto en muestras de suero como pruebas efectuadas en leche, permitirán una mejor caracterización de la problemática local y disponer de adecuadas estrategias para su control.

## Referencias

- Andrianarivo, A.G., Choromanski, L., McDonough, S.P., Packham, A.E., Conrad, P.A. 1999. Immunogenicity of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite preparation formulated with different adjuvants. *Int J Parasitol*, 29, 1613-1625.
- Andrianarivo, A. G., Rowe, J. D., Barr, B. C., Anderson, M.L., Packham, A. E., Sverlow, K. W., Choromanski, L., Loui, C., Grace, A. Conrad, P. A. 2000. A POLYGENadjuvanted killed *Neospora caninum* tachyzoite preparation failed to prevent foetal infection in pregnant cattle following i.v./i.m. experimental tachyzoite challenge. *International Journal for Parasitology*, 30, 985-990.
- Andrianarivo, A. G., Anderson, M.L., Rowe, J. D., Gardner, I.A., Reynolds, J:P., Choromanski, L., Conrad, P.A.2005. Immune responses during pregnancy in heifers naturally infected with *Neospora caninum* with and without immunization. *Parasitol. Res.* 96, 24-31.
- Baillargeon, P.; Fecteau, G.; Pare, J.; Lamothe, P. and Sauve, R. 2001. Evaluation of the embryo transfer procedure proposed by the International Embryo Transfer Society as a method of controlling vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 218: 1803-1806.
- Basso, W., Venturini, L., Venturini, M.C., Hill, D.E., Kwok, O.C., Shen, S.K., Dubey, J.P. 2001. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. *The Journal of Parasitology*, 87, 612-618.
- Buxton, D., Innes, E.A. 1995. A commercial vaccine for ovine toxoplasmosis. *Parasitol.* 110, S11-S16.
- Buxton, D., Thomson, K.M., Maley, S.W., Wright, S.H., Bos J. 1991. Vaccination of sheep with a live incomplete strain (S48) of *Toxoplasma gondii* and their immunity to challenge when pregnant. *Vet. Rec.* 129,89-93.
- Campero, C.M., Moore, D.P., Lagomarsino, H., Odeón, A.C., Castro, M., Visca, H.J. 2003. Serological status and abortion rate in progeny obtained by natural service or embryo transfer from *Neospora caninum*-seropositive cows. *Vet. Med.* B 50:458-460.
- Caetano-da-Silva, A., Ferre, I., Collantes-Fernández, E., Navarro, V., Aduriz, G., Ugarte-Garagalza, C., Ortega-Mora, L.M. 2004. Occasional detection of *Neospora caninum* DNA in frozen extended semen from naturally infected bulls. *Theriogenology*, 62, 1329-1336.
- Conraths, F.J. and Ortega-Mora, L.M. 2005. Options for control of protozoal abortion in ruminants: practical experience. The 20th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP), 16-20 October, Christchurch, New Zealand.

- Cisale, H.O. 2006. Sexaje de semen: ventajas y desventajas de su uso en bovinos lecheros. *Revista de Medicina Veterinaria* 87, 106-108.
- Davison, H.C., Guy, C.S., McGarry, J.W., Guy, F., Williams, D.J., Kelly, D.F., Trees, A.J. 2001. Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. *Research in Veterinary Science*, 70, 163-168.
- Dijkstra, T., Barkema, H.W., Eysker, M., Wouda, W. 2001. Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. *International Journal for Parasitology*, 31, 209-215.
- Dijkstra, T., Barkema, H.W., Eysker, M., Beiboer, M.L., Wouda, W. 2003. Evaluation of a single serological screening of dairy herds for *Neospora caninum* antibodies. *Veterinary Parasitology*, 110, 161-169.
- Dijkstra, T., Bartels, C.J.M., Wouda, W. 2004. Strategies for control of neosporosis in the Netherlands. In: *Neospora: epidemiology, risk assessments, economics and control*. 7-8th October 2004, Nantes, France.
- Ferre, I., Aduriz, G., del Pozo, I., Regidor-Cerrillo, J., Atxaerandio, R., Collantes-Fernández, E., Hurtado, A., Ugarte-Garagalza, C., Ortega-Mora, L.M. 2005. Detection of *Neospora caninum* in the semen and blood of naturally infected bulls. *Theriogenology*, 63, 1504-1518.
- Gondim, L.F.P., McAllister, M.M., Anderson-Sprecher, R.C., Björkman, C., Lock, T.F., Firkins, L.D., Gao, L., Fischer, W.R. 2004. Transplacental transmission and abortion in cows administered *Neospora caninum* oocysts. *Journal of Parasitology*, 90, 1394-1400.
- Guy, C.S., Williams, D.J.L., Kelly, D.F., McGarry, J.W., Guy, F., Björkman, C., Smith, R.F., Trees, A.J. 2001. *Neospora caninum* in persistently infected, pregnant cows: spontaneous transplacental infection is associated with an acute increase in maternal antibody. *The Veterinary Record*, 149, 443-449.
- Guy, C.S., Williams, D.J.L., Smith, R.F., Trees, A.J. 2005. Vaccination against *Neospora*-associated abortion in cattle. In: *Proceedings of the 20 th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology*, Christchurch, p.191.
- Hall, C.A., Reichel, M.P., Ellis, J.T. 2005. *Neospora* abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. *Veterinary Parasitology*, 128, 231-241.
- Heuer, C., Nicholson, C., Russell, D., Weston, J. 2003. Efficacy of vaccination against *Neospora caninum* for the prevention of abortion in New Zealand dairy cattle. *Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology*. New Orleans, USA.
- Heuer, C., Nicholson, C., Muñoz Bielsa, J., Weston, J. 2005. Efficacy of vaccine

against *Neospora caninum* related abortions in New Zealand dairy herd. *Vet. Parasitol.* In press

Huang, C.C., Yang, C.H., Watanabe, Y., Liao, Y.K., Ooi, H.K. 2004. Finding of *Neospora caninum* in the wild brown rat (*Rattus norvegicus*). *Vet. Res.* 35, 283–290.

