

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

00590

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



UNA DÉCADA DE INVESTIGACIÓN DE LA
NEOSPOROSIS EN BOVINOS

POR

VICTOR MALDONADO MARTIN

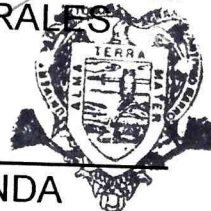
MONOGRAFÍA QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H.
JURADO EXAMINADOR COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADO POR


MC. FRANCISCO J. CARRILLO MORALES
PRESIDENTE DEL JURADO


M.C. ERNESTO MARTINEZ ARANDA
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal
UAAAN - UL

TORREÓN, COAHUILA

OCTUBRE DE 2005

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**UNA DÉCADA DE INVESTIGACIÓN DE LA
NEOSPOROSIS EN BOVINOS**



M.C. FRANCISCO JAVIER CARRILLO MORALES
PRESIDENTE



M.V.Z. JESUS GAETA COVARRUBIAS
VOCAL



M.V.Z. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO
VOCAL



M.C. JORGE ITURBIDE RAMÍREZ
VOCAL SUPLENTE

CONTENIDO

Dedicatorias	2
Agradecimientos	3
Introducción	4
Antecedentes	5
Taxonomía	7
Ciclo Biológico	8
Transmisión	10
Signos	12
Impacto Económico	14
Diagnostico	15
Seroprevalencia.....	16
Prevalencia	17
Aislamiento	19
Neosporosis canina	20
Infección congénita	22
Control y Prevención	24
Conclusiones	25
Literatura citada	26

DEDICATORIA

A MIS PADRES

Juan Maldonado Hernández y Paula Martín Martínez. Quienes a través de su apoyo, comprensión, cariño, pero sobre todo por haber depositado su confianza y dedicación han logrado verme triunfar y hoy por ellos me siento orgulloso por que a ellos le debo lo que tengo y lo que soy, pero sobre todo gracias por ser los mejores padres.

A MIS HERMANOS

Jesús Maldonado, Genaro Maldonado, Concepción Maldonado, José Juan Maldonado, Meliton Maldonado, Carlos Maldonado y Maribel Maldonado quienes siempre me han apoyado incondicionalmente y que sin ellos no hubiera podido salir adelante en esta meta que me propuse.

A MIS SOBRINOS

Ian, Said, Alan, Josué, Edna, Yelitza, Danna, Darla, Dayla, Aylin. Quienes a pesar de la distancia no me podía olvidar de ellos ya que me alentaban con sus risas para poder seguir adelante y por supuesto a Adriana, Nancy, Ana Laura, Graciela, Aurora por el apoyo brindado, por sus consejos, pero sobre todo por sus bendiciones durante la realización de mis estudios.

Con un testimonio dedico el presente trabajo de investigación a ustedes quienes me han apoyado en el camino de la verdad demostrándome con sus consejos y ejemplos de humildad, el respeto a las personas, por todos sus sacrificios y por hacer de mi lo que ahora soy un profesionista. Dios me los bendiga y me los conserve por mucho tiempo y poder ofrecerles poco de lo mucho que me han dado, por todo esto y muchas cosas mas gracias
“EL SUEÑO SE HA CUMPLIDO”

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

A ti señor que me diste la oportunidad de nacer y que me has acompañado en todas y cada una de las etapas de mi vida, escuchando y atendiendo a mis suplicas y sobre todo por mantenerme unido a lo que más quiero "Mi Familia"

A MI "ALMA TERRA MATER"

A ella que me ha permitido concluir orgullosamente mis estudios en ella y a todas las personas que de una u otra forma me brindaron su apoyo y amistad durante mi estancia en ella U. A. A. A. N. U-L

A MI ASESOR

Al M.C. Francisco J. Carrillo Morales por el apoyo brindado en la realización de este trabajo de investigación y por ser un excelente maestro y amigo.

A MIS MAESTROS

Por regalarme lo más valioso, el tiempo y los conocimientos que con tanto esmero y dedicación ayudaron a mi formación

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS

De generación 2000-2005 de medicina veterinaria por la convivencia brindada a lo largo de nuestra carrera y a mis mejores amigos Julio Charrez, Edgar, Alberto Ruiz, Jesús Mejía, Ismael Carrillo, David Sinuhe, Fernando Ruiz y Fernando.

Un agradecimiento muy especial a unos de mis mejores Miguel Ángel García Rodríguez por su gran amistad que me ha brindado y a la Sra. Socorro Rodríguez por todas sus atenciones que tuvo, pero sobre todo por haberme abierto las puertas de su casa por eso y muchas cosas más gracias.

INTRODUCCIÓN

La Neosporosis es una enfermedad parasitaria producida por *Neospora caninum* un protozooario perteneciente al *Phylum apicomplexa*, similar a *toxoplasma gondii* pero diferente a éste estructural y antigénicamente (Dubey y Lindsay., 1996).

Causando desórdenes neuromusculares, parálisis severa y muerte en perros, abortos y morbilidad neonatal en ganado bovino lechero y de carne, ovejas, cabras, caballos, venados, y en forma experimental, se ha desarrollado en ratas, ratones, venados, ocasionando y desarrollando un cuadro clínico severo de parálisis (Dubey y Lindsay. , 1996).

Debido a la alta prevalencia de *N. caninum*, hoy en día se ha convertido en una importante causa de abortos en bovinos y otros animales, por la cual ahora la neosporosis se ha reconocido como una enfermedad económicamente importante y con un considerable impacto en la industria ganadera en varios países (Dubey y Lindsay., 1996, Thurmond 1996).

En la cual ha emergido como una enfermedad de cuidado desde que se le asoció por primera vez con un brote de abortos en 1987 en Nuevo México, USA. A partir de esa fecha, ha habido reportes de *N. caninum* en California y en casi toda la Unión Americana en donde se ha confirmado a esta enfermedad como una fuente importante de abortos, particularmente en ganado lechero. La enfermedad está distribuida en casi todo el mundo (Dubey et al., 1999).

ANTECEDENTES

Históricamente Bjerkas fue el primero en reconocer una enfermedad neurológica en perros en Noruega asociada con *Toxoplasma gondii*, se puede decir que así comenzó la investigación de la neosporosis (Bjerkas et al., 1984).

El hecho notable de esa investigación es que al realizar estudios serológicos en búsqueda de anticuerpos *anti-toxoplasma gondii* estos no fueron encontrados afectando a este grupo de animales, y menos los parásitos encontrados afectando a los perros no resultaron ser infectivos para los ratones (Bjerkas et al., 1984)..

La Neosporosis no es una nueva enfermedad, estudios retrospectivo hechos, muestran que una severa enfermedad debido a *N. caninum* fue encontrada en un grupo de perros en los Estados unidos de Norteamérica en 1957, pero fue mal diagnosticada y confundida con *Toxoplasma gondii*. (Dubey et al. 1990). Más adelante se reconoce el rol que juega el parásito de *N. caninum* como una de las causas de aborto bovino en todo el mundo (Thilsted y Dubey 1989., Anderson et al, 1991., Barr et al, 1993).

Bjerkas y Dubey (1991) compararon estructural y antigénicamente los parásitos encontrados de perros de Noruega y Estados Unidos, previa preparación de un aislado de taquizoitos y un antisuero policlonal que fue usado en técnicas inmunohistoquímicas (IFAT) en tejidos fijados en formalina y tratadas con peroxidasa, y llegaron a la conclusión que ambos parásitos eran *Neospora caninum*.

