

Opciones para el control de la neosporosis bovina

Campero, C.M.⁽¹⁾

1. Introducción
2. Pérdidas económicas
3. Ciclo
4. Rutas de infección
5. Rol del perro y del zorro
6. Control
7. Reducir otras infecciones
8. Tratamientos
9. ¿Convivir con el problema?
10. ¿Qué ocurre con rodeos de mayor prevalencia?
11. Vacunas
12. Futuras investigaciones
13. Bibliografía

1. Introducción

Neospora caninum es un protozoo reconocido actualmente como uno de los mayores agentes causantes de abortos y fallas reproductivas en bovinos de todo el mundo⁽¹²⁾, ocasionando severas pérdidas económicas^(40,47). La prevalencia serológica de *N. caninum* en bovinos indica considerables diferencias de la infección entre países, dentro de cada país, en regiones y también entre rodeos para carne y leche⁽¹²⁾. En el bovino, la enfermedad produce abortos, natimortos y muertes neonatales⁽²⁾. En condiciones de campo, el aborto suele obser-

varse entre los 5-7 meses de gestación⁽¹³⁾. Dichos abortos pueden ser en forma de episodios importantes o bien en forma de goteo (abortos epidémicos y endémicos, respectivamente).

2. Pérdidas económicas

Entre ellas deben considerarse las relativas a los abortos, aumento de la tasa de rechazo, menor producción láctea, aumento del intervalo entre partos, caída del stock, honorarios profesionales, gastos de diagnósticos, etc. A nivel mundial dichas pérdidas fueron estimadas en un billón de US\$ anuales hasta 2,4 billones⁽⁴⁷⁾.

En nuestro país, recientes estimaciones de nuestro grupo determinaron que las pérdidas económicas anuales en dólares estadounidenses llegan a los 56,5 millones. Para dicho cálculo, se consideró la población total de hembras bovinas lecheras o para carne en riesgo potencial (1,7 y 9,7 millones de cabezas, respectivamente) (Tabla 1). Un 8% de esas hembras lecheras puede sufrir abortos por distintas causas y un 16,5% de esa proporción pueden deberse a *N. caninum*. El costo por aborto de 1.865 US\$ con una pérdida total de 43.607.430 US\$ para la industria láctea en la pampa húmeda. En ganado para carne, el riesgo de aborto se estimó en 4,5%, mientras que

(1) Académico Correspondiente, MV, DVM, PhD.

Trabajo presentado en la 1ª Jornada de Actualización Técnica en Sanidad Animal. 25 de abril de 2014. Soc. Rural Villa María, Córdoba. Laboratorio Veterinario de Enf. de la Reproducción (LAVR) y Estudio Veterinario de Reproducción Bovina (EVRB).

Recibido: 26 de Mayo de 2014.
Aceptado: 11 de Julio de 2014.
Taurus. Año 16, N°63: 4-15

Tabla 1. Pérdidas económicas estimadas por abortos por *N. caninum* en bovinos para carne y para leche de la pampa húmeda ⁽⁴⁰⁾.

Tipo	Hembras en riesgo (n)	Riesgo de aborto (%)	Riesgo de aborto por <i>N. caninum</i> (%)	Abortos por <i>N. caninum</i> (n)	Costo promedio por aborto (US\$)	Pérdidas económicas (US\$)
Leche	1.771.326	8	16,5	23.382	1.865	43.607.430
Carne	9.726.684	4,5	6,7	29.326	440	12.903.440

6,7% de esa proporción sería específicamente por *N. caninum* con una pérdida estimada en US\$ 440 por aborto, siendo la pérdida anual de US\$ 12.903.440 millones ⁽⁴⁰⁾.

3. Ciclo

En el ciclo biológico de *N. caninum* participan tres estadios diferentes: taquizoítos, quistes tisulares y ooquistes. Los estadios de taquizoítos y quistes tisulares se encuentran en forma intracelular en los hospedadores intermediarios, como el bovino, y en los definitivos, como el perro. Los taquizoítos son los responsables de la fase aguda de la infección, pueden invadir una gran variedad de células del hospedador parasitado, incluyendo macrófagos, neutrófilos, fibroblastos, miocitos, neuronas, hepatocitos, células endoteliales de los vasos sanguíneos y renales. Los taquizoítos

tienen un tamaño aproximado de 6 μm de longitud x 2 μm de ancho y poseen una morfología ovoide, globular o semilunar, dependiendo de la etapa de división en la que se encuentren. Los quistes tisulares se encuentran en el SNC de los huéspedes intermediarios y eventualmente en músculo del bovino (Diagrama 1).

El hospedador definitivo elimina ooquistes no esporulados a través de la materia fecal, los cuales luego de algunas horas en el medio ambiente, esporulan y se hacen resistentes e infectivos. Se han identificados en las heces de los siguientes hospedadores definitivos: perros, coyote, dingo y lobo gris ⁽¹²⁾. Si bien hay evidencias serológicas de exposición en animales salvajes y de zoológico, solamente se aisló *N. caninum* viable de bovino, ovino, búfalo de agua, caballo, bisonte, perro y ciervo de cola blanca ⁽¹²⁾.