Hughes, J.M., Williams, R.H., Morley, E.K., Cook, D.A.N., Terry, R.S., Murphy, R.G., Smith, J.E., Hide, G. 2006. The prevalence of *Neospora caninum* and co-infection with *Toxoplasma gondii* by PCR analysis in naturally occurring mammal populations. *Parasitology* 132, 29-36

Kritzner, S., Sager, H., Blum, J., Greig, G., Gottstein, B. 2002. An explorative study to assess the efficacy of Toltrazuril sulfone (Ponazuril) in calves experimentally infected with *Neospora caninum*. *An. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 1, 4.

Larson, R.L., Hardin, D.K., Pierce, V.L. 2004. Economic considerations for diagnostic and control options for *Neospora caninum* induced abortions in endemically infected herds of beef cattle. *J. Am. Vet. Assoc.* 224, 1597-1604.

López-Gatius, F., Santolaria, P., Yániz, J.L., Garbayo, J.M., Almería, S. 2005. The use of beef bull semen reduced the risk of abortion in *Neospora*-seropositive dairy cows. *J. Vet. Med. B* 52, 88–92

Macaldowie, C., Maley, S.W., Wright, S., Bartley, P., Esteban-Redondo, I., Buxton, D., Innes, E.A. 2004. Placental pathology associated with fetal death in cattle inoculated with *Neospora caninum* by two different routes in early pregnancy. *Journal of Comparative Pathology*, 131, 142-156.

McAllister, M.M., Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Jolley, W.R., Wills, R.A., McGuire, A.M. 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*, 28, 1473-1478.

Moore, DP, Odeón, AC, Campero, CM. 2000. Sugerencias de saneamiento y manejo para limitar la Neosporosis bovina. Colegio de Veterinarios de la Provincia de Buenos Aires, Boletín Veterinario, *Suplemento Técnico* 16, 43-45.

Moore, D.P., Leunda, M.R., Zamorano, P.I., Odeon, A.C., Romera, S.A., Cano, A., de Yaniz, G., Venturini, M.C., Campero, C.M. 2005. Immune response to *Neospora caninum* in naturally infected heifers and heifers vaccinated with inactivated antigen during the second trimester of gestation. *Veterinary Parasitology*, 130, 29-39.

Ortega-Mora, L.M., Ferre, I., del Pozo, I., Caetano-da-Silva, A., Collantes-Fernández, E., Regidor-Cerrillo, J., Ugarte-Garagalza, C., Aduriz, G. 2003. Detection of *Neospora caninum* in semen of bulls. *Veterinary Parasitology*, 117, 301-308.  
Pare, J.; Thurmond, M.C. and Hietala, S.K. 1996. Congenital *Neospora caninum*

infection in dairy cattle and associated calfhoo mortality. *Can. J. Vet. Res.* 60: 133- 139.

Paré, J., Fecteau, G., Fortin, M., Marsolais, G. 1998. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 213, 1595-1598.

Quintanilla-Goza, A., Pereira-Bueno, J., Seijas-Carballedo, A., Costas, E., Ortega-Mora, L.M. 2000. Observational studies in *Neospora caninum* infected dairy cattle: relationship infection-abortion and gestational antibody fluctuations. in: Hemphill, A. and Gottstein, B (Eds.), A European perspective on *N. caninum*. *International Journal for Parasitology*, 30, 900-906.

Reichel, M.P. and Ellis, J.T. 2006. If control of *Neospora caninum* infection is technically feasible does it make economic sense?. *Veterinary Parasitology*, in press.

Romero, J.J., Perez, E., Frankena, K. 2004. Effect of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite vaccine on the crude abortion rate of Costa Rica dairy cows under field conditions. *Vet. Parasitol.* 123, 149-159.

Schares, G., Barwald, A., Conraths, F.J. 2005. Adaptation of a surface antigen-based ELISA for the detection of antibodies against *Neospora caninum* in bovine milk. *Journal of Veterinary Medicine B Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, 52, 45-48.

Serrano, E., Ferre, I., Osoro, K., Aduriz, G., Mateos-Sanz, A., Martínez, A., Atxaerandio, R., Hidalgo, C.O., Ortega-Mora, L.M. 2006. Intrauterine *Neospora caninum* inoculation of heifers. *Veterinary Parasitology*, 135, 197-203.

Stenlund, S., Kindhal, H., Magnusson, U., Uggla, A., Björkman, C. 1999. Serum antibody profile and reproductive performance during two consecutive pregnancies of cows naturally infected with *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*, 85, 227-234.

Thurmond, M. and Hietala, S. 1995. Strategies to control *Neospora* infection in cattle. *The Bovine Practitioner*, 4, 29-32.

Uggla, A., Stenlund, S., Holmdahl, O.J., Jakubek, E.B., Thebo, P., Kindahl, H., Björkman, C. 1998. Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves. *International Journal for Parasitology*, 28, 1467-1472.

Williams, D.J., Guy, C.S., McGarry, J.W., Guy, F., Tasker, L., Smith, R.F., MacEachern, K., Cripps, P.J., Kelly, D.F., Trees, A.J. 2000. *Neospora caninum* associated abortion in cattle: the time of experimentally-induced parasitaemia during gestation determines foetal survival. *Parasitology*, 121 ( Pt 4), 347-358.