En cuanto al estudio de esta enfermedad en la primera década existen una gran cantidad de trabajos publicados por diferentes investigadores realizados en diferentes lugares y países (tabla 1)

Tabla 1. Historia de *Neospora caninum* y Neosporosis

CONTRIBUCIÓN	REFERENCIA
Primera vez que la enfermedad es reconocida, pero no nombrada	Bjerkás et al., 1984.
Nuevo genero <i>Neospora</i> y el tipo de especie <i>N. caninum</i> propuesto para el protozoario de perros en los EUA.	Dubey et al., 1988.
<i>Neospora caninum</i> aislado son considerados en cultivos celulares y en ratones y los postulados de Koch's se pudieron comprobar	Dubey et al., 1988.
Prueba indirecta de Anticuerpos fluorescentes desarrollada para el diagnostico sexológico de Neosporosis	Dubey et al., 1988.
Prueba inmunohistoquímica para identificar <i>Neospora</i> en los tejidos	Lindsay y Dubey., 1989.
Neosporosis identificada como causa de abortos en ganado lechero	Thilsted y Dubey., 1989.
Transmisión transplacental inducida de <i>N. caninum</i> inducida en Perros, gatos ovejas y ganado.	Dubey y Lindsay., 1989.
Modelo experimental para Neosporosis desarrollado en ratas y ratones	Lindsay y Dubey., 1989.
Droga químicas probadas como quimioterapia para Neosporosis	Lindsay y Dubey., 1989.
Parásitos de perros Noruegos identificados como <i>Neospora caninum</i>	Bjerkás y Dubey., 1991.
Neosporosis reconocida como la mayor causa de abortos bovinos en Lecherías de California. USA.	Anderson et al. 1991. Barr et al., 1991.
<i>Neospora</i> Aislada de fetos abortados de bovinos y enfermedad Inducida en ganado con el aislado bovino.	Conrad et al., 1993. Barr et al., 1994.
<i>Neospora caninum</i> muestra ser una común infección asintomática en ganado lechero.	Paré et al., 1994.
ELISA desarrollada para él diagnostico de neosporosis en perros y ganado	Bjorkman et al., 1994. Pare et al., 1996. Lady et al., 1996.
Primera proteína recombinante de <i>N. caninum</i> producida para diagnostico.	
Prueba de aglutinación directa desarrollada para el diagnostico de La Neosporosis en varios huéspedes.	Romand et al., 1998. Pakham et al., 1998.
<i>Neospora hughesi</i> propuesta como una especie distinta para equinos	
Aislado de <i>Neospora</i> basado en diferencias moleculares	Marsh et al., 1998.
Aislados de bovinos y de caninos el mismo organismo	Marsh et al., 1998.
El perro identificado como un huésped definitivo para <i>N. caninum</i> .	McAllister et al., 1998.

El presente estudio hace una mención de los eventos que ocurrieron en la primera década de investigación de esta enfermedad 1988-1998, en donde se puede apreciar que se le da mas énfasis a la prevalencia de esta enfermedad en varias partes del mundo y no fue hasta los inicios de la segunda década, que los estudios de esta enfermedad se fueron ampliando en diversos campos.

Sobre todo en la respuesta inmune, el empleo y purificación de antígenos inmunodominantes de taquizoitos de *Neospora*, como herramienta biológica para el uso y fabricación de vacunas pero estos temas serán cubiertos en la continuación de la segunda década de investigación de esta enfermedad.

TAXONOMIA

Neospora caninum es un protozoo perteneciente a:

- Protozoo del *Phylum apicomplexa*,
- Familia *Sarcocystidae* o *toxoplasmatinae*
- *Neospora caninum*
- *Neospora hughesi*

Morfológicamente similar a *Toxoplasma gondii*.
(Dubey y Lindsay 1996., Bjerkas 1984.,)

CICLO BIOLÓGICO

Una vez diagnosticada la neosporosis como causa de abortos en ganado lechero, fue necesario emprender la búsqueda para lograr esclarecer el ciclo biológico de este parásito, y no fue hasta que McAllister (1998) y colaboradores ponía en evidencia que el perro era el huésped definitivo de *Neospora caninum*, sin embargo en la biología completa del parásito participan también, Dubey J. P., Lindsay D. S., Jolly W. R., Willis R. A., McGuire A. M.

Lindsay D.S, Dubey J.P, Duncan R.B (1999). Basso et al., (2001). Dubey et al., (2002). Realizan la confirmación que el perro es el huésped definitivo de *Neospora caninum*.

El ciclo de vida es tipificado por tres etapas de infección, los Taquizooitos, los quistes en los tejidos y los occistos, los taquizooitos y los quistes en los tejidos son las etapas encontradas en el huésped intermediario y esto ocurre intracelularmente. (Dubey et al., 2002).

Sin embargo aun persisten interrogantes para cada una de sus etapas, en dos revisiones, realizadas por Dubey J. P. (1996 y 1999). El primero de *Neospora* y neosporosis y el segundo de Recientes avances de *Neospora* y neosporosis, en donde se hace énfasis al ciclo biológico y a la biología general del parásito (Figura 1).