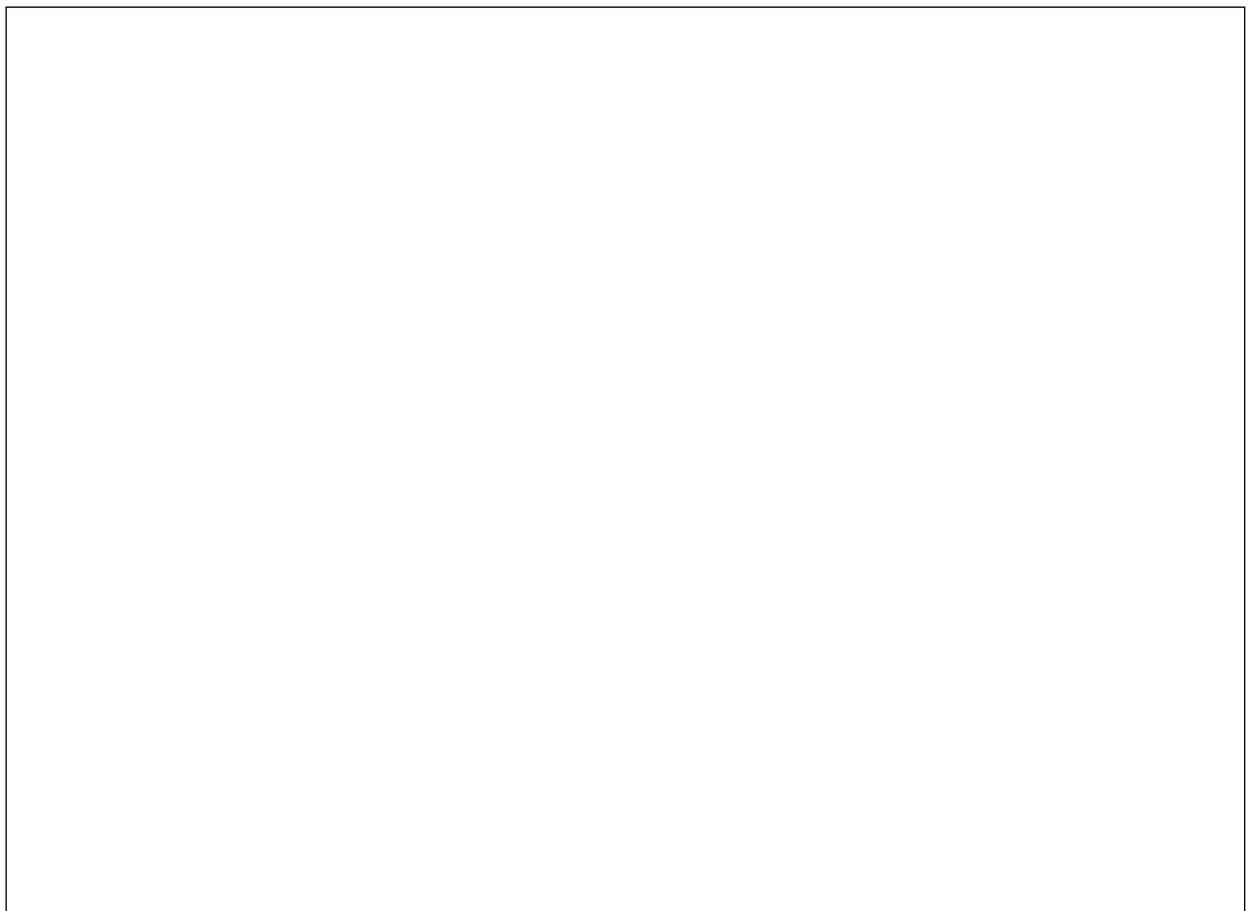
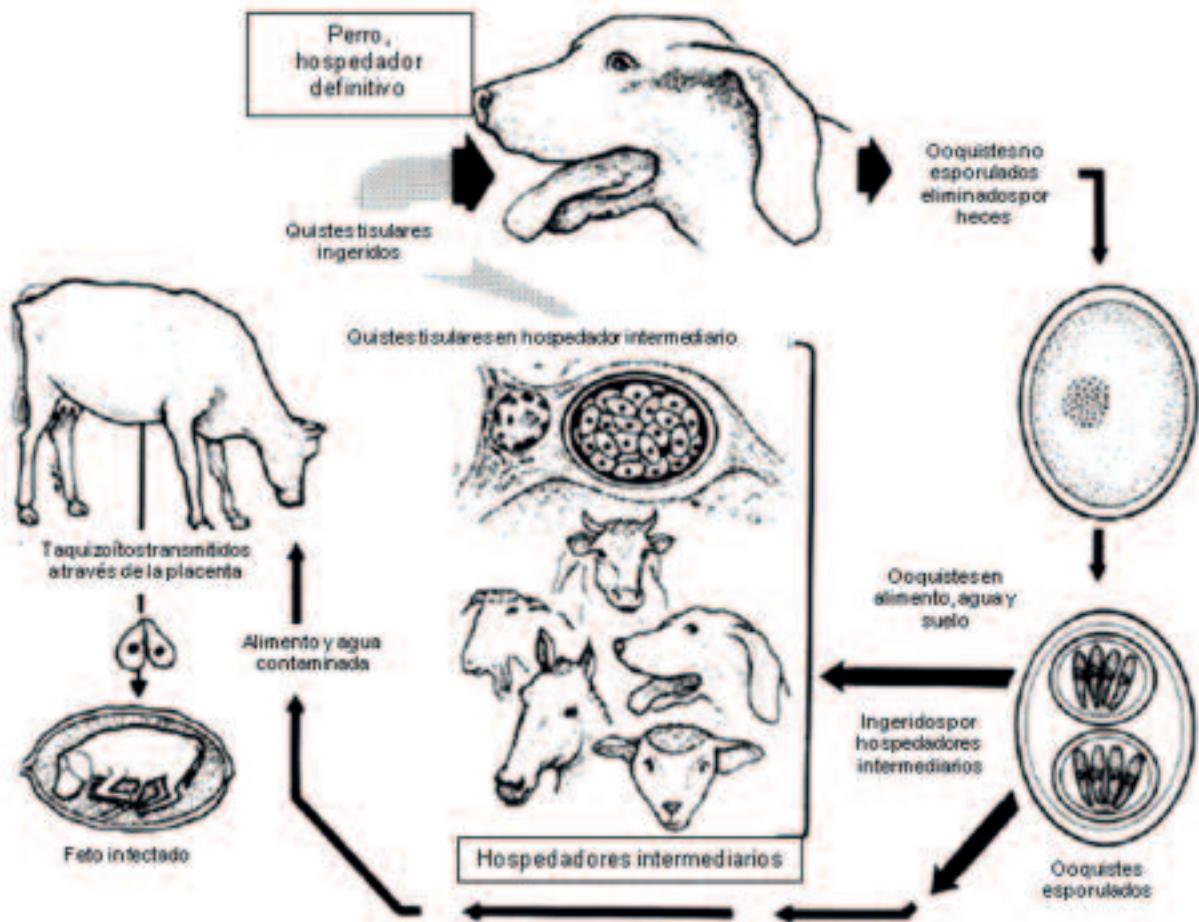


