

SITUACIÓN DE LA NEOSPOROSIS EN LA CUENCA LECHERA, EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

*Dr. José Piaggio. MSc.
Unidad de Epidemiología - MGAP (Uruguay).
Departamento de Bioestadística - Facultad de Veterinaria*

Introducción

La Neosporosis bovina es una enfermedad que está extendida a nivel mundial y ha sido caracterizada como la principal causa de aborto bovino en muchos países (Dubey & Lindsay 1996²⁶). Las pérdidas productivas ocasionadas por la enfermedad radican principalmente en la ocurrencia de abortos, aunque otras pérdidas incluyen la posible disminución de la producción de leche en vacas seropositivas (Thurmond & Hietala 1997⁹³, Hobson et al. 2002⁴⁵), muerte fetal temprana, mortalidad neonatal, alargamiento de los períodos interpartos, aumento de las tasas de refugio y reducción de los animales de reemplazo (Thurmond & Hietala 1996⁹¹, Trees et al. 1999⁹⁴, Hernández et al. 2001⁴³, Bartels et al. 2006¹¹). En ganado de carne también se ha reportado disminución de la ganancia diaria (Barling et al. 2000¹⁰).

Su agente etiológico, *Neospora caninum*, es un protozoo parásito cuyos huéspedes definitivos demostrados hasta el momento son el perro (Lindsay 1995) y el coyote (Gondim 2004³⁴). El hospedero definitivo elimina ooquistes contaminando praderas, alimentos o agua y de esta manera, vía ingestión, los huéspedes intermediarios adquieren el parásito países (Dubey & Lindsay 1996²⁶). Sin embargo, en bovinos una de las principales vías de transmisión y mantenimiento de la infección de *N. caninum* durante generaciones es la vía vertical o transmisión transplacentaria (Anderson et al. 1997²; Maley et al. 2003⁵⁹). Así mismo, dado que el huésped genera una deficiente respuesta inmunitaria contra el patógeno, pueden ocurrir abortos repetidos o infección congénita persistiendo el agente en los animales infectados y en el rodeo.

Transmisión

Existen dos modos de infección, infección congénita e infección post natal. Ha sido establecido que la transmisión transplacentaria de la *N. caninum* de vaca a ternero es la ruta más común de infección en ganado (Anderson et al. 2000¹; Maley et al. 2003⁵⁹; Hall et al. 2005³⁹). La eficiencia de este modo de transmisión ha sido reportada en el 81% (Paré et al. 1996⁷⁶), 93% (Schaes et al. 1998⁸⁶), 95% (Davison et al. 1999²²) e incluso de 100% (Staubli et al. 2006⁸⁹), basada en la presencia de anticuerpos precalostrales en terneros nacidos de madres seropositivas. La infección puede ser propagada verticalmente a través de sucesivas generaciones (Björkman et al. 1996¹⁵;

Anderson et al. 1997²). Generalmente se asume que el ganado puede permanecer infectado con *N. caninum* de por vida. Sin embargo, no todo el ganado infectado transmite la infección a todas sus crías que sobreviven. (Wouda et al. 1998¹⁰⁶).

La transmisión vertical ocurre porque la infección fetal frecuentemente no resulta en aborto, pudiendo quedar el ternero que sobrevive como un animal infectado persistentemente. La mayoría de los terneros infectados vía vertical nacen clínicamente sanos y sólo en un pequeño porcentaje, alrededor de 5% de las veces, ocurre muerte fetal (Williams et al. 2003¹⁰⁰; Maley et al. 2003⁵⁹). La transmisión congénita es evidente al observar líneas familiares de animales seropositivos en sucesivas generaciones (Björkman et al. 1996¹⁵; Paré et al. 1996⁷⁶; Anderson et al. 1997²; Schares et al. 1998⁸⁶; Hall et al. 2005³⁹).