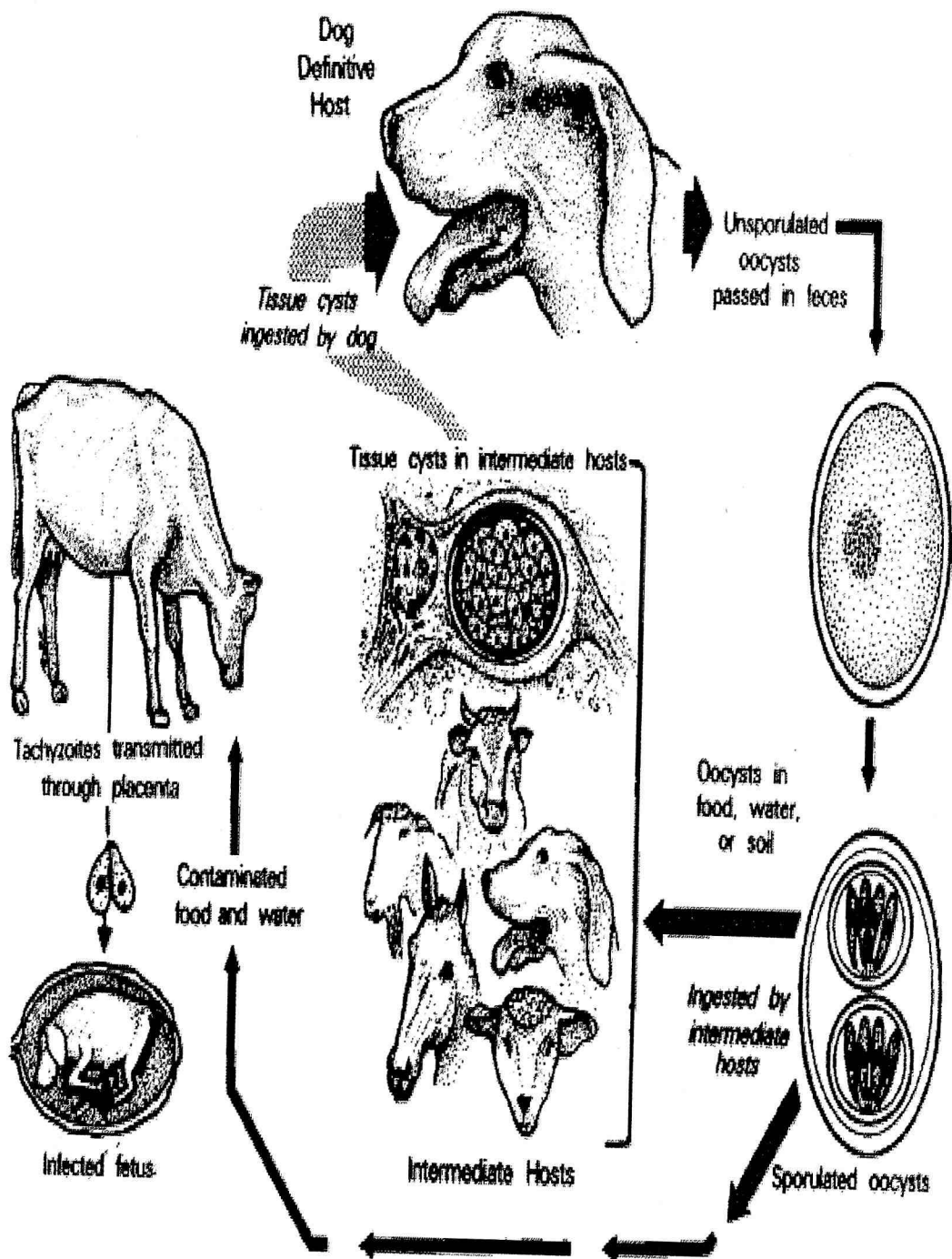


figura 1. Ciclo Biológico de *Neospora caninum* (Dubey J. P. 2003)

TRANSMISIÓN

Se conoce muy poco sobre el modo de distribución en los tejidos de animales transmitidos naturalmente con *Neospora caninum* el parásito puede ser transmitido transplacentariamente en gran número y la forma vertical es el principal modo de transmisión en el ganado. Los carnívoros pueden adquirir la infección con tejidos infectados (McAllister et al., 1998; Lindsay et al., 1999a, 1999b; Dijkstra et al., 2002; Schares et al., 2001; Gondim et al., 2002).

Epidemiológicamente es muy importante identificar los oocistos de *N. Caninum* en las heces del perro. La examinación microscópica no sería suficiente para identificar los oocistos de *N. Caninum* en las heces de perros. Se han desarrollado métodos para distinguir genéticamente los oocistos de *N. Caninum* de los oocistos de *H. heydorni* (Hill et al., 2001; Slapeta et al., 2002).

Los oocistos de *N. Caninum* se identificaron en heces de solo dos perros naturalmente infectados (Basso et al., 2001a; Slapeta et al., 2002).

En el perro doméstico, los oocistos sin esporular de perros infectados experimentalmente miden aproximadamente 11.7 X 11.3 μm y 10.6 X 12.4 μm de tamaño (Lindsay et al., 1999).

La pared del quiste en los tejidos es de aproximadamente 4 μm , y los bradizooitos encerrados son de 7-8 X 2 μm (Figura 2).

Algunos quistes de pared de aproximadamente de 0.3-1.0 μm Han sido reportados en músculos de ganado y de perros infectados naturalmente con *Neospora caninum* (Peters et al., 2001).

Pero este tipo de quiste de tejido intramuscular no ha sido encontrado en animales infectados experimentalmente (Dubey et al., 2002).

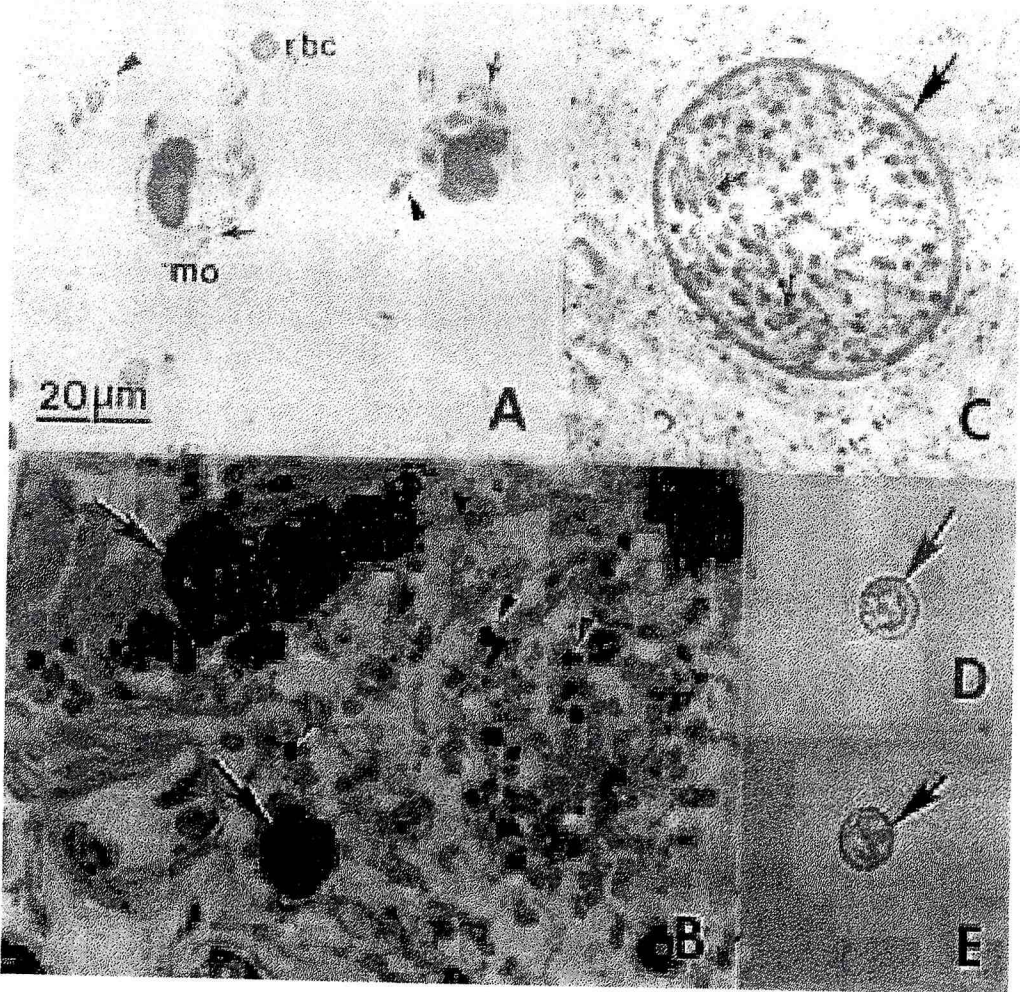


Figura 2. Quistes de *Neospora caninum*

Los taquizoositos son de aproximadamente de 6X2 μm , los quistes en los tejidos son ovalados o redondos de aproximadamente de 107 μm de largo y son encontrados en forma primaria en el sistema nervioso central.