Diagrama 1. Ciclo de vida de *N. caninum* ⁽¹⁴⁾.



4. Rutas de infección

La principal ruta de infección en el bovino de *N. caninum* es la transmisión transplacentaria de la madre al feto (llamada transmisión vertical) por el pasaje de taquizoítos. Esta ruta de infección es muy efectiva variando del 48% hasta 95% ^(14, 57). La transmisión vertical es la vía principal de mantenimiento de la infección y abortos en el bovino ^(14, 62).

La otra vía, llamada transmisión horizontal, ocurre luego de la ingestión de oocistos en el alimento, agua, etc., eliminados por las heces del hospedador definitivo (perro). No se ha comprobado la transmisión horizontal de *N. caninum* de vaca a vaca y sólo la ingestión de oocistos esporulados del ambiente (pastos, granos, aguadas contaminados) es la única forma demostrada de la difusión natural de la infección post natal del bovino ⁽³⁵⁾, siendo su porcentaje menor al 10% ⁽²⁰⁾. Sin embargo, en algunos rodeos con alta prevalencia de la enfermedad se ha mencionado que esta forma de transmisión podría ser más elevada ⁽¹⁵⁾.

La seropositividad se considera que es de por vida ⁽¹¹⁾, pese a existir fluctuaciones en los anti-

cuerpos que pueden ocasionalmente inducir en algunos animales al estatus de seronegativo ⁽⁴⁵⁾. Los animales seropositivos tienen mayor riesgo de aborto, puede variar de 1,7 a 7,4, aunque el riesgo disminuye a medida que la edad aumenta y con ello la frecuencia de pariciones ^(44, 60, 70).

Se han sugerido otras vías de transmisión como la venérea y lactogénica y si bien se ha detectado ADN en la leche y calostro y se han infectado terneros neonatos por la ingestión experimental con taquizoítos ⁽⁸⁾, la infección natural de *N. caninum* por leche no ha sido demostrada ⁽¹⁰⁾. Se ha detectado ADN de *N. caninum* en el semen ⁽⁴²⁾, mientras que hembras servidas con toros experimentalmente infectados fallaron en producir seroconversión ⁽⁴³⁾, por lo que se considera de riesgo ínfimo esta vía de propagación. También la vía conjuntival fue utilizada en condiciones experimentales por nuestro grupo ⁽⁹⁾, sin que se haya comprobado la transmisión vertical por esta vía de infección ⁽³⁷⁾.

La infección fetal en el último tercio de la gestación suele dar origen a crías clínicamente normales pero congénitamente infectadas ^(17, 25, 68).

5. Rol del perro y del zorro

Sin duda que el perro es un factor de riesgo y una parte importante en la cadena epidemiológica de la neosporosis bovina. Usualmente el perro y otros cánidos se infectan consumiendo carne de bovino infectado e inician la eliminación de ooquistes aproximadamente una semana después ⁽¹⁶⁾. El número de ooquistes producidos y eliminados por el perro es variable, dependiendo de la carga parasitaria que haya tenido el tejido del bovino infectado. Sin embargo, en condiciones experimentales se observó que los perros eliminaban mayor cantidad de quistes al ingerir tejidos de ratones experimentalmente infectados ^(16, 52). Los ooquistes para ser infectantes deben estar esporulados ⁽³³⁾, lo cual ocurre luego de varias horas de exposición al medio. Un trabajo coparazitológico de relevancia realizado en Alemania comprobó que la concentración de ooquistes de *N. caninum* eliminados por las heces de perros en una muestra son muy variables pudiendo estar en el rango de solo 7 hasta más de 24.000 ⁽⁵⁸⁾. Los cachorros producen mayor cantidad de ooquistes que los adultos ⁽¹⁸⁾ y luego de la primoinfección, existe un período en el cual los perros resultaron refractarios a la eliminación de ooquistes por heces

durante 8 a 18 meses. Los perros no siempre seroconvierten a la infección, pueden también volver al estatus de seronegativo a pesar de eliminar ooquistes en sus heces ^(6, 33).

Los zorros (*Vulpes vulpes*) puede que resulten hospedadores definitivos y si bien no está comprobado ⁽⁶⁵⁾, se los ha identificado como un factor de riesgo para *N. caninum* asociándolos a la infección/abortos en el bovino ⁽⁵⁶⁾.

6. Control

Se podría resumir en tres, las principales áreas vinculantes al control de la enfermedad: estrategias de manejo, quimioterapia y vacunación ⁽⁵⁰⁾.

Las medidas de manejo que evitan la introducción de la infección con *N. caninum* en rodeos libres deben ser mantenidas celosamente.

