

## Neosporosis bovina (*Neospora Caninum*): Descripción, impacto económico y estrategias para su control

Romero, J. J.<sup>1\*</sup>

1 Programa de Investigación en Medicina Poblacional, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

### ABSTRACT

Neosporosis, a disease caused by the protozoa *Neospora caninum* (Apycomplexa). It is an emergent disease associated with abortion in many countries all over the world.

This review offers a brief review of the history of the disease both at world and local (Costa Rican) level; also, it presents the most important aspects about the biology of the parasite and the disease affecting cattle, its economic impact, epidemiology, treatment, prevention and control strategies.

Due to the importance that neosporosis is reaching, the veterinary practitioner should know more about this disease to improve the service they give in the farms in which they apply the herd health programs.

**Key words:** *Neospora caninum*, *Neosporosis*, *Biology*, *History*, *Economic impact*, *Bovine*, *Control*, *Treatment*, *Prevention*, *Costa Rica*.

### RESUMEN

La neosporosis, enfermedad causada por el protozoario *Neospora caninum*, se asocia con aborto bovino en todas partes del mundo desde finales de los años 90; debido a esto, la enfermedad ha sido blanco de muchísima investigación.

En esta revisión de literatura, se presenta una breve reseña histórica de la enfermedad, tanto en el ámbito mundial como en el costarricense; además, se destacan los principales aspectos de la biología del parásito y de la enfermedad en los bovinos, impacto económico, epidemiología, tratamiento y estrategias de prevención y control.

Debido a la importancia que la neosporosis está alcanzando, los médicos veterinarios de Costa Rica deben conocer más acerca de la neosporosis para desarrollar una labor más eficiente en los hatos bovinos en que aplican los programas de salud de hato y control de la producción.

**Palabras claves:** *Neospora caninum*, *Neosporosis*, *Biología*, *Historia*, *Impacto económico*, *Control*, *Tratamiento*, *Bovinos*, *Prevención*, *Costa Rica*.

Recibido: 06 de marzo del 2005

Aceptado: 01 de febrero del 2006

\* Autor para correspondencia: E-mail: jromero@ns.medvet.una.ac.cr, teléfono: (506) 237-5229, Fax: (506) 260-2155, Apdo. Postal: 304-3000 Heredia, Escuela de Medicina Veterinaria, Barreal de Heredia, Costa Rica

## INTRODUCCIÓN

La neosporosis es una enfermedad parasitaria causada por un protozooario llamado *Neospora caninum* que, hasta 1988, fue diagnosticado erróneamente como *Toxoplasma gondii* debido a la estrecha similitud morfológica entre ellos (Dubey & Lindsay, 1993).

La enfermedad ha sido diagnosticada en perros (Schaes *et al.*, 2005), bovinos (Wouda *et al.*, 1997; García-Vásquez *et al.*, 2005), ovejas (Dubey & Lindsay, 1990; Eleni *et al.*, 2004), cabras (Dubey *et al.*, 1996a), y venado cola blanca (Vianna *et al.*, 2005). Además, ha sido documentada la infección mediante serología en gatos (Dubey *et al.*, 2002), equinos (Daft *et al.*, 1997; Pitel *et al.*, 2003), búfalos de agua (Ferroglio *et al.*, 2003), camellos (Hilali *et al.*, 1998), zorros y otros caninos salvajes (Canon *et al.*, 2004), así como en primates no humanos (Ho *et al.*, 1997). Hasta hoy no se ha reportado la infección en humanos, inclusive, mediante serología.

En la mayoría de países con producción bovina importante, se menciona la neosporosis como la principal causa de aborto (pérdida fetal desde los 40 días de gestación) de origen infeccioso (Dubey, 1999), aún por encima de las causas bacterianas y virales.

Los efectos de la enfermedad sobre los animales individualmente o sobre la totalidad del hato son variables y no

hay patrones específicos, lo que implica un estudio particular de cada caso para el correcto diagnóstico y para la implementación de las medidas de control y prevención.

## Historia de la neosporosis

La neosporosis fue descubierta en Noruega en una camada de cachorros de la raza Beagle con signos de enfermedad nerviosa que afectaba, principalmente, el sistema locomotor. A dichos animales, se les aplicaron pruebas serológicas para diagnóstico de toxoplasmosis a las que resultaron negativas, esto a pesar de presentar estructuras similares a *T. gondii* en los cortes histológicos (Bjerkas *et al.*, 1984). Debido a esto, en un inicio se le llamó a esta enfermedad "Toxoplasma-like infection", pues aparte de la similitud estructural, los signos clínicos de la enfermedad eran muy similares a los de toxoplasmosis.

El primer reporte de *N. caninum* que informaba del aborto en vacas, se produjo en 1989 en los Estados Unidos de América (Thilsted & Dubey, 1989). Junto a estos hallazgos, los investigadores pudieron determinar que el agente que perjudicaba a los perros, era idéntico al que afectaba a los bovinos. Tomando como base este hecho, se analizaron retrospectivamente muestras de histopatología de perros que habían muerto con signos neurológicos desde 1958 y se descubrió que, en buena parte de ellos, estaba presente el agente recién identificado (Dubey *et al.*, 1988).