En dos revisiones, realizadas por Dubey J. P. (1996 y 1999). La primera de *Neospora* y neosporosis y la segunda de Recientes avances de *Neospora* y neosporosis, en donde se hace énfasis al ciclo biológico y a la biología general del parásito, especialmente se reportan los estudios realizados de la descripción de su estructura, la relación que tienen estructuralmente con otros protozoarios relacionados genéticamente como son *Hamondia heydorni*, *Toxoplasma gondii* y *Hamondia hammondi*.

Neospora caninum y *Toxoplasma gondii* son estructural, genética y antigenicamente muy relacionados en estudios realizados determinan que se requiere tomar una serie de precauciones al hacer generalizaciones basadas sobre la biología de *T. gondii* y relacionarlas con *N. caninum*.

Ambos parásitos inducen biológicamente distintas enfermedades por ejemplo: *T. gondii* no causa una enfermedad clínica en ganado y la repetición congénita por toxoplasmosis en animales y otros roedores es rara (McAllister et al., 1996; Lindsay et al., 1998).

SIGNOS

Neospora caninum causa abortos tanto en ganado lechero y carne. Vacas de cierta edad abortan desde el tercer mes al termino de la gestación. Mientras que en la neosporosis inducida los abortos ocurren en el quinto al sexto mes de gestación. Los fetos pueden morir en el útero, ser absorbidos, momificados o autolisados (Anderson 1995., Angerholm et al., 1997)

Neospora caninum induce abortos y nacimiento de crías muertas o enfermas en ganado lechero y ganado de carne, aproximadamente el 25% de los abortos en California, y del ganado de carne en Holanda son Atribuibles a infecciones de *N. caninum* (Anderson et al., 1991).

Los abortos se pueden presentar en el transcurso de todo el año y la misma tasa de abortos en ganado estabulado en California y en ganado en pastoreo en Holanda son casi la misma, la edad media del tiempo de aborto esta entre el 5 y 6 mes de gestación.

Puede haber nacimientos con signos clínicos o normales, pero infectado crónicamente., Vacas con anticuerpos de *N. caninum* seropositivos son más probables a abortar que las vacas seronegativas esto se aplica al ganado de leche y de carne.(Barr et al., 1991y 1993)

Los signos clínicos solo se han reportado en animales jóvenes de 2 meses de edad, *N. caninum* presenta signos neurológicos, bajos de peso o pueden nacer sin signos clínicos de la enfermedad, incapacidad para levantarse, los miembros posteriores o anteriores pueden estar flexibles o hiper extendidos, ataxia y reflejo patelar disminuido (Anderson 1995).

Neospora caninum puede causar severos signos clínicos en perros, y podría ser considerado en él diagnostico diferencial de algunos desordenes neurológicos en perros, especialmente en mascotas sobre todo en perros congénitamente infectados (Barber 1996) y animales salvajes, además la neosporosis clínica ha sido bien reportada en ovejas cabras, venados y caballos.

IMPACTO ECONÓMICO

Se hace mención del impacto económico como causa de aborto en la ganadería de los Estados Unidos de Norteamérica (Thurmond et al., 1996) y Australia (Ellis et al., 1997).

El valor económico de la neosporosis ha sido realizado en estudios, valorando las pérdidas económicas de la reducción de la producción lechera, la de fetos abortados y otros aspectos como son la perdidas por los abortos (Thurmond y Hietala 1997).

El impacto económico depende de los costos indirectos del valor del feto perdido y dependiendo el grado de avance de la gestación, asistencia profesional, costos asociados al diagnóstico e inseminación artificial, semen, incremento del tiempo de lactación, baja de la producción láctea, costos de reemplazamiento de vacas abortadas (Thurmond 1996).

No hay datos confiables de las pérdidas económicas debido a la neosporosis en la industria del ganado en varias partes del mundo, solo un dato confiable en California, en donde (Anderson et al., 1995) concluyen que del 20 al 43% de todos los abortos en bovinos y de 15 a 20% en Holanda son debido a *N. Caninum* (Wouda et al., 1997).

Las pérdidas económicas estimadas en California relacionadas con *N. caninum* es en una cantidad aproximada de 35 millones de dólares por año, y de acuerdo a Pare J., Thurmond et al., (1997-1999). Un aborto de media gestación fue valorado en 600 a 1000 dólares, solo en California de 1-2 millones de vacas lecheras aproximadamente 400,000 abortos podrían deberse a Neosporosis (Dubey J.P. 1999).

En Australia, las pérdidas por neosporosis son estimadas en la industria lechera en 85 millones y en la industria del ganado de carne en 25 millones de dólares anuales.

Sin embargo estas cifras son estimadas, y en base a esto es necesario un estudio científico para determinar la importancia económica de la neosporosis bovina.

DIAGNOSTICO

Se hace mención especial a los diversos métodos de diagnóstico que se habían realizado para la Neosporosis en esas fechas entre ellas destacan las técnicas de ELISA, IFAT, Inmunoblot, estudios histopatológicos e inmunohistoquímicos o IHC, de sus (siglas en Ingles), en cortes de tejidos en varios órganos, técnicas que fueron utilizadas con Anticuerpos policlonales y anticuerpos monoclonales (Dubey 1998; Bjorkman et al., 1994; Pare et al., 1996)

Se citan los métodos con técnicas de la utilización de proteínas recombinantes como la PCR o Polimerasa Chaín reaction (HO. et al., 1996 y 1997; Lally 1996).

Tabla 2. Diagnóstico de *Neospora caninum* asociado con abortos en ganado.

País	No. de fetos examinados	Porcentaje infectados	Referencias
Argentina	240	12.1	Moore et al. (2002)
Australia	729	21.0	Boulton et al. (1995)
Brazil	46	39.1	Corbellini et al. (2002)
Germania	135	12.6	Sondgen et al. (2001)
México	211	77	Morales et al. (2001)
Suiza	242	21.0	Sager et al. (2001)
U.S.A.	698	24.4	Anderson et al. (1991)
U.S.A.	266	42.5	Anderson et al. (1995)

SEROPREVALENCIA

Los modelos de investigación para la medición de la respuesta inmune en la primera década de 1988 a 1998, se encontraban limitados, por no haber hecho estudios directos en rumiantes, esto por resultar un modelo costoso y los reactivos limitados (Harkins et al., 1998; Lunden et al., 1998 y Marks et al., 1998).

Tabla 3. Seroprevalencia de anticuerpos de *N. caninum* en animales salvajes (Dubey J. P. 2003).