A pesar de la eficiencia de la transmisión vertical, estudios epidemiológicos han provisto evidencias de infección post natal de ganado con *N. caninum*. Observaciones importantes a este respecto han sido las curvas epidémicas de brotes de aborto asociados a *N. caninum* sugiriendo un punto de origen de exposición (McAllister et al. 1996⁶²) y la falta de asociación de seropositividad entre madres e hijas en rodeos con epidemias de abortos (Thurmond et al. 1997⁹⁰; Mainar-Jaime et al. 1999⁵⁸).

La evidencia epidemiológica de infección post natal en ganado es sostenida por una demostración experimental de que los terneros pueden ser infectados oralmente con ooquistes de *N. caninum* (De Marez et al. 1999²³). Varios estudios han encontrado una baja incidencia de seroconversión en rodeos infectados endémicamente sugiriendo un nivel bajo de infección post natal. Se han estimado tasas anuales sumamente bajas, 0,9% (Hietala & Thurmon 1999⁴⁴) y 1,9% (Davison et al. 1999²²). Pereira-Bueno et al. (2000⁸⁰) en un estudio prospectivo estimaron tasas de infección post natales de 6,8% (1997) y 4,5% (1998), mientras en un estudio transversal reportaron un 7% de animales seropositivos nacidos de vacas seronegativas coincidiendo con los datos reportados por Pan et al. (2004⁷⁴).

Trees & Williams (2005⁹⁵) plantearon la importancia de distinguir entre la infección transplacentaria (TPI) endógena y exógena. La infección transplacentaria endógena se define como la infección fetal originada en el recrudescimiento de una infección maternal persistente adquirida antes de la preñez (probablemente a su vez infectada in útero) y la TPI exógena como resultado de la



infección materna durante la gestación. Estos modos de TPI tienen diferentes consecuencias epidemiológicas, inmunológicas y sobre el control.

Existe evidencia de un ciclo de transmisión silvestre entre cérvidos y cánidos, dado que perros alimentados con tejido cerebral de venados infectados naturalmente eliminaron ooquistes y los mismos administrados a un ternero produjeron altos títulos de anticuerpos indicando que la *N. caninum* proveniente de animales silvestres puede infectar al ganado (Gondim et al. 2004a³²). En la Figura 1 se observa el diagrama del ciclo biológico con la participación de animales domésticos y silvestres.

Se ha demostrado que taquizoitos de *N. caninum* adicionados al semen resultaron infectivos para vaquillonas administrados por medio de Inseminación Artificialvía (Serrano et al. 2006⁸⁸).

Epidemiología del Aborto

En vacas adultas, el principal signo es el aborto, siendo más frecuente entre los 4 y 6 meses de gestación. Los fetos pueden morir dentro del útero, ser expulsados, reabsorbidos, momificados, autolisados, mortinatos, nacer vivos pero enfermos o ser clínicamente sanos con infección crónica. Ello dependerá del momento en que la madre se ha infectado (Anderson et al. 2000¹; Dubey

2003²⁸), del tiempo en que se produce la reactivación de la infección crónica (Williams et al. 2003¹⁰⁰), de la magnitud de la parasitemia y de las características particulares de la cepa actuante (Buxton et al. 2002¹⁶; Maley et al. 2003⁵⁹).

Los abortos en un rodeo pueden ocurrir con patrones esporádicos, endémicos o epidémicos (Wouda et al. 1997¹⁰⁷; Moen et al. 1998⁶⁵; Wouda et al. 1998¹⁰⁶; Wouda et al. 1999¹⁰³; Anderson et al. 2000¹). Se considera un patrón de abortos endémicos cuando la tasa de abortos es mayor al 5% anual y que persiste por años (Anderson et al. 2000¹). Los abortos son considerados epidémicos cuando al menos un 10% de las vacas en riesgo aborta dentro de 6 a 8 semanas (Dubey 2003²⁸). Los diferentes patrones de abortos se pueden relacionar con las rutas de la transmisión, el aborto epidémico o tormenta de abortos, probablemente se origine por una fuente de exposición (transmisión horizontal) a partir de agua o alimentos contaminados (Yaeger et al. 1994¹⁰⁸; McAllister et al. 1996⁶²), mientras que los abortos endémicos o esporádicos persisten en un rebaño como el resultado de la propagación vertical.