A partir de esa fecha, numerosos reportes de neosporosis se han originado en todas partes del mundo y se ha demostrado que la enfermedad afecta a una gran variedad de especies de animales, tanto domésticos como silvestres (Dubey, 2003).

En Costa Rica, Dubey *et al.* (1996a) identificaron *N. caninum* en un aborto de cabra procedente de la finca demostrativa de la Universidad Nacional ubicada en Santa Lucía de Heredia. Posteriormente, Pérez *et al.* (1998), mediante un estudio caso-control, determinaron la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en vacas con y sin aborto. Además, en el mismo estudio, se aisló por primera vez el agente.

### Descripción del agente

*N. caninum* es un protozoo clasificado en la familia Sarcocystidae, subclase Coccidiasina del phylum Apicomplexa (Ellis *et al.*, 1994). Esta cercanía filogenética ha conducido históricamente a errores en el diagnóstico. Los estadios de oocistos (esporulados y no esporulados), bradizoitos, taquizoitos y ooquistes, han sido ya descritos (McAllister *et al.*, 1998; Dubey, 1999) (ver ciclo de vida en Fig. 1)

### Relación hospedero-parásito

#### Signos clínicos

El principal signo clínico en las vacas es el aborto entre los 3 y los 9 meses de

gestación, con un promedio de 4.5 meses. Se han observado, también, casos de reabsorción embrionaria, autólisis, momificación, natimuertos, nacidos vivos enfermos y nacidos clínicamente sanos, pero persistentemente infectados. En los animales que logran nacer, es poco frecuente observar signos clínicos después de los dos meses de edad, pues por lo general, sucumben antes de esta edad. En estos animales, se puede observar signos clínicos que son producto de severa enfermedad neuromuscular tales como hiperextensión, paresis e incoordinación (Dubey & Lindsay, 1993)

#### Lesiones

Las principales lesiones que se observan son producto de la destrucción de células nerviosas, principalmente del SNC, por reacción inflamatoria en contra de los quistes en los tejidos. Se pueden observar focos de necrosis en el pericardio y el miocardio, áreas de infiltración mononuclear y de necrosis en el hígado y los pulmones, además de miositis del músculo esquelético (Wouda *et al.*, 1997).

#### Respuesta inmune en el hospedero

Las especies estudiadas desarrollaron anticuerpos después de 2 ó 3 semanas de la inoculación experimental con taquizoitos (Dubey *et al.*, 1996b). En los vacas preñadas, cuando la infección pasa de la madre al feto en etapas tempranas de la gestación, es altamente

posible la pérdida fetal, dado que el sistema inmune del feto es inmaduro; a su vez, la vaca monta una respuesta inmune celular con una alta producción de INF- $\gamma$ , interleucina-2 (IL-2) y otras citocinas producidas por los linfocitos T ayudadores (Th-1) que tienen más bien un efecto contraproducente en el feto, causando incluso la muerte. Por otra parte, otras citocinas reguladoras producidas por los Th-2 tales como la IL-10, el factor transformador del crecimiento (TGF)- $\beta$  y las IL-4 y IL-5 que son producidas localmente en la interfase materno-fetal contrarrestarán el efecto de las primeras. Asimismo, algunas hormonas de la gestación son inmunoreguladoras, pero especialmente la progesterona (P-4) y la prostaglandina E<sub>2</sub>. Hacia la fase media de la gestación, se ha descrito un fenómeno de "down-regulation" o "regulación hacia la baja" en el cual la respuesta inmune celular baja sustancialmente hacia el segundo tercio de la gestación, momento en que se incrementa la probabilidad de reinfección o recrudescencia de la enfermedad en la vaca que a su vez incide en la infección del feto. En el mismo, el sistema inmune no ha alcanzado aún la madurez necesaria para controlar la infección por los taquizoítos que pasan desde la madre vía transplacentaria (Figura 1). En resumen, los factores que influyen

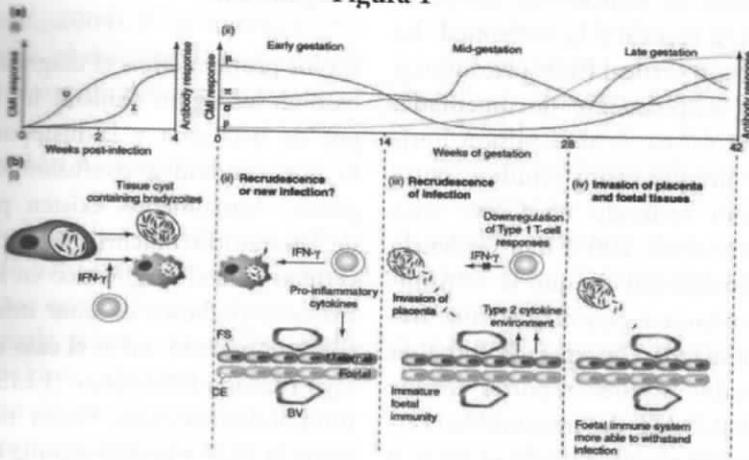
en el producto de la gestación de las vacas, incluyen: 1) el momento, la cantidad y la duración de la parasitemia durante la gestación, 2) la efectividad de la respuesta del sistema inmune materno, y 3) la habilidad del feto para montar una efectiva respuesta inmune (Innes *et al.*, 2002).