Especie animal	país	No. examinados	Prueba	% positivos	Referencias
Zorro rojo (<i>Vulpes Vulpes</i>)	Bélgica	123	IFAT	78	Buxton et al. (1997a)
	Irlanda	70	IFAT	1.4	Wolfe et al. (2001)
	España	122	PCR	10.7	Almeira et al. (2002)
	Suecia	221	ELISA	0	Jakubek et al. (2001)
	Reino Unido	52	IFAT	2	Barber et al. (1997)
	Reino Unido	16	IFAT	6	Simpson et al. (1997)
Zorros Grises (<i>Urocyon cinereoargenteus</i>)	U.S.A.	26	NAT	15.4	Lindsay et al. (2001c)
Coyotes (<i>Canis latrans</i>)	U.S.A.	52	IFAT	10	Lindsay et al. (1996a)
Venados cola Blanca (<i>Odocoileus virginianus</i>)	U.S.A.	400	NAT	40.5	Dubey et al. (1999a)
		305	NAT	48	Lindsay et al. (2002) (
Australian dingos (<i>canis familiaris dingo</i>)	Australia	169	IFAT	15.9	Barber et al. (1997)
Zorro Chiloe (<i>Pseudolapex Fulvipes</i>)		2	IFAT	100	Patituci et al. (2001)
Leon (<i>panthera leo</i>)	S. Africa	18	IFAT	16.6	Cheadle et al. (1999a)
Chita (<i>Acinonyx jubatus</i>)	S. Africa	16	IFAT	6.3	Cheadle et al. (1999a)
Mapache (<i>Procyon lotor</i>)	U.S.A.	95	NAT	10	Lindsay et al. (2001b)

Tabla 4. Seroprevalencia de anticuerpos de *N. caninum* en Caballos (Dubey J. P. 2003)

País	No de animales	Prueba	Valor de corte	% de positivos	Referencia
Argentina	76	NAT	1:40	0	Dubey et al. (1999d)
Brazil	101	NAT	1:40	0	Dubey et al. (1999c)
Francia	434	NAT	1:40	23	Pitel et al. (2001)
U.S.A.	296	NAT	1:40	21.3	Dubey et al. (1999b)
	536	IFAT	1:50	11.5	Cheadle et al. (1999d)
	208	IFAT	1:100	17	Valdeleon et al. (2001)
	300	IFAT	1:50	10	McDole et al. (2002)
korea del sur	191	IFAT	1:100	2	Gupta et al. (2002)

- a) NAT = Prueba de Aglutinación de *Neospora*
 b) IFAT = Prueba de inmunofluorescencia

PREVALENCIA

En estudios similares de prevalencia de Anticuerpos en Isla Falkland Australia, Uruguay,, Italia, Japón, Kenya, Tanzania, Suecia, Inglaterra, Bélgica, Nueva Zelanda y Dinamarca, fueron entre un rango de 0% a 22% por IFAT con títulos de 1:50 (Trees et al., 1993; Bjorkman et al., 1994; Cringoli et al., 1996; Rasmussen y Jensen.,1996; Barber et al., 1997; Sawada et al., 1998).

En cuanto al estudio de la prevalencia de esta enfermedad en la primera década existen una gran cantidad de trabajos publicados por diferentes investigadores realizados en diferentes lugares y países en donde destacan los realizados (ver tabla 5)

Tabla 5. Prevalencia de *Neospora caninum* (Dubey J. P. 2003).

Autor	País	Año
<i>Thornton et al</i>	Nueva Zelanda	1991
<i>Wuoda</i>	Holanda	1998
<i>Campero et al</i>	Argentina	1998
<i>Duivenvoorden and Lusia</i>	Canadá	1995
<i>Paré et al</i>	Dinamarca	1998
<i>Agerholm et al</i>	Dinamarca	1997
<i>Reichel y Drake., Cox et al</i>	Nueva Zelanda	(1996
<i>Graham et al.,</i>	Reino Unido	1996
<i>Boxton et al</i>	Reino Unido	1997
<i>Davison et al</i>	Reino Unido	1997
<i>Otter y Wilson; Otter et al</i>	Reino Unido	1997
<i>Caldow et al.</i>	Reino Unido	1998
<i>Fondevilla et al.</i>	España	1998
<i>Stenlund et al.</i>	Suecia	1997
<i>Morales,S.E. et al.</i>	México	1998
<i>García Vázquez C. et al.</i>	México	2002
<i>Gennari,S:M et al.</i>	Brasil	2002
<i>(Dubey et al, Thurmond et al</i>	USA Estados Unidos	1997
<i>Paré et al. Hattel et al.</i>	USA Estados Unidos	1998
<i>Jardine y Wells</i>	Zimbabwe	1995
<i>Gondim L.F.P. et al,</i>	Brasil	1999
<i>Pumarola, M.,et al</i>	España	1996-8
<i>.Huong et al.</i>	Vietnam	1998
<i>Suteeraparp,P.S. et al.</i>	Tailandia	1999
<i>Chi,J.J.VanLeeuwen, et al.,</i>	Canadá	(2002
<i>Waldner y Henderson, et al.,</i>	Canadá	2001

AISLAMIENTO

Se menciona que el aislamiento de *Neospora* en cultivos celulares de fetos abortados es raramente posible debido a que el parásito en el organismo del feto bovino muere con autólisis de la célula huésped (Conrad et al., 1993).

Además de los métodos utilizados para el inmunodiagnóstico de la neosporosis en sueros, tejidos y fluidos fetales, han sido discutidos sus diferencias de interpretación de acuerdo a sus valores obtenidos (cut off) o valor de corte para cada una de las técnicas que utilizaron con anticuerpos mono y policlonales, además las utilizadas con IDA's o antígenos inmunodominante de taquizoositos de *Neospora caninum*.

Dubey, J. P., y Lindsay, D. S. (1988), realizaron un estudio de una infección neonatal en perros de *Neospora caninum*, en donde lograron hacer el aislamiento in Vitro del agente causal de esta enfermedad, lograron además la primera experiencia de su transmisión experimental.

En últimas fechas, existen varios estudios relacionados a la variación antigénica de varios aislados de taquizoositos de *Neospora* (ver Tabla 6). Al igual a los relacionados a los mecanismos de inmunidad y al desarrollo de inmunidad en ganado infectado experimentalmente o naturalmente con *Neospora Caninum*.

Tabla 6. Aislados de *N. caninum* en Ganado (Dubey J. P. 2003).

País	Cepa	Fuente	Referencia
Australia	NC-Nowra	7 Dias de edad	Miller et al. (2002)
Italia	NC-PVI	45 Dias de edad	Magnino et al. (1999)
Italia	NC-PGI	8 Meses de edad	Fioretti et al. (2000)
Japón	JPA-1	Terneros clínicos	Yamane et al. (1997)
Japón	BT-3	Vacas adultas	Sawada et al. (2000)
Korea	KBA-1	1 Dia de nacida	Kim et al. (2000)
Korea	KBA-2	Fetos	Kim et al. (2000)
Portugal	NC-Porto1	Fetos	Canada et al. (2002)
Suecia	NC-Sweb1	Nacidas	Stenlund et al. (1997)
Reino unido	NC-LivB1	Nacimiento silencioso	Davison et al. (1999)
Reino unido	NC-LivB2	Fetos	Trees and Williams et al. (2000)
USA	BP-1	Fetos	Conrad et al. (1993)
USA	BP-2	Fetos	Conrad et al. (1993)
USA	BP-3	Terneros clínicos	Barr et al. (1993)
USA	BP-4	Terneros clínicos	Barr et al. (1993)
USA	NC-Beef	Terneros clínicos	McAllister et al. (2000)
USA	NC-Illinois	Terneros clínicos	Gondim et al. (2002)

NEOSPOROSIS CANINA

En pruebas serológicas aplicadas en Japón, se reporta una alta prevalencia de infecciones por *N. caninum* en perros en establos lecheros con abortos de 31% de 48 perros, comparado con los de áreas urbanas 7% de 198 (Swada et al., 1998) se utilizo la técnica de IFAT, con una dilución de los sueros a 1:50.

En un muestreo más amplio (Barber et al., 1997) en 1554 perros de 3 continentes se realizo un estudio para detectar anticuerpos de *N. caninum* por las técnicas de IFAT con una dilución de sueros a 1:50 la seroprevalencia fueron 9% de 45 perros en Australia; 20% de 414 perros en Uruguay, Sudamérica; 0.2% de 500 perros de Isla Falkland y 0% de 140 perros de Kenya (Barber et al., 1997).