En los rodeos infectados, el programa de control se basa en controlar la transmisión vertical de la enfermedad, disminuyendo el número de animales seropositivos y/o el riesgo de la transmisión horizontal controlando la población de perros y limitando su acceso a las fuentes de alimentos y aguadas para evitar la presencia de los ooquistes en el medio ⁽¹⁴⁾.

El sangrado de las terneras y vaquillonas post destete, preservicio o compra condicionada, debería ser cumplido a rajatabla, a los efectos de no ingresar animales positivos en los rodeos negativos o bien no incrementar la seropositividad en aquellos rodeos que tienen el problema. También es aconsejable reponer con hijas seronegativas provenientes de vacas seronegativas. La faena de los animales seropositivos puede ser viable si la seroprevalencia del rodeo es baja, caso contrario es económicamente no viable. Las vacas abortadas deberían eliminarse del sistema o incluirlas en la lista de refugio.

Las vacas lecheras seropositivas pueden ser inseminadas con semen de toros para carne, asegurando que la F1 no vuelva al sistema productivo y disminuyendo el riesgo de aborto, aunque limita la reposición.

La IA con semen sexado en vacas lecheras seronegativas ayudaría a mejorar el índice de reposición de hembras. La transferencia embrionaria en hembras seropositivas de valor genético es una opción válida toda vez que la hembra receptora resulte seronegativa ^(1, 4, 27).

De todas formas, en áreas con alta seroprevalencia resulta difícil establecer un programa de control por el limitado número de vacas de reemplazo seronegativas ⁽¹⁵⁾.

Al momento de planificar el sangrado, es muy importante considerar el “n” de animales según la prevalencia posible estimada en el rodeo y el grado de confianza de la información a obtener. Este ejercicio permitirá estimar cuantos animales se deberían sangrar para establecer primero el nivel de infección puntual del rodeo o categoría determinada (Tabla 2).

Tabla 2. Tamaño de la muestra para la detección de la enfermedad con prevalencias estimadas del 10 y 25% e intervalos de confianza del 90% y 95% ⁽³⁾.

Tamaño del rodeo (n)	Nivel de confianza (%)	Número de animales a sangrar con prevalencias del	
		10%	25%
25	90	17	8
	95	20	9
50	90	18	8
	95	22	10
100	90	20	8
	95	25	10
200	90	21	8
	95	27	11

Para ello se resalta la importancia de muestrear no solamente los animales abortados sino también aquellos del mismo lote y condición gestacional que no han abortado y de allí sacar el factor riesgo (Tablas 3 y 4).

Tabla 3. Seropositividad y estimación de Odds ratio para vacas lecheras abortadas y no abortadas en dos rodeos con abortos endémicos ⁽⁶¹⁾.

Rodeo	% seropositivas		P	Odds Ratio* (95% IC)
	Abortadas	No Abortadas		
A	50 (33/66)	23 (15/66)	0,002	3,4
B	90 (9/10)	56 (18/32)	0,05	7,0

* Para estos dos rodeos con abortos endémicos, los valores de Odds Ratio de las vacas abortadas tuvieron de 3, 4 a 7 veces mayores los anticuerpos a *N. caninum* que las vacas no abortadas, respectivamente.

Tabla 4. Cálculo de la relación de riesgo de aborto por *N. caninum* utilizando la Tabla 2x2.

Serología a <i>N. caninum</i>	Abortadas (n)	No abortadas (n)	OR del aborto*
Positivos	8	6	6
Negativos	4	12	12
Total	12	18	18

* Cálculo del valor de OR (Odds Ratio) = $(8 \times 12) / (4 \times 6) = 4.0$. En este ejemplo la probabilidad de aborto es 4 veces mayor para las vacas expuestas que para las vacas no expuestas.

7. Reducir otras infecciones

Tanto la rinotraqueitis infecciosa bovina como el virus de la diarrea viral bovina (DVB) pueden ejercer su efecto inmunosupresor en animales infectados con *N. caninum*, favoreciendo la presentación de abortos por facilitar los mecanismos de reagudización de la enfermedad, aumentando la transmisión vertical. La ausencia de DVB tendría un efecto favorable para la no presentación de casos de neosporosis ⁽⁶⁴⁾, similar observación se ha encontrado en Suiza ⁽⁴⁶⁾. En nuestro grupo de trabajo también hemos detectado casos de abortos con sinergia del herpes virus bovino 5 ⁽³²⁾.

8. Tratamientos

Trabajos experimentales *in vitro* e *in vivo* en líneas celulares y con ratones han demostrado cierta eficacia sobre taquizoítos de *N. caninum* ^(29, 30, 31). Drogas como sulfamidas y clindamicina se han usado en tratamientos de casos agudos en perros ^(2, 49, 51, 55).

Diferentes trabajos se han realizado con agentes quimioterápicos coccidiostáticos para controlar las infecciones con *N. caninum*, tales como toltrazuril y ponazuril ⁽²⁶⁾, monensina ^(63, 64) y también la combinación de sulfadiazina con trimetoprim y toltrazuril ^(5, 7). Si bien estos dos últimos trabajos mencionan resultados preliminares de interés con reducción de la tasa de abortos en vacas lecheras, existe preocupación por los posibles efectos residuales en carne y en el medio, sumado a los costos y falta de practicidad en su administración.

9. ¿Convivir con el problema?

