

REUNIÓN DE LA ACADEMIA DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
ACTUALIZACIÓN EN NEOSPOROSIS BOVINA
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; Gomdin 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 cría 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 carnífera

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 dichos vientres

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 (0.01/ 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 U\$S 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™, 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 transplacentar 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 POLYGEN-adjuvanted 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 asses 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 calfhooood 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-Gozaalo, 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.