### Ciclo de vida y transmisión de *N. caninum*

El ciclo de vida del parásito fue elucidado en 1998. Debido a la cercanía taxonómica existente con *T. Gondii*, en un principio se propuso que el ciclo de vida incluía un hospedero definitivo que podría ser el perro debido a la evidencia epidemiológica que apuntaba en esa dirección (Bartels *et al.*, 1999). En 1998, de manera experimental, McAllister *et al.* (1998) descubrieron que el perro era un hospedero definitivo de *N. caninum*.

Recientemente, Gondim *et al.* (2004) lograron comprobar, también de manera experimental, que el coyote (*Canis latrans*) es un hospedero definitivo de *N. caninum*. Dubey (2003) hace un excelente recuento de las especies domésticas y silvestres que han sido reportados como hospederos intermedios de este parásito (Figura 2).

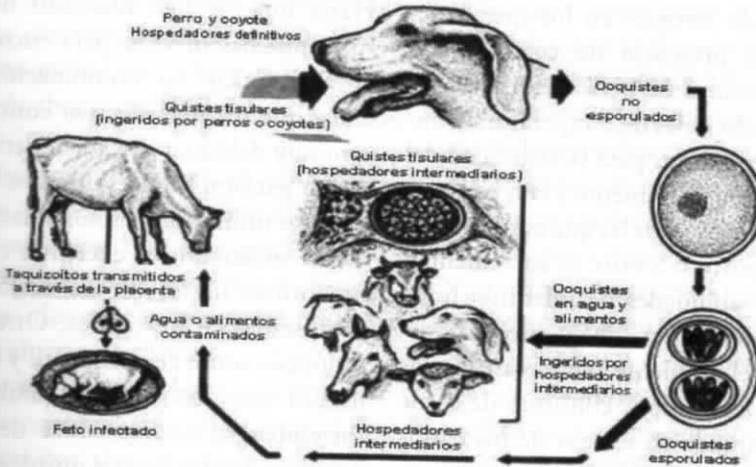
Figura 1



Fuente: Innes *et al.*, 2002. Immune response to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. Trends Parasitol. 18, 497.

(a I) Dinámica de la respuesta inmune de los bovinos a la infección por *N. caninum*. La línea marcada con " $\phi$ " representa la respuesta mediada por células (CMI), la línea " $\chi$ " representa la producción de  $INF-\gamma$  por los linfocitos CD-4. (a II) Respuesta inmune en las hembras bovinas durante la gestación. La línea " $\mu$ " muestra la magnitud relativa de la CMI, la " $\rho$ " representa el proceso de desarrollo y maduración del sistema inmune del feto. Las líneas " $\pi$ " y " $\sigma$ " representan ejemplos de la respuesta humoral a la exposición al agente durante la gestación media y tardía respectivamente. (b) Esquemas que explican los diferentes procesos de infección a la vaca, la invasión a la placenta y la invasión a los tejidos fetales, con su respectiva respuesta inmunológica por parte del hospedero.

Figura 2  
Ciclo de vida de *Neospora caninum*.



Fuente: Dubey, J.P. 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. Korean J Parasitol. 41, 1.

Las formas de transmisión del parásito son la vertical y la horizontal. La transmisión vertical (transplacentaria) ha sido ampliamente documentada, no así la forma de transmisión horizontal, aunque varios estudios, entre ellos uno realizado en Costa Rica (Romero *et al.*, 2003) dan evidencia de la posibilidad de que la transmisión horizontal ocurra y a una frecuencia mayor a la esperada en países templados. Existen reportes en que la probabilidad de transmisión vertical puede alcanzar desde el 80.0 al 95.0% (Davison *et al.*, 1999; Hietala & Thurmond, 1999). Sin embargo, algunos reportes mencionan probabilidades de infección por esta misma vía tan bajas como el 60.0% (Mairnar-Jaime *et al.*, 1999; Bergeron *et al.*, 2000; Romero *et al.*, 2003).

Se propone la hipótesis de que en las condiciones de países tropicales con pastoreo todo el año, con fincas rodeadas de bosques en los que se reporta la presencia de coyotes, con gran cantidad de perros en las fincas, con condiciones de temperatura y humedad perfectas para la viabilidad del parásito en el ambiente y con praderas en pendientes por las que corre el agua de un potrero a otro, se incrementan las probabilidades de infección horizontal por ingesta de oocistos esporulados del ambiente (en el caso de los herbívoros), o por consumo de carne contaminada en el caso de los carnívoros (Romero, 2005).