Con bajos niveles de prevalencia de la enfermedad puede ser más caro tratar de eliminar la enfermedad que convivir con ella. En el sur de Australia, menos del 5% de los rodeos para carne y leche están infectados ⁽⁴¹⁾, con escasos rodeos con prevalencias internas mayores del 15%. Mediante el empleo de modelos económicos ⁽⁴⁸⁾ se ha sugerido que es preferible convivir con el problema que acarrear el costo de identificar individualmente los pocos animales infectados; considerando los costos (laboratorio y aranceles profesionales, costos de reemplazo, faena, etc.) con respecto a los daños que puede provocar la enfermedad en baja escala (reducción de los abortos, natimortos, y mejora en la producción lechera).

De todas formas, siempre es importante conocer cuál es la situación de nuestro rodeo para luego ver qué determinación tomar. Si no se conoce un problema no se puede controlar o eliminar.

10. ¿Qué ocurre con rodeos de mayor prevalencia?

Se debe considerar que la transmisión vertical es la ruta de infección predominante y que el riesgo de transmisión post natal es bajo para lo cual se deben seleccionar para el servicio a hembras seronegativas ^(20, 28). Con dicho esquema, los mencionados autores comprobaron la reducción de seroprevalencia, aún en rodeos con valores superiores al 50%.

Poner en la lista de venta a las vacas seropositivas sumado a otras condiciones de rechazo, bajaría el riesgo de transmisión vertical o congénita ⁽²⁰⁾ a lo cual hay que agregarles las otras medidas de control (perros, roedores, etc.) ⁽¹⁹⁾. Estos autores realizaron un estudio en rodeos de baja prevalencia durante varios años en Suecia y comprobaron que con medidas de manejo y sirviendo a hembras seronegativas y no reteniendo a la hija de vaca seropositiva, redujeron luego de 2-3 años la infección ⁽¹⁹⁾.

Otros autores sugieren que al existir hembras infectadas tienen riesgo bajo de abortos, dada la natural exposición que tienen en el medio como si se vacunaran en forma natural ^(23, 34). Este evento ocurre en los rodeos donde se mantienen estas hembras, pues se sabe que el riesgo de aborto disminuye en el tiempo en los animales infectados ^(59, 60). Sin embargo, el riesgo relativo de aborto al

comparar los animales seronegativos con aquellos seropositivos siempre es alto y mantener estas vacas en el rodeo siempre implica un riesgo de abortos para las generaciones venideras ⁽⁶⁰⁾. La eliminación de las vacas abortadas en los rodeos lecheros comerciales es una adecuada práctica sanitaria e implica minimizar la presencia de agentes patógenos y evitar que los problemas reproductivos se perpetúen.

11. Vacunas

La infección previa con *N. caninum* podría proteger contra el aborto en las siguientes preñeces ⁽³⁴⁾. El empleo de las vacunas apunta a controlar la neosporosis mediante la reducción de la transmisión vertical. Un reciente trabajo de recopilación en este tema proveniente de nuestro grupo de trabajo ha sido recientemente publicado ⁽²¹⁾.

Los diferentes productos experimentales usados como candidatos de vacuna deberían estimular la producción de IFN γ y la activación de las células CD4+ T cell.

Por el momento no existen vacunas comerciales disponibles para prevenir la infección o el aborto por *N. caninum*. La aplicación de una vacuna comercial inactivada a base de taquizoitos lisados, Neoguard, fue sacada del mercado por su baja eficacia (25%) ⁽⁶⁷⁾. Diferentes trabajos realizados con taquizoitos vivos han demostrado limitada protección, sin embargo fallaron al utilizar taquizoitos inactivados o antígeno del mismo aislamiento usado para el desafío ^(22, 66, 69). Dicha falla es factible que se haya producido por la ausencia de la multiplicación celular del parásito más que por falta de reconocimiento de antígenos presentes en la vacunación y cepa de desafío.

Las vacunas vivas demostraron ser eficaces hasta en un 100% en infecciones experimentales ^(66, 69), pero no se han traducido en productos comerciales por dificultades en la estabilidad del producto y problemas de distribución (cepas vivas atenuadas).

Diferentes estudios utilizando modelos experimentales bovinos demostraron que vacas seronegativas inoculadas con *N. caninum* previo al servicio fueron protegidas de la transmisión vertical al ser desafiadas en la mitad de la gestación ⁽²⁴⁾. La protección otorgada por la infección previa no fue específica del aislamiento. La cepa Nc-6

Argentina y la de baja virulencia Nc-Nowra⁽⁵⁶⁾ o Nc-Spain 1H⁽⁵³⁾, usadas en vacunas aplicadas previamente a la gestación, indujeron diferentes grados de protección contra el aborto y transmisión vertical luego del desafío durante la gestación con aislamientos virulentos como las cepas Nc-Liverpool o Nc-1^(22, 54, 66, 69).

Nuestro grupo de trabajo viene desarrollando desde hace varios años una línea de investigación en el tema de vacunas habiéndose realizado ensayos experimentales utilizando vacunas inactivadas de taquizoítos con vehículo oleoso como adyuvante⁽⁵⁹⁾ como también adyuvantes más sofisticados (complejos inmunoestimulantes, ISCOMs) con antígenos de *N. caninum* ya sea vacunando terneros o vaquillonas, obteniéndose importante respuesta serológica y producción de IFN γ ^(22, 38).

Si bien se podrían esperar algunos resultados adecuados con estas vacunas vivas, surgen algunos inconvenientes sobre su uso: 1) reversión de la virulencia de la cepa utilizada, 2) corta vida de la vacuna por ser viva, necesidad de mantener la cadena de frío, 3) persistencia de títulos en los animales vacunados.

12. Futuras investigaciones

Se necesita conocer mejor los mecanismos por los cuales se produce la reactivación de la infección de *N. caninum* durante la gestación y así entender mejor la relación hospedador-parásito y desarrollar nuevas estrategias de control.