Diferentes respuestas serológicas han sido reportadas entre rodeos con abortos endémicos y epidémicos asociados a *N. caninum*. Estas diferencias pueden ser atribuidas a diferentes modos de infección. Infección congénita en casos endémicos y una exposición reciente en casos epidémicos (Schaes et al. 1999⁸⁷). Parecería que los abortos mas esporádicos y endémicos son el resulta-

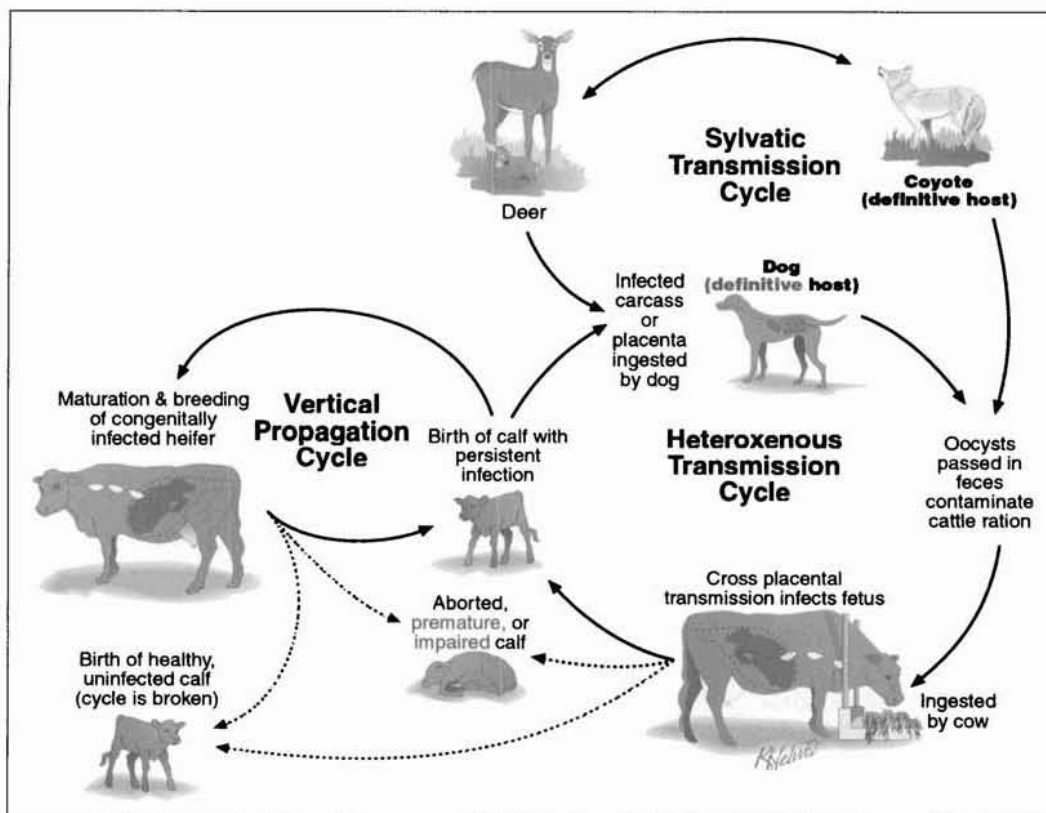


Figura 1: Ciclo Biológico de *Neospora caninum* (Cortesía del Dr. McAllister, Universidad de Illinois)

do de la reactivación de una infección crónica, dado que las vacas seropositivas tienen un incremento en el riesgo de aborto. Varios estudios han reportado que las vacas seropositivas a *N. caninum* tienen de 2 a 3.5 veces mayor riesgo de aborto que las seronegativas (Wouda et al. 1998¹⁰⁶; Davison et al. 1999²²; Jensen et al. 1999⁵¹; Mainar-Jaime et al. 1999⁵⁸). Las vaquillonas congénitamente infectadas han tenido un mayor incremento en el riesgo de aborto (7.4 veces) durante la primera preñez, pero el mismo decrece para las gestaciones subsiguientes (Thurmond & Hietala 1997⁹²).