## Diagnóstico

En los primeros años, el diagnóstico se basó en los signos clínicos, los hallazgos de necropsia y la histopatología lo que condujo a confusión con *T. gondii*. Actualmente, existen pruebas de laboratorio mucho más rápidas y certeras para el diagnóstico en los animales sospechosos de estar infectados con este parásito, tal es el caso del Ensayo Inmuno Enzimático (ELISA) y la inmunofluorescencia. Otros métodos como la PCR y la microscopía electrónica también se pueden utilizar, pero por sus elevados costos, han sido utilizados sólo con fines de investigación. La prueba definitiva para el diagnóstico de esta enfermedad es la inmunohistoquímica, pues es la que permite identificar el parásito en los tejidos del hospedero infectado.

## Tratamiento

Hasta hoy, se han realizado numerosas pruebas *in vitro* para encontrar el antibiótico –o combinación de ellos– que sea más efectivo contra *N. caninum* debido a su característica de ser un parásito intracelular. Los tratamientos utilizados para toxoplasmosis han demostrado ser eficientes contra las formas libres, no así contra las enquistadas en los tejidos. Otros antibióticos como el Toltrazuril y el Ponazuril han dado buenos resultados; sin embargo, no hay 100% de éxito debido a que las formas quísticas difícilmente desaparecen los tratamiento

probados (Kritzner *et al.*, 2002; Darius *et al.*, 2004). El problema es, obviamente, el descarte de leche debido a lo prolongado del tratamiento.

### Prevención y control

Debido a las altas prevalencias, tanto a nivel de hato como de animal dentro del hato, que existen en Costa Rica, una simple política de prueba serológica positiva y descarte inmediato de los animales positivos se hace completamente poco viable. Por lo tanto, el control y la prevención se deben orientar a los factores de riesgo y de manejo, a la vacunación de los animales o al descarte selectivo de los animales seropositivos que reduzcan la probabilidad de transmisión horizontal, y al largo plazo la transmisión vertical.

Una estrategia compuesta de las realizadas por Thurmond & Hietala (1995) y por Dubey (1999) para establecer la importancia real de la neosporosis en fincas con baja o media seroprevalencia (no mayor a 45.0%) y con problemas de aborto podría ser:

1. Muestrear todas las vacas sospechosas (por ejemplo, porque abortaron o son hijas de vacas positivas) y, adicionalmente hacer un muestreo para determinar presencia/ausencia en el resto de las vacas.
2. Determinar si el aborto es atribuible a neosporosis. Un número igual de vacas que abortaron y que no abortaron ha de ser muestreadas. La

proporción de seropositivas debe ser estadísticamente mayor en las que abortaron.

3. Estimar la proporción en que contribuye la neosporosis al aborto en la finca por medio del cálculo del riesgo relativo y/o la fracción atribuible.
4. Establecer si el patrón de abortos asociados a Neospora es endémico o epidémico.
5. Estimar la probabilidad de infección por la vía vertical.

Una vez que estos pasos sean cumplidos y se tiene clara la situación de la neosporosis en la finca, se puede proceder a las medidas adecuadas al control y la prevención de la enfermedad para cada caso en particular.

#### *Prevención de la transmisión vertical:*

1. Reducción del nivel de infección dentro del hato: por medio del descarte selectivo de vacas seropositivas. La combinación del estatus serológico con la historia de la vaca resulta de mucha utilidad.
2. Minimizando la prevalencia en el stock de reemplazo: realizando descarte selectivo de novillas seropositivos o nacidos de vacas seropositivas y con historia de aborto.
3. Vacunación: Aunque no ha sido posible demostrar que la vacuna previene la infección transplacentaria, algunos estudios muestran que la probabilidad de infección *in utero* se redujo en animales inoculados previo al servicio (Innes *et al.*, 2001).

4. Compra de animales provenientes de hatos sanos, o con examen serológico a *Neospora* con resultado negativo.

*Prevención de la transmisión horizontal:*

Esto se puede realizar tratando de minimizar la transmisión desde los hospederos definitivos mediante:

- el muestreo serológico a los perros de la finca para orientar el descarte o el tratamiento de ellos,
- la prevención del acceso de perros y coyotes a las praderas, los alimentos o las fuentes de agua,
- manejar los partos en cuartos de parición y no en potreros al aire libre,
- el descarte apropiado de las placentas o los fetos abortados,
- reducción del número de vacas infectadas por medio del descarte selectivo.

Se ha propuesto la posibilidad de dar tratamiento continuo, ya sea de manera preventiva o terapéutica a los perros de las fincas por medio de concentrados que contengan Ponazuril o Toltrazuril; sin embargo, esta opción no ha sido aún reportada en la literatura. Este tratamiento tendría como objeto mantener una carga parasitaria reducida en los hospederos definitivos, tanto en el intestino como de las formas libres, de modo que se reduzca la posibilidad de la producción de oocistos y su liberación al medio en las heces de perros y coyotes.