El desarrollo de vacunas vivas con cepas atenuadas de *N. caninum* es un paso lógico en esta enfermedad, aunque para su concreción se necesita de etapas muy lentas de evaluación y consolidación de los conocimientos siendo un riesgo siempre presente la regresión de la patogenicidad de la cepa utilizada.

También disponer de modelos de evaluación de eficacia de vacunas diferentes a las empleadas considerando la inoculación endovenosa a los 70 días de gestación por ser demasiados agresivos para cualquier vacuna en desarrollo.

En nuestro país el rol que cumplen otras especies de la fauna en la epidemiología de la enfermedad, como el zorro, peludo y vizcacha, ligados al medio ambiente del bovino, necesita de mayores investigaciones, la mayoría iniciadas en forma muy preliminar o inexistente.

13. Bibliografía

1. Baillargeon, P., Fecteau, G., Paré, J., Lamothe, P., 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.
2. Barber, J. S., Trees, A. J. 1996. Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs. *Vet. Rec.* 139: 439-443.
3. Bartels, C. and Conraths, F.J. Sample collection. In: Protozoal abortion in farm ruminants: guidelines for diagnosis and control. Ed. Ortega Mora, L., Gottstein, B., Conraths, F., Buxton, D. CABI, Oxford UK. pp. 16-41. 2007.
4. Campero, C.M., Moore, D.P., Lagomarsino, H., Odeon, A.C., Castro, M., Visca, H. 2003. Serological status and abortion rate in progeny obtained by natural service or embryo transfer from *Neospora caninum*-seropositive cows. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health* 50: 458-460.
5. Canatan, H.E., Polat, I.M., Bayramoglu, R., Kuplulu, M.R., Vural, M.R., Aktug, E. 2014. Effects of *Neospora caninum* on reproductive performance and the efficacy of treatment with a combination of sulphadiazine-trimethoprim and toltrazuril: a longitudinal field study. *Vet. Med.* 59: 22-28.
6. Cavalcante, G. T., Monteiro, R. M., Soares, R. M., Nishi, S. M., Alves Neto, A. F., Esmerini Pde, O., Sercundes, M. K., Martins, J., Gennari, S. M. 2011. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed different tissues from naturally infected cattle. *Vet. Parasitol.* 179: 220-223.
7. Cuteri, V., Nisoli, L., Preziuso, S., Attili, A.R., Guerra, C., Lulla, D., Traldi, G. 2005. Application of a new therapeutic protocol against *Neospora caninum* induced abortion in cattle: a field study. *J. Anim. Vet. Adv.* 4: 510-514.
8. Davison, H.C., Guy, C.S., McGarry, J.W., Guy, F., Williams, D.J.L., Kelly, D.F., Trees, A.J. 2001. Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. *Res Vet. Sci.* 70: 163-168.
9. De Yaniz, M.G., Moore, D.P., Odeón, A.C., Cano, A., Cano, D.B., Leunda, M.R., Campero, C.M. 2007. Humoral immune response in pregnant heifers inoculated with *Neospora caninum* tachyzoites by conjunctival route. *Vet. Parasitol.* 148: 213-218.
10. Dijkstra, T., Eysker, M., Schares, G., Conraths, F. J., Wouda, W., Barkema, H. W. 2001. 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.
11. Dubey, J.P. and Schares, G. 2006. Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet. Parasitol.* 140: 1-34.
12. Dubey, J.P. and Schares, G. 2011. Neosporosis in animals-The last five years. *Vet. Parasitol.* 180: 90-108.
13. Dubey, J. P., Buxton, D., Wouda, W. 2006. Pathogenesis of bovine neosporosis. *J. Comp. Pathol.* 134: 267-289.
14. Dubey, J. P., Schares, G., Ortega-Mora, L. M. 2007. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin. Microbiol. Rev.* 20: 323-367.
15. Eiras, C., Arnaiz, I., Alvarez-Garcia, G., Ortega-Mora, L. M., Sanjuanl, M. L., Yus, E., Dieguez, F. J. 2011. *Neospora caninum* seroprevalence in dairy and beef cattle from the northwest region of Spain, alicia. *Prev. Vet. Med.* 98: 128-132.
16. Gondim, L. F., 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.
17. Gondim, L.F., 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. *J. Parasitol.* 90: 1394-1400.
18. Gondim, L.F., McAllister, M.M., Gao, L. 2005. Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. *Vet. Parasitol.* 134: 33-39.
19. Frössling, J., Uggla, A., Björkman, C. 2005. Prevalence and transmission of *Neospora caninum* within infected Swedish dairy herds. *Vet. Parasitol.* 128: 209-218.
20. Hall, C. A., Reichel, M. P., Ellis, J. T. 2005. *Neospora* abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. *Vet. Parasitol.* 128: 231-241.
21. Hecker, Y.P., Venturini, M.C., Campero, C.M., Odeón, A.C., Moore, D.P. 2012. Avances en el desarrollo de vacunas para la neosporosis bovina. *Rev. Arg. Microbiol.* 44: 216-230.
22. Hecker, Y.P., Moore, D.P., Quattrochi, V., Regidor-Cerrillo, J., Verna, A., Leunda, M.R., Morrell, E., Ortega-Mora, L.M., Zamorano, P., Venturini, M.C., Campero, C.M. 2013. Immune response and protection provided by live tachyzoites and native antigens from the NC-6 Argentina strain of *Neospora caninum* in pregnant heifers. *Vet. Parasitol.* 197: 436-446.
23. Innes, E. A., Buxton, D., Maley, S., Wright, S., Marks, J., Esteban, I., Rae, A., Schock, A., Wastling, J. 2000. Neosporosis. Aspects of epidemiology and host immune response. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 916: 93-101.
24. Innes, E.A., Wright, S.E., Maley, S., Rae, A., Schock, A., Kirvar, E., Bartley, P., Hamilton, C., Carey, I.M., Buxton, D. 2001. Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *Int. J. Parasitol.* 31: 1523-1534.
25. Innes, E. A., Andrianarivo, A. G., Björkman, C., Williams, D. J., Conrad, P. A. 2002. Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. *Trends Parasitol.* 18: 497-504.
26. Kritznner, S., Sager, H., Blum, J., Krebber, R., Greif, G., Gottstein, B. 2002. An explorative study to assess the efficacy of Toltrazuril-sulfone (Ponazuril) in calves experimentally infected with *Neospora caninum*. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 1:4.
27. Landmann, J. K., Jillella, D., O'Donoghue, P. J., McGowan, M. R. 2002. Confirmation of the prevention