En algunos estudios se reporta anticuerpos de *N. caninum* en 11% de 300 perros de Bélgica (Barber et al., 1997), El 22% de 200 perros de Nueva Zelanda (Raichel et al., 1998) y el 29% de 194 perros en Italia (Cringoli et al., 1996) todas con técnicas de IFAT.

Un estudio de prevalencia de infección subclínica de Neosporosis en una población de perros urbanos en Inglaterra fue realizado, obteniéndose 27 de 167 perros positivos (16.6%) a Anticuerpos de *Neospora caninum* (Trees et al., 1993) y en Estados Unidos 22% fueron positivos de 229 perros y zorros grises examinados (Lindsay et al., 2001).

Tabla 7. Aislados reconocidos de *Neospora caninum* en perros (Dubey J. P. 2003).

Cepa	País	Referencia
NC-6- Argentina(a)	Argentina	Basso et al. (2001a)
NC-Bahia (b)	Brazil	Gondim et al. (2002)
NC-GER1(b)	Germania	Peters et al. (2000)
NC-liv (b)	Reino unido	Barber et al. (1995)
NC-1(b)	USA	Dubey et al. (1988b)
NC-2(b)	USA	Hay et al. (1990)
NC-3(b)	USA	Cuddon et al. (1992)
NC-4(b)	USA	Dubey et al. (1988a)
NC-5(b)	USA	Dubey et al. (1988a)
CN-1	USA	Marsh et al. (1998)

a).- Aislado de heces de perro.

b).- Aislado de tejidos infectados congénitamente

INFECCIONES CONGÉNITAS EN PERROS

Reportes indican que la mayor parte de casos clínicos de Neosporosis en los perros fueron congénitamente infectados en los animales jóvenes (Barber et al., 1996, Barber y Trees 1996, Little 1996; Longshore 1996; Pumarola et al., 1996; Rasmussen y Jensen 1996; Patitucci et al., 1997; Weissenbock et al., 1997, Barber y Trees 1998; Dubey et al., 1998b; Koudela et al., 1998; Pasquali et al., 1998, Raichel et al., 1998).

Una inusual presentación de neosporosis clínica es la dermatitis, que es reportada en perros adultos (Dubey et al., 1998a y 1995; Fritz et al., 1997; Per et al., 1998; Poli et al., 1998). Una observación en estos casos es un severo parasitismo con un buen número de taquizoitos presente en varios músculos y otros órganos

Existen varios reportes para observar los diagnósticos serológicos y tratamientos de perros infectados.

Las sulfonamidas, la pyrimetamina y el clindamycin son las drogas que podrían o pueden ser utilizadas en el tratamiento de la Neosporosis canina (Dubey et al., 1995, Barber y Trees 1996).

El Decoquinato un anticoccidial, mata los taquizoitos de *N. caninum* en cultivos celulares (Lindsay et al., 1997).

La Artemisina en concentraciones de 20,10, 1, 0.1, y 0.01 µg/ml a dado diferentes resultados en taquizoitos en cultivo de células pero reduciendo por completo las muestras de los cultivos en dosis de 20 y 10 µg/ml en 14 días. (Jong Tai Kim et al., 2001).

El Depudecin es otro fármaco que ha mostrado en experimentación diversos grados de eficacia (Kwon H. J., Kim J. H., Jong Yeol P. et al., 2003), hasta la fecha no hay una droga efectiva para tratar los quistes en los tejidos.

A pesar de que los taquizoositos de *Neospora caninum* pueden ser encontrados en varios órganos, solo en el SNC se encuentran enquistados, con esto nos está indicando que no existen medicamentos que maten a los quistes de *Neospora caninum* en este sitio. (Barber 1996)

La determinación de anticuerpos de *N. caninum* en suero puede ayudar al diagnóstico. La IFAT ha sido bien usada para el diagnóstico de la neosporosis canina con altos títulos (<1:800) indicando una aguda infección (Barber y Trees 1996).

Debe hacerse énfasis que los títulos altos (1:12,800) persistieron por 4 años en perros (Barber y Trees 1998) y neosporosis clínicas verificadas por histopatología y por aislamiento del parásito fue diagnosticada en 2 perros con títulos serológicos en IFAT (<1:50) (Dubey et al 1998b). Existe poca información de producción de IgM en perros infectados post-natalmente.

CONTROL Y PREVENCIÓN

Las vacunas en desarrollo, aún muestran dificultades para inducir inmunidad protectora en vacas. Por tanto las recomendaciones para el control y prevención serán:

- Eliminación gradual de animales seropositivos
- Comenzar con las vacas que hayan abortado anteriormente
- Las vacas seropositivas que no puedan ser eliminadas deberían ser inseminadas con razas de aptitud cárnica.
- Diagnosticar correctamente los abortos, pues se puede tener crianzas con alta seroprevalencia y alto número de abortos, en los que *Neospora* coexiste con otros patógenos causantes de abortos: Diarrea viral bovina, *Brucella abortus*, *Leptospira* y Herpes bovino Tipo 1.

Control de la transmisión vertical

- Controlar serológicamente a las hembras para reposición, tanto las nacidas en el hato, como a las adquiridas a otros ganaderos.
- Dejar para reposición sólo terneras nacidas de vacas seronegativas.
- Si se utiliza transplante de embriones, comprobar que las receptoras sean seronegativas.

Control de la transmisión horizontal

- Evitar el acceso de perros y otros carnívoros a los recintos ganaderos, especialmente a los almacenes de alimentos, para evitar la contaminación fecal.
- Rápida eliminación de placentas, fetos abortados y animales muertos para evitar su ingestión por carnívoros.
- Desinfección de los materiales contaminados por el aborto.

CONCLUSIONES

Se puede opinar que hacer conclusiones sería muy prematuro; los estudios de esta enfermedad continúan en diversos campos de investigación en la segunda década. En la revisión de literatura se puede encontrar más de 880 artículos, de los cuales a los que se le da más prioridad es a la purificación de proteínas de taquizoitos de *Neospora*, al uso de sondas moleculares para ser aplicada en diagnóstico con técnicas de PCR, en sus estudios de medicamentos hay avances pero no conclusiones.

Otro enfoque en este sentido es el hecho de la prevalencia y de la sobrevivencia de los oocistos de *N. caninum* en la naturaleza, que sigue siendo todavía desconocida.

¿Cuánto ganado enfermo se encuentra actualmente? Es un enigma, ya que la prevalencia sigue en aumento en varios países, aún en los que ya se han aplicado vacunaciones.

La búsqueda de información e investigación para las etapas endógenas del desarrollo de los oocistos en el intestino del perro y el entendimiento de los mecanismos de inmunidad en los animales re infectados con heces fecales con oocistos, todavía se encuentran en experimentación, para esto será necesario desarrollar estrategias para prevenir la contaminación ambiental con los oocistos de *Neospora*.

La epidemiología y su control son las metas en las áreas de investigación para el nuevo milenio.