Hay que recordar que no existe sólo una práctica para eliminar ninguna enfermedad, sino que se debe hacer uso de varias medidas de manejo para controlar los niveles de enfermedad, el impacto de esta en el hato y, si es posible, eliminarla por completo del hato.

Debido a los altos niveles de seroprevalencia en ambos niveles, de hato y dentro del hato, y por las condiciones en que se desarrolla la ganadería en Costa Rica –que fueron descritas anteriormente–, es posible que la reducción de los niveles de infección a niveles en que el efecto sobre la producción y la reproducción no sea lo importante que hoy es, pueda llevarse desde 5 hasta 30 o más años como lo proponen French *et al.* (1999) y Clancy *et al.* (2001) utilizando modelos matemáticos (de simulación).

### **Impacto económico**

En las explotaciones bovinas de lechería, el aborto es un problema que causa importantes pérdidas económicas. Se ha calculado que un aborto tardío (en el último tercio de la gestación) puede significar una pérdida de entre \$600 y \$1,000 US (Barr *et al.*, 1998). Dentro de las múltiples causas de origen infeccioso para el aborto, la neosporosis ha sido reconocida como la causa más importante en países como EUA, Holanda y Nueva Zelanda (Dubey, 2003). Asimismo, esta enfermedad ha afectando tanto a ganado lechero como a ganado de carne en Europa, Asia, África, Oceanía y América.

En California (EUA), por ejemplo, el impacto económico de la neosporosis sobre los hatos lecheros ha sido estimado, en forma conservadora y tomando en cuenta sólo las pérdidas por abortos y el incremento en los días abiertos de las vacas, en 35 millones de US dólares anualmente. Estos cálculos fueron hechos teniendo como base 1.2 millones de vacas en edad reproductiva, entre 5 y 15% de incidencia de abortos, y atribuyendo de 20 a 30% del total de abortos posiblemente a neosporosis (Anderson *et al.*, 1995) y que cada aborto representa pérdidas entre \$600 y \$1000 EUA (Barr *et al.*, 1998; Chi *et al.*, 2002).

Algunos estudios mencionan pérdidas por neosporosis debido a una reducción en la producción de leche en vacas seropositivas de hasta 1 Kg leche/día, menos que las seronegativas (Thurmond & Hietala, 1997; Hernández *et al.*, 2001; Hobson *et al.*, 2002). Sin embargo, algunos otros trabajos reportan diferencias no significativas en la producción de leche entre vacas seropositivas y seronegativas (Hobson *et al.*, 2002; Romero *et al.*, 2005).

Otra posible fuente de pérdidas por neosporosis es por el descarte prematuro de las vacas, tal como lo reportan Thurmond & Hietala (1996) y Waldner *et al.*, (1998), quienes determinaron que las vacas seropositivas a *Neospora* tuvieron 1.6 a 1.9 veces el riesgo de ser descartadas prematuramente respecto a las vacas seronegativas.

### Breve descripción de la situación de la neosporosis en Costa Rica.

El primer reporte de neosporosis en Costa Rica se realizó en 1996, al ser asociada con un aborto en una cabra de la raza Saanen procedente del hato caprino de la Escuela de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional ubicada en Santa Lucía de Heredia (Dubey *et al.*, 1996a). Posteriormente, Pérez *et al.*, (1998) lograron identificar por primera vez la presencia de vacas seropositivas a *N. caninum* en 23 hatos lecheros de la región norte de Alajuela y Heredia. En este trabajo, mediante un estudio de caso-control se determinó que las vacas seropositivas a *N. caninum* tuvieron 22 veces más riesgo de sufrir aborto que las seronegativas; mientras que no hubo asociación epidemiológica entre el aborto y otras enfermedades importantes como leptospirosis, brucelosis, IBR y VDVB. La presencia del parásito, en fetos recuperados como parte del mismo estudio, fue confirmada mediante inmunohistoquímica en el Laboratorio de Servicio de Diagnóstico Veterinario de California (CVDLS), EUA.

Mediante el análisis retrospectivo de los archivos del Laboratorio de Virología del Programa de Investigación en Enfermedades Tropicales de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, se pudo observar que un número importante de muestras de sangre provenientes de vacas con problemas de pérdidas fetales que resultaron

negativas a IBR o VDVB resultaron positivas a *Neospora* (Romero *et al.*, 2000)(Figura 3).