- of vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle by the use of embryo transfer. *Aust. Vet. J.* 80: 502-503.
28. Landmann, J. K., Gunn, A.A., O'Donoghue, P.J., Tranter, W.P., McGowan, M.R. 2011. Epidemiology and impact of *Neospora caninum* infection in three Queensland tropical dairy herds. *Reprod. Domest. Anim.* 46: 734-737.
 29. Lindsay, D.S. and Dubey, J. P. 1989. Evaluation of anti-coccidial drugs' inhibition of *Neospora caninum* development in cell cultures. *J. Parasitol.* 75: 990-992.
 30. Lindsay, D.S., Butler, J.M., Rippey, N.S., Blagburn, B.L. 1996. Demonstration of synergistic effects of sulfonamides and dihydrofolate reductase/thymidylate synthase inhibitors against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells, and characterization of mutants resistant to pyrimethamine. *Am. J. Vet. Res.* 57: 68-72.
 31. Lindsay, D.S., Butler, J.M., Blagburn, B.L. 1997. Efficacy of decoquinat against *Neospora caninum* tachyzoites in cell cultures. *Vet. Parasitol.* 68: 35-40.
 32. Marin, M.S., Morrell, E.L., Pérez, S.E, Leunda, M.R., Moore, D.P, Jones, L.R., Campero, C.M, Odeón, A.C. 2013. Concomitant infection of *Neospora caninum* and Bovine Herpesvirus type 5 in spontaneous bovine abortions. *Pesq. Vet. Bras.* 33:1291-1295.
 33. 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.
 34. McAllister, M. M., Björkman, C., Anderson-Sprecher, R., Rogers, D. G. 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.
 35. McCann, C. M., McAllister, M. M., Gondim, L. F., Smith, R. F., Cripps, P. J., Kipar, A., Williams, D. J., Trees, A. J. 2007. *Neospora caninum* in cattle: experimental infection with oocysts can result in exogenous transplacental infection, but not endogenous transplacental infection in the subsequent pregnancy. *Int. J. Parasitol.* 37: 1631-1639.
 36. Miller, C.M., Quinn, H.E., Windsor, P.A., Ellis, J.T. 2002. Characterization of the first Australian isolate of *Neospora caninum* from cattle. *Aust. Vet. J.* 80: 620-625.
 37. Moore, D.P., Alvarez-García, G., Chiapparrone, M.L., Regidor-Cerrillo, J., Lischinsky, L.H., De Yaniz, M.G., Odeón, A.C., Ortega-Mora, L.M., Campero, C.M. 2014. *Neospora caninum* tachyzoites inoculated by the conjunctival route are not vertically transmitted in pregnant cattle: a descriptive study. *Vet. Parasitol.* 199:1-7.
 38. Moore, D. P., Echaide, I., Verna, A. E., Leunda, M. R., Cano, A., Pereyra, S., Zamorano, P. I., Odeon, A. C., Campero, C.M. 2011. Immune response to *Neospora caninum* native antigens formulated with immune stimulating complexes in calves. *Vet. Parasitol.* 175: 245-251.
 39. Moore, D.P., Leunda, M.R., Zamorano, P.I., Odeón, 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 the gestation. *Vet. Parasitol.* 130: 29-39.
 40. Moore, D., Reichel, M., Spath, E. Campero, C.M. 2013. *Neospora caninum* causes severe economic losses in cattle in the humid pampa region of Argentina. *Trop. Anim. Health Prod.* 45:1237-1241.
 41. Nasir, A., Lanyon, S.R., Schares, G., Anderson, M.L., Reichel, M.P. 2012. Sero-prevalence of *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti* in South Australian beef and dairy cattle. *Vet. Parasitol.* 186: 480-485.
 42. 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. *Vet. Parasitol.* 17:301-308.
 43. Osoro, K., Ortega-Mora, L.M., Martínez, A., Serrano-Martínez, E., Ferre, I. 2009. Natural breeding with bulls experimentally infected with *Neospora caninum* failed to induce seroconversion in dams. *Theriogenology* 71: 639-642.
 44. Paré, J., Thurmond, M. C., Hietala, S. K. 1997. *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *J. Parasitol.* 83: 82-87.
 45. Pereira-Bueno, J.; Quintanilla-Gozalo, A.; Seijas-Carballo, 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. Parasitol.* 30: 906-909.
 46. Presi, P., Struchen, R., Knight-Jones, T., Scholl, S., Heim, D. 2011. Bovine viral diarrhoea (BVD) eradication in Switzerland--experiences of the first two years. *Prev. Vet. Med.* 99: 112-121.
 47. Reichel, M.P., Alejandra Ayanegui-Alcerreca, M., Gondim, L. F., Ellis, J.T. 2013. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle - the billion dollar question. *Int. J. Parasitol.* 43: 133-142.
 48. Reichel, M.P. and Ellis, J.T. 2006. If control of *Neospora caninum* infection is technically feasible does it make economic sense? *Vet. Parasitol.* 142: 23-34
 49. Reichel, M.P., Ellis, J.T., Dubey, J.P. 2007. Neosporosis and Hammondiosis in dogs. *J. Small. Anim. Pract.* 48: 308-312.
 50. Reichel MP, Mcallister MM, Pomroy WE, Campero CM, Ortega-Mora LM, Ellis JT. Control options for *Neospora caninum* - is there anything new or are we going backwards? *Parasitol.* 25:1-16.
 51. Reichel, M. P., Thornton, R. N., Morgan, P. L., Mills, R. J., Schares, G. 1998. Neosporosis in a pup. *N. Z. Vet. J.* 46: 106-110.
 52. Rodrigues, A. A., Gennari, S. M., Aguiar, D. M., Sreekumar, C., Hill, D. E., Miska, K. B., Vianna, M. C., Dubey, J. P. 2004. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed tissues from naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Brazil. *Vet. Parasitol.* 124: 139-150.