En rodeos de carne Waldner (1998⁹⁹) encontró que las vacas seropositivas a *N. caninum* tenían mayor riesgo de aborto (odds ratio = 5.7) o de tener un ternero débil o enfermo (odds ratio = 2.8) comparado con vacas seronegativas (419 vacas de 8 rebaños).

En vacas persistentemente infectadas la transmisión transplacentaria de la infección fue asociada con un marcado aumento de los anticuerpos maternos, que puede interpretarse como una evidencia indirecta del recrudescimiento de la parasitosis (Guy et al. 2001³⁸). Pereira-Bueno et al. (2000⁸¹) encontraron un aumento significativo de los títulos de anticuerpos en vacas que abortaron, frente a las vacas naturalmente infectadas que no abortaron. Este pico de anticuerpos se utiliza también como una herramienta de diagnóstico a nivel de rodeo (Paré et al. 1997⁷⁷; Dubey & Schares 2006²⁷).

En animales crónicamente infectados, el estatus serológico positivo a *N. caninum* no resultó asociado al aborto antes de los 90 días de preñez López-Gatius et al. (2004⁹⁶). Sin embargo, las vacas seropositivas mostraron un riesgo significativamente mayor de abortar luego de los 90 días de gestación. Estos resultados sugieren que la infección crónica previa a la preñez no afecta el período temprano de la gestación, mientras que tiene un efecto abortivo significativo después de los 90 días de preñez.

Patogenia

Debido a que *N. caninum* es un parásito intracelular obligado, la principal respuesta inmune protectora contra la infección es la mediada por células. La respuesta celular ha sido asociada a linfocitos T helper tipo 1, los cuales estimulan la producción de interferón (IFN γ), interleuquina 12 (IL-12) e IL-2 (Anderson et al. 2000¹; Innes et al. 2002⁴⁷; Williams et al. 2003¹⁰⁰; Moore et al. 2005⁶⁷). Durante la gestación la regulación de las citoquinas produce un immuno-ambiente dentro de la placenta que favorece las citoquinas reguladoras frente a las inflamatorias. Esta modulación de la respuesta inmune durante la gestación puede causar una reactivación de los bradizoitos seguida de una ruptura de quistes tisulares y un recrudescimiento de la infección (Innes et al. 2002⁴⁷; Dubey et al. 2006²⁵). El aumento en la concentración de la IL-10 regula en baja la

producción de IFN γ generando una disminución en este tipo de respuesta inmune entre los 4 y 6 meses de gestación, lo cual favorecería la multiplicación del parásito y por lo tanto la transmisión vertical en este período (Innes et al. 2001⁵⁰; Innes et al. 2002⁴⁷; McAllister & Latham 2002⁶⁰).

Varios factores influyen sobre el resultado de la infección en la preñez, el momento, intensidad y duración de la parasitemia durante la gestación, la efectividad de la respuesta inmune materna y la habilidad del feto de montar una efectiva respuesta inmune (Williams et al. 2000¹⁰²; Innes et al. 2002⁴⁷; Innes et al. 2005⁴⁹). La infección experimental con *N. caninum* en el día 70 de la gestación dio lugar a la pérdida y reabsorción del feto (Williams et al. 2000¹⁰²; Macaldowie 57). Un estudio en realizado en un rodeo del Reino Unido encontró un aumento significativo en el número de los servicios (AI) por preñez en vacas seropositivas a *N. caninum* comparadas con seronegativas (Latham 2003 citado por Innes 2007⁴⁸).

En el segundo tercio de la gestación el feto ya es capaz de montar una respuesta inmune rudimentaria, evidenciada por la presencia de anticuerpos en el suero de fetos abortados. Esta respuesta puede no ser suficiente ya que la mayoría de los abortos ocurre en este período. Sin embargo, si la infección ocurre en el último tercio de la gestación el feto es capaz de sobrevivir y nacer infectado clínicamente sano (Williams et al. 2000¹⁰²; Buxton et al. 2002¹⁶; Maley et al. 2003⁵⁹).