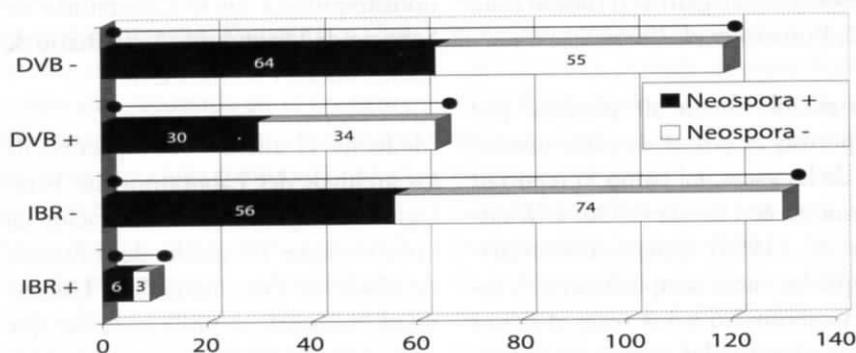
Estudios posteriores determinaron que el 100% de las fincas muestreadas (25) en la zona norte de Heredia y Alajuela existió al menos tres animales seropositivos y que la seroprevalencia dentro de estos hatos estuvo entre un 25% y un 70% (Romero *et al.*, 2002). Las vacas Jersey, las de más de 2 partos y aquellas vacas en fincas en la que no se realiza un diagnóstico de laboratorio para determinar las causas de los abortos, fueron las que más riesgo tuvieron de ser seropositivas (Romero *et al.* 2002). En otro estudio, realizado en la misma zona y en las mismas fincas, se pudo comprobar que se verifican ambos tipos de transmisión, la vertical y la horizontal; siendo la primera en cerca del 70% de los casos (Romero *et al.*, 2003). Como parte de este mismo es-

tudio, se pudo determinar que las fincas con más alta seroprevalencia tuvieron más probabilidad de transmisión horizontal (Romero *et al.*, 2003).

En Costa Rica, se realizó el primer gran estudio de campo para determinar la eficacia de una vacuna basada en taquizoítos de *N. caninum* de la casa Intervet®, (Neoguard®) para prevenir el aborto inducido por este agente. Los resultados mostraron que la vacuna pudo prevenir casi el 50% de los casos de aborto que se presentaron en las vacas a las que se les aplicó el placebo (Romero *et al.*, 2004).

Un estudio reciente demuestra que la seroprevalencia en hatos lecheros de Costa Rica puede ser cerca del 92.0 %, con prevalencias dentro de los hatos desde 5.0% hasta 75.0%. Adicionalmente, en este estudio aunque se asoció la seropositividad a *Neospora* con el

Figura 3



Relación de muestras negativas a IBR y VDVB pero positivas a neosporosis, de una banco de sueros bovinos del Laboratorio de Virología del Programa de Investigación en Enfermedades Tropicales. Escuela de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional (1999-2000).

aborto (OR 1.7, IC95% = 0.8 – 3.9), no se encontró un efecto negativo -significativo- de la seropositividad sobre la producción o sobre parámetros reproductivos como el intervalo entre partos, el número de servicios por concepción y los días abiertos (Romero *et al.*, 2005)

## CONCLUSIONES

La neosporosis es una enfermedad endémica en Costa Rica, con altos niveles de seroprevalencia, tanto a nivel de hato como dentro del hato.

Los problemas por neosporosis tienen distribución y presentación heterogénea dentro de los hatos costarricenses, por lo que se hace necesario realizar un diagnóstico específico para cada finca en particular.

Las condiciones geofísicas, medioambientales y de manejo dentro de la finca probablemente faciliten la infección de los hospederos definitivos y, de este modo, la diseminación del agente por contaminación de las fuentes de agua y alimentos en las fincas.

El uso de una vacuna en las vacas gestantes parece ser una opción viable de prevenir el efecto de la infección; sin embargo, no hay datos confiables que indiquen si la vacuna o algún tipo de inoculación prevenga la transmisión por la vía transplacentaria.

Esta enfermedad debe estar presente dentro de los diagnósticos probables de aborto esporádico o epidémico en hatos lecheros costarricenses.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, M.L., C.W. Palmer, M.C. Thurmond, J.P. Picanso, P.C. Blanchard, R.E. Breitmeyer, W. Layton, M. McAllister, B. Daft, H. Kinde, D. Read, J.P. Dubey, P.A. Conrad & B.C. Barr. 1995. Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 9: 1206.
- Barr, B.C., J.P. Dubey, D.S. Lindsay, J.P. Reynolds & S.J. Wells. 1998. Neosporosis, its prevalence and economic impact. *Veterinary Exchange, Supplement to Compend. Contin.. Educ. Pract. Vet.* 20, 1.
- Bartels, C.J., W. Wouda & Y.H. Schukken. 1999. Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995 to 1997). *Theriogenology.* 52: 247.
- Bergeron, N., G. Fecteau, J. Pare, R. Martineau & A. Villeneuve. 2000. Vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* in dairy herds in Quebec. *Can. Vet. J.* 41: 464.