LITERATURA CITADA

- 1.- Anderson M. L., Blanchard P. C., Barr B. C., Dubey J. P., Hoffmann R. L., Conrad P. A. (1991) Neospora-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 198: 241-244.
- 2.- Anderson M. L., Palmer C. W., Thurmond M. C. et al. (1995) Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 207: 1206-1210.
- 3.- Agerholm J. S., Willadsen C. M., Nielsen T. K., Giese S. B., Holm E., Jensen L., Agger J. F. (1997). Diagnostic studies of abortion in Danish dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 198: 241-244.
- 4.- Barber J. S., Payne-Johnson C. E., Treo A. J. (1996). Distribution of *Neospora caninum* within central nervous system and other tissues of six dogs with clinical neosporosis. *J. Small Anim. Pract.* 37: 568-574.
- 5.- Barber J. S., Trees A. J. (1996). Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs. *Vet. Rec.* 139: 439-443.
- 6.- Barber J. S., Trees A. J., Gasser R. B., Ellis J., Reichel M. P., McMillan D. (1997a). Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in different canid populations in dogs. *J. Parasitol* 83: 1056-1058.
- 7.- Barber J. S., Van Ham L., Polis I., Trees A. J. (1997b). Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in Belgian dogs. *J. Small Anim. Pract.* 38, 15-16.
- 8.- Barber J. S., Trees A. J. (1998). Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. *Int. J. Parasitol* 28: 57-64.
- 9.- Barr B. C., Anderson M. L., Dubey J. P., Conrad P. A. (1991). Neosporalike protozoal infections associated with bovine abortions. *Vet. Pathol* 28: 110-116.
- 10.- Barr B. C., Conrad P. A., Breitmeyer R. et al. (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.
- 11.- Barr B. C., Rowe J. D., Sverlow K. W. et al. (1994). Experimental reproduction of bovine fetal *Neospora* infection and death with a bovine *Neospora* isolate. *J. Vet. Diagn. Invest.* 6:207-215.
- 12.- Basso W., Venturini M. C. et al. (2001a). First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. *J. Parasitol* 87: 612-618.

- 13.- Basso W., Venturini L., Venturini M. C. et al. (2001b). Prevalence of *Neospora caninum* infection in dogs from beef-cattle farms, dairy farms, and from urban areas of Argentina. *J Parasitol* 87: 906-907.
- 14.- Bjerkas I., Mohn S. F., Presthus J. (1984). Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z. Parasitenk* 70: 271-274.
- 15.- Bjerkas I., Dubey J. P. (1991). Evidence that *Neospora caninum* is identical to the *Toxoplasma*-like parasite of Norwegian dogs. *Acta Vet. Scand* 31:407-10.
- 16.- Bjorkman C., Lunden A., Holmdahi J., Barber J., Trees A. J., Uggla A. (1994). *Neospora caninum* in dogs: detection of antibodies by ELISA using and iscom antigen. *Parasite immunol* 1-6: 643-MS.
- 17.- Boulton J. G., Gill P. A., Cook R. W., Fraser G. C., Harper P. A. W., Dubey J. P. (1995). Bovine *Neospora* abortion in north-eastern New South Wales. *Aust. Vet. J.* 72: 119-120.
- 18.- Conrad P. A., Barr B. C., Sverlow K. W. et al. (1993). In vitro isolation and characterization of a *Neospora* sp. From aborted bovine fetuses. *Parasitology*. 106:239-49.
- 19.- Corbellini L. G., Driemeier D., Cruz C. F. E., Gondim L. F. P., Wald V. (2002). Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Vet. Parasitol* 103:195-202.
- 20.- Cringoli G., Capuano F., Vncnziano Y., Romano L., Solimene R., Barber J. S., Trees A. J. (1996). Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* in dog. *Sera Parassitologia* 38: 282.
- 21.- Dijkstra T (2002). Horizontal and vertical transmission of *Neospora caninum*. PhD Thesis, Univ. Utrecht, The Netherlands, 1-140
- 22.- Dubey J. P., Hattel A. L., Lindsay D. S., Topper M. J., (1988). Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 193:1259-1263.
- 23.- Dubey J. P., Lindsay D. S. (1989). Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 50:1578-1579.
- 24.- Dubey J. P., Lindsay D. S. (1989). Transplacental *Neospora caninum* infection in cats. *J. Parasitol.* 75:765-771.
- 25.- Dubey J. P., Koestner A., Piper R.C. (1990). Repeated transplacental transmission of *Neospora caninum* in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 197:857-860.

- 26.- Dubey J. P., Metzger F. L. G., Hatici A. L., Lindsay D. S., Fritz D. L. (1995). Canine cutaneous neosporosis: clinical improvement with clindamycin. *Vet. Dermatol.* 6:37-43.
- 27.- Dubey J. P., Lindsay D. S. (1996). A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol* 67:1-59.
- 28.- Dubey J. P., Garpenter J. I., Speer G. A., Topper M. J., Uggla A. (1998). Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 192:1269-1285.
- 29.- Dubey J. P., Dorrough K. R., Jenkins M. C. et al. (1998a). Canine neosporosis: clinical signs, diagnosis, treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. *Int. J. Parasitol* 28:1293-1304.
- 30.- Dubey J. P., Romand S., Hilali M., Kwok O. C. H., Thuilliez P. (1998b). Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Egypt. *Int. J. Parasitol.* 28:527-529.
- 31.- Dubey J. P., Hollis K., Romand S. et al. (1999). High prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Int. J. Parasitol* 29:1709-1711.
- 32.- Dubey J. P., (1999). Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Veterinary Parasitologi* 84:349-367
- 33.- Dubey J. P., Barr B. C., Barta J. R. et al. (2002). Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *Int. J. Parasitol* 32:929-946.
- 34.- Dubey J. p., (2003). Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Journal of parasitology* 41;1:1-16.
- 35.- Fritz D., Ocorge C., Dubey J. P., Trees A. J., Barber S., Hopfner C. L., Mehaut S., Le Net J. L., Longeart L. (1997). *Neospora caninum*: associated nodular dermatitis in a middle-aged dog. *Canine pract.* 22:21-24.
- 36.- Gondim L. F. P., Gao L., McAllister M. M. (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.
- 37.- Harkins D., Clements D. N., Maley S., Marks J., Wright S., Esteban T. E. A., Buxton D. (1998). Western blot analysis of the IgG responses of ruminants infected with *Neospora caninum* and with *Toxoplasma gondii*. *J. Comp. Pathol.* 119:45-55.

