

**REUNIÓN DE LA ACADEMIA DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
ACTUALIZACIÓN EN NEOSPOROSIS BOVINA
BALCARCE 2006**

Moore DP, 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 la Tabla 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 heydorni*. 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. heydorni* (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 la Tabla 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 3-7 μ m de longitud y 1-5 μ m 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 6-8 μ m de longitud por 1-1,8 μ m 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 100 μ m de diámetro siendo de forma redondeada u oval. La pared quística (que puede alcanzar más de 4 μ m 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 6,5 μ m de longitud por 2,0 μ m 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. heydorni*; tienen forma esférica o subesférica y su tamaño es de 11,7 μ m de longitud y 11,3 μ m de anchura. La pared del ooquiste es lisa, de 0,6-0,8 μ m 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 serin-proteasa 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 las Tablas 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 dónde 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 períodos 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 progenie 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 y col., 1995). Posteriormente, se confirmó su presencia mediante inmunohistoquímica (IHQ) en tejidos fetales, (Campero y col., 1998) y por inoculación en ratones (Bacigalupe y col., 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 y col., 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 y col., 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 y col., 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 y col., 2003b). Investigando las causas de aborto en Argentina se involucró a *N. caninum* en 7,3% de 354 casos (Campero y col., 2003b).

Para una mejor caracterización de la situación epidemiológica regional otras técnicas serológicas deberían ser aplicadas. Trabajos realizados por Echaide y col., (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 y col., 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 y col., 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 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).

Tabla 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 ooquistes en las heces.

Tabla 2. Aislamientos de *N. caninum*.

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

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

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

^a Técnica diagnóstica: ELISA: análisis inmunoenzimático; IFI: inmunofluorescencia indirecta

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

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

^a Técnica diagnóstica: ELISA: análisis inmunoenzimático; IFI: inmunofluorescencia indirecta; DAT: inmunoadglutinación 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 sporozoan 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. Ugglå. 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. Ugglå. 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.
- Cheah, 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.

- Cuddon, 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. Ugglá, 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. Chavarría-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. Uggla, 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. Uggla, 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. Uggla, 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 *Neospora caninum* 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 calthood 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. Ugglá. 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.
- Ugglá, 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.