53. Rojo-Montejo, S., Collantes-Fernández, E., Blanco-Murcia, J., Rodríguez-Bertos, A., Risco-Castillo, V., Ortega-Mora, L.M. 2009. Experimental infection with a low virulence isolate of *Neospora caninum* at 70 days gestation in cattle did not result in foetopathy. *Vet. Res.* 40: 49.
54. Rojo-Montejo, S., Collantes-Fernández, E., Pérez-Zaballos, F., Rodríguez-Marcos, S., Blanco-Murcia, J., Rodríguez-Bertos, A., Prenafeta, A., Ortega-Mora, L.M. 2013. Effect of vaccination of cattle with the low virulence Nc-Spain 1H isolate of *Neospora caninum* against a heterologous challenge in early and mid-gestation. *Vet. Res.* 44:106.
55. Ruehlmann, D., Podell, M., Oglesbee, M., Dubey, J. P. 1995. Canine neosporosis: a case report and literature review. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 3: 174-183.
56. Schares, G., Heydorn, A. O., Cuppers, A., Mehlhorn, H., Geue, L., Peters, M., Conraths, F. J. 2002. In contrast to dogs, red foxes (*Vulpes vulpes*) did not shed *Neospora caninum* upon feeding of intermediate host tissues. *Parasitol. Res.* 88: 44-52.
57. Schares, G., Peters, M., Wurm, R., Barwald, A., Conraths, F. J. 1998. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. *Vet. Parasitol.* 80: 87-98.
58. Schares, G., Pantchev, N., Barutzki, D., Heydorn, A. O., Bauer, C., Conraths, F. J. 2005. Oocysts of *Neospora caninum*, *Hammondia heydorni*, *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi* in faeces collected from dogs in Germany. *Int. J. Parasitol.* 35: 1525-1537.
59. Stahl, K., Björkman, C., Emanuelson, U., Rivera, H., Zelada, A., Moreno-Lopez, J. 2006. A prospective study of the effect of *Neospora caninum* and BVDV infections on bovine abortions in a dairy herd in Arequipa, Peru. *Prev. Vet. Med.* 75: 177-188.
60. Thurmond, M.C. and Hietala, S.K. 1997a. Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. *Am. J. Vet. Res.* 58: 1381-1385.
61. Thurmond, M.C., Hietala, S.K., Blanchard, P.C. 1997b. Herd-based diagnosis of *Neospora caninum*-induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission. *J. Vet. Diagn. Invest.* 9:44-49.
62. Trees, A. J. and Williams, D. J. 2005. Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Trends Parasitol.* 21: 558-561.
63. VanLeeuwen, J.A., Greenwo, S., Clark, F., Acorn, A., Markham, F., McCarron, J., O'Handley, R. 2011. Monensin use against *Neospora caninum* challenge in dairy cattle. *Vet. Parasitol.* 175: 372-376.
64. VanLeeuwen, J.A., Haddad, J.P., Dohoo, I.R., Keefe, G.P., Tiwari, A., Scott, H.M. 2010. Risk factors associated with *Neospora caninum* seropositivity in randomly sampled Canadian dairy cows and herds. *Prev. Vet. Med.* 93: 129-138.
65. Wapenaar, W., Jenkins, M.C., O'Handley, R.M., Barkema, H.W. 2006. *Neospora caninum*-like oocysts observed in feces of free-ranging red foxes (*Vulpes vulpes*) and coyotes (*Canis latrans*). *J. Parasitol.* 92: 1270-1274.
66. Weber, F.H., Jackson, J.A., Sobacki, B., Choromanski, L., Olsen, M., Meinert, T., Frank, R., Reichel, M.P., Ellis, J.T. 2013. On the efficacy and safety of vaccination with live tachyzoites of *Neospora caninum* for prevention of neospora-associated fetal loss in cattle. *Clin. Vacc. Immunol.* 20: 99-105.
67. Weston, J.F., Heuer, C., Williamson, N.B. 2012. Efficacy of a *Neospora caninum* killed tachyzoite vaccine in preventing abortion and vertical transmission in dairy cattle. *Prev. Vet. Med.* 103: 136-144.
68. 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. *Parasitol.* 121: 347-358.
69. Williams, D.J., Guy, C.S., Smith, R.F., Ellis, J., Björkman, C., Reichel, M.P., Trees, A.J. 2007. Immunization of cattle with live tachyzoites of *Neospora caninum* confers protection against fetal death. *Infect. Immun.* 75: 1343-1348.
70. Wouda, W., Moen, A.R., Schukken, Y.H. 1998. Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology* 49: 1311-1316.