- 38.- Hill D. E., Liddell S., Jenkins M. C. Dubey J. P. (2001). Specific detection of *Neospora Caninum* oocyst in fecal samples from experimentally-infected dogs using the polymerase chain reaction. *J. Parasitol* 87:395-398.
- 39.- Ho M. S. Y., Barr B. C., Marsh A. E., Anderson M. L., Rowe J. D., Taranta A. F., Hendrickx A. G., Syerlow K., Dubey J. P., Conrad P. A. (1996). Identification of bovine *Neospora* parasites by PCR amplification and specific small subunit rRNA sequence probe hybridization. *J. Clin. Microbiol.* 34:1203-1208.
- 40.- Ho M. S. Y., Barr B. C., Marsh A. E., Anderson M. L., Rowe J. D., Sverlow K. W., Packham A., Conrad P. A., (1997a). Detection *Neospora* sp. from infected bovine tissues by PCR an probe hybridization. *J. Parasitol.* 83:508-514.
- 41.- Jong Tai Kim et al., (2001). In Vitro Antiprotozoal effects of artemisinin on *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*, vol. 103:1-2-53-63
- 42.- Koudela B., Svoboda M., Bjorkman C., Uggla A. (1998). Neosporosis in dogs: The first case report in the Czeeh Republic. *Vet. Med. Czeeh* 43:51-54.
- 43.- Kwon H. J., Kim J. H., Kim M., Lee J. K., Hwang W. S., kim D.Y. (2003). New drugs an Neosporosis. *Vet. parasitol* 112:269-276
- 44.- Lally N. C., Jenkins M. C., Dubey J. P. (1996). Development of a polymerasa chain reaction assay for the diagnosis of neosporosis using by neospora caninum. 14-3-3 gene. *Mol. Biochem. Parasitol* 75:169-178.
- 45.- Lindsay D. S., Dubey J. P. (1989). Immunohistoshemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. *Am. J. Vet. Res.* 50:1981-1983.
- 46.- Lindsay D. S., Butler M., Biagbum B. L. (1997). Efficacy of decoquinat against *Neospora caninum* tachyzoites in cell cultures. *Vet. Parasitol* 68:35-40.
- 47.- Lindsay D. S., Lenz S. D., Dykstra C. C., Biagbum B. L., Dubey J. P. (1998). Vaccination of mice with neospora caninum: response to oral challenge with *Toxoplasma gondii* oocysts. *J. Parasitol* 84:311-331.
- 48.- Lindsay D. S., Dubey J. P., Duncan R. B. (1999a). Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol* 82:327-333.
- 49.- Lindsay D. S., Weston J. L., Little S. E. (2001c). Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in gray foxes (*Urocyon cinereoargenteus*) from South Carolina. *Vet. Parasitol* 97:159-164.
- 50.- Little P. B. (1996). Central nervous system rendezvous: canine progressive posyerior paresis. *Can. Vet. J.* 37:55-56.

- 51.- Longshore R. C. (1996). What is your neurologic diagnosis? *Neospora caninum*-induced myositis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 208:667-668.
- 52.- Lunden A., Marks J., Maley S. W., Tonos E. A. (1998). cellular immune responses in cattle experimentally infected with *Neospora caninum*. *Parasite Immunol.* 20:519-526.
- 53.- Marks J., Lunden A., Harkins D., Innes E. (1998). Identification of *Neospora* antigens recognized by CD4 + T cells and immune sera from experimentally infected cattle. *Parasite Immunol.* 20:1-7.
- 54.- McAllister M. M., Parrnley S. F., Weiss L. M., wetch V. J., McGuire A. M. (1996) An immunohistochemical method for detecting bradyzoite antigen (BAGS) in toxoplasma gondii-infected tissues cross-reacts with a neospora caninum bradyzoite antigen. *J. Parasitol* 82:354-355.
- 55.- 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*. *Int. J. Parasitol* 28: 1473-1478.
- 56.- Morales E., Trigo F. J., Ibarra F., Puente E., Santacruz M., (2001) Neosporosis in Mexican dairy herds: Lesions and immunohistochemical detection of *Neospora caninum* in fetuses. *J Comp Pathol* 125: 58-63.
- 57.- Moore D. P., Campero C. M., Odeon A. C., et al. (2002) Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. *Vet. Parasitol* 107: 303-316.
- 58.- Patitucci A. N., Alley M. R., Jones B. R., Charleston W. A. O., (1997). Protozoal encephalomyelitis of dogs involving *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in New Zeland. *N. Z. Vet. J.* 45:231-235
- 59.- Paré J., Thurmond M. C., Hietala S. K., (1996). Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhood mortality *Can. J. Vet. Res.* 60, 133-139
- 60.- Paré J., Thurmond M. C., Hietala S. K., (1997). *Neospora caninum* in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *J. Parasitol* 83:82-87
- 61.- Pasquali P., Mandara M. T., Adamo F., Rice G., Polidori G. A., Dubey J. P., (1998). Neosporosis in a dog in Italy. *Vet. Parasitol* 77:297-299.
- 62.- Perl S., Harrus S., Satuchne (Goidvaser) C., Yacobson B., Haines D., (1998). Cutaneous neosporosis in a dog in Israel. *Vet. Parasitol* 79:257-261.

- 63.- Peters M., Lutkefels E., Heckeroth A. R., Schares G., (2001a) Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. *Int. J. Parasitol* 31: 1144-1148.
- 64.- Poli A., Mancianti F., Carli M. A., Stroschio M. C., Kramer L., (1998). *Neospora caninum* infection in a Bernese cattle dogs from Italy. *Vet. Parasitol* 78:79-85.
- 65.- Rasmussen K., Jensen, A. L., (1996). Some epidemiologic features of *caninum neosporosis* in Denmark. *Vet Parasitol*. 62:345-349.
- 66.- Reichel M. P., Thorton R. N., Morgan P. L., Mills R. J. M., Schares G., (1998) *Neosporosis* in a pup. *N. Z. Vet. J.* 46:106-110.
- 67.- Romand S., Thulliez P., Dubey J. P., (1998). Direct agglutination test for serologic diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Parasitol Res.* 84:50-53.
- 68.- Sager H., Fischer I., Furrer K. et al., (2001). A Swiss case-control study to assess *Neospora caninum*-associated bovine abortions by PCR, histopathology and serology. *Vet. Parasitol* 102:1-15.
- 69.- Sawada M., Park C. H., Kondo H. et al. (1998). Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in Japanese dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 60:853-854.
- 70.- Slapeta J. R., Modry D., Kyselova I., Horejs R., Lukes J., Koudela B (2002). Dog shedding oocyst of *Neospora caninum*: PCR diagnosis and molecular phylogenetic approach. *Vet parasitol* 109:157-167.
- 71.- Söndgen P., Peters M., Bärwald A. et al., (2001). Bovine neosporosis: immunoblot improves foetal serology. *Vet. Parasitol.* 102: 279-290.
- 72.- Schares G., Heydorn A. O., Cuppers A., Conraths F. J., Mehlorn H. (2001). *Hammondia heydorni*-like oocysts shed by a naturally infected dog and *Neospora caninum* NC-1 cannot be distinguished. *Parasitol Res* 87:808-816
- 73.- Trees A. J., F. Guy et al., (1993). Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in a population of urban dogs in England. *Vet Rec.* 132(6):125-6.
- 74.- Thilsted J. P., Dubey J. P., Duncan R. B. (1989) *Neosporosis*-like abortions in a herd of dairy cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1:205-9.
- 75.- Thurmond M. C., Hietala S. K. (1996). Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* 57:1559-1562.
- 76.- Thurmond M. C., Hietala S. K., (1997). Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first-lactation dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 210:672-674.

- 77.- Thurmond M. C., Hietala S. K., (1999). Neospora caninum infection and abortion in cattle. 4:425-431.
- 78.- Weissenbock U., Dubey J. P., Suchy A., Sturrn E., (1997). Neosporose als Ursache von Encephalomalazie und Myocarditis bei Hundewelpen. WienTierärz. Mschr. 84:233-237.
- 79.- Wouda W., Moen A. R., Visser I. J. R., Van Knapen F., (1997). Bovine fetal neosporosis: a comparison of epizootic and sporadic abortion cases and different age classes with regard to lesion severity and immunohistochemical identification of organisms in brain, heart, and liver. J Vet Diagn Invest. 9:180-185.