- Bjerkas, I., S.F. Mohn & J. Prestus. 1984. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z. Parasitenkunde*. 70: 271.
- Canon-Franco, W.A., L.E. Yai, S.L. Souza, L.C. Santos, N.A. Farias, J. Ruas, F.W. Rossi, A.A. Gomes, J.P. Dubey & S.M. Gennari. 2004. Detection of antibodies to *Neospora caninum* in two species of wild canids, *Lycalopex gymnocercus* and *Cerdocyon thous* from Brazil. *Vet. Parasitol.* 123: 275.
- Clancy, D. & N.P. French. 2001. A stochastic model for disease transmission in a managed herd, motivated by *Neospora caninum* amongst dairy cattle. *Math. Biosci.* 170: 113.
- Chi, J., J.A. VanLeeuwen, A. Weersink & G.P. Keefe. 2002. Direct production losses and treatment costs from bovine viral diarrhoea virus, bovine leukosis virus, Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, and *Neospora caninum*. *Prev. Vet. Med.* 55: 137.
- Darius, A.K., H. Mehlhorn & O. Heydorn. 2004. Effects of toltrazuril and ponazuril on the fine structure and multiplication of tachyzoites of the NC-1 strain of *Neospora caninum* (a synonym of Hammondia heydorni) in cell cultures. *Parasitol Res.* 92: 453.
- Davison, H.C., A. Otter & A.J. Trees. 1999. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. *Int. J. Parasitol.* 29: 1683.
- Dubey, J.P., A.L. Hattel, D.S. Lindsay & M.J. Topper. 1988. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs, isolation of the causative agent and experimental transmission. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 93: 1259.
- Dubey, J.P. & D.S. Lindsay. 1990. *Neospora caninum* induced abortion in sheep. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2:230.
- Dubey, J.P. & D.S. Lindsay. 1993. Neosporosis. *Parasitol. Today* 9:452.
- Dubey, J.P., J.A. Morales, P. Villalobos, D.A. Lindsay, B.L. Blagburn & M.J. Topper. 1996a. Neosporosis-associated abortion in a dairy goat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 208: 263.
- Dubey, J.P.; D.S. Lindsay, D.S. Adams, J.M. Gay, T.V. Baszler, B.L. Blagburn & P. Thulliez. 1996b. Serologic response of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. *Am. J. Vet. Res.* 57: 329.
- Dubey, J.P. 1999. Neosporosis in cattle, biology and economic impact. *J Am Vet Med Assoc.* 214: 1160.
- Dubey, J.P., D.S. Lindsay, D. Hill, S. Romand, P. Thulliez, O.C. Kwok,

- J.C. Silva, M.C. Oliveira-Camargo & S.M. Gennari. 2002. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Sarcocystis neurona* in sera of domestic cats from Brazil. *J. Parasitol.* 88: 1251.
- Dubey, J.P. 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol.* 41, 1. Review. Erratum in: *Korean J. Parasitol.* 41: 138.
- Eleni, C., S. Crotti, E. Manuali, S. Costarelli, G. Filippini, L. Moscati & S. Magnino. 2004. Detection of *Neospora caninum* in an aborted goat foetus. *Vet. Parasitol.* 123: 271.
- Ellis, J., K. Luton, P.R. Baverstock, P.J. Brindley, K.A. Nimmo & A.M. Johnson. 1994. The phylogeny of *Neospora caninum*. *Mol Biochem Parasitol.* 64, 303. Erratum in: *Mol. Biochem. Parasitol.* 67: 341.
- Ferroglio, E., E. Wambwa, M. Castiello, A. Trisciuglio, A. Prouteau, E. Pradere, S. Ndungu & D. De Meneghi. 2003. Antibodies to *Neospora caninum* in wild animals from Kenya, East Africa. *Vet. Parasitol.* 118: 43.
- French, N.P., D. Clancy, H.C. Davison, A.J. Trees. 1999. Mathematical models of *Neospora caninum* infection in dairy cattle: transmission and options for control. *Int. J. Parasitol.* 29: 1691.
- Garcia-Vazquez, Z., R. Rosario-Cruz, A. Ramos-Aragon, C. Cruz-Vazquez, G. Mapes-Sanchez. 2005. *Neospora caninum* seropositivity and association with abortions in dairy cows in Mexico. *Vet. Parasitol.* 134: 61.
- Gondim, L.F., M.M. McAllister, N.E. Mateus-Pinilla, W.C. Pitt, L.D. Mech, M.E. Nelson. 2004. Transmission of *Neospora caninum* between wild and domestic animals. *J. Parasitol.* 90: 1361.
- Hernandez, J., C. Risco, A. Donovan. 2001. Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 219: 632.
- Hietala, S.K., M.C. Thurmond. 1999. Postnatal *Neospora caninum* transmission and transient serologic responses in two dairies. *Int. J. Parasitol.* 29: 1669.
- Hilali, M., S. Romand, P. Thulliez, O.C. Kwok, J.P. Dubey. 1998. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in sera from camels from Egypt. *Vet. Parasitol.* 75: 269.
- Ho, M.S., B.C. Barr, A.F. Tarantal, L.T. Lai, A.G. Hendrickx, A.E. Marsh, K.W. Sverlow, A.E. Packham, P.A. Conrad. 1997. Detection of *Neospora* from tissues of experimentally infected rhesus macaques by PCR

- and specific DNA probe hybridization. *J. Clin. Microbiol.* 35: 1740.
- Hobson, J.C., T.F. Duffield, D. Kelton, K. Lissemore, S.K. Hietala, K.E. Leslie, B. McEwen, G. Cramer, A.S. Peregrine. 2002. *Neospora caninum* serostatus and milk production of Holstein cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 221: 1160.
- Innes, E.A., S.E. Wright, S. Maley, A. Rae, A. Schock, E. Kirvar, P. Bartley, C. Hamilton, I.M. Carey, D. Buxton. 2001. Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *Int J Parasitol.* Nov;31(13):1523-34.
- Innes, E. A., A. Andrianarivo, C. Björkman, D. Williams, P. Conrad. 2002. Immune response to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. *Trends Parasitol.* 18: 497.
- Kritzner, S., H. Sager, J. Blum, R. Krebber, G. Greif, B. Gottstein. 2002. An explorative study to assess the efficacy of toltrazuril-sulfone (ponazuril) in calves experimentally infected with *Neospora caninum*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 18: 1.
- Mainar-Jaime, R.C., M.C. Thurmond, B. Berzal-Herranz, S.K. Hietala. 1999. Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. *Vet. Rec.* 145: 72.
- 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.
- Pare, J., S.K. Hietala, M.C. Thurmond. 1995. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. *J. Vet. Diagn Invest.* 7: 273.
- Pérez, E.; González, O; Dolz, G; Morales, J,A; Barr, B; Conrad, P.A. 1998. First report of bovine neosporosis in dairy cattle in Costa Rica. *Vet. Rec.* 142: 520.
- Pitel, P.H., Romand, S., Pronost, S., Foucher, N., Gargala, G., Maillard, K., Thulliez, P., Collobert-Laugier, C., Tainturier, D., Fortier, G., Ballet, J.J. 2003. Investigation of *Neospora* sp. antibodies in aborted mares from Normandy, France. *Vet Parasitol.* 118: 1.
- Romero, J.J., Dolz, G., Pérez, E. 2000. Neosporosis (*N. caninum*): nuevos conceptos y una descripción preliminar de su situación en Costa Rica. XVII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Sept. Panamá, República de Panamá.
- Romero, J.J., Pérez, E., Dolz, G., Frankena, K. 2002. Seroprevalence and factors associated with *Neospora caninum* serostatus in cattle

- of 20 specialised Costa Rican dairy herds. *Prev. Vet. Med.* 53: 263.
- Romero, J.J. and Frankena, K. 2003. Dam-calf relationship regarding to *Neospora caninum* seropositivity in 20 Costa Rican dairy farms. *Vet. Parasitol.* 114: 159.
- Romero, J.J., Pérez, E., Frankena, K. 2004. Efficacy of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite preparation against *Neospora*-induced abortion of Costa Rican dairy cows under field conditions. *Vet. Parasitol.* 123: 149.
- Romero, J.J. 2005. Appraisal of the epidemiology of *Neospora caninum* infection in Costa Rican dairy cattle. Tesis de Doctorado. Wageningen, The Netherlands.
- Romero, J.J., S.V. Breda, B. Vargas, G. Dolz, K. Frankena. 2005. Effect of neosporosis on productive and reproductive performance of dairy cattle in Costa Rica. *Theriogenology.* 64: 1928.
- Schares, G., N. Pantchev, D. Barutzki, A.O. Heydorn, C. Bauer, F.J. Conraths. 2005. Oocysts of *Neospora caninum*, *Hammondia heydorni*, *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi* in faeces collected from dogs in Germany. *Int J Parasitol.* 35: 1525.
- Thilsted, J.P., J.P. Dubey. 1989. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1: 205.
- Thurmond, M.C., S.K. Hietala. 1996. Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. *Am J Vet Res.* 57: 1559.
- Thurmond, J.P.; S.K. Hietala. 1997. Effect of congenital acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortion in dairy cattle. *Am. J. Vet. Res.* 58: 1381.
- Thurmond, J.P., S.K. Hietala. 1997. Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first lactation dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 10: 672.
- Vianna, M.C., C. Sreekumar, K.B. Miska, D.E. Hill, J.P. Dubey. 2005. Isolation of *Neospora caninum* from naturally infected white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Vet. Parasitol.* 129: 253.
- Waldner, C.L., E.D. Janzen, C.S. Ribble. 1998. Determination of the association between *Neospora caninum* infection and reproductive performance in beef herds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 213: 685.
- Wouda, W., A.R. Moen, I.J.R. Visser, F. van Knapen. 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.
- Wouda, W., T. Dijkstra, A.M. Kramer, C. van Maanen, J.M. Brinkhof. 1999. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. Int. J. Parasitol. 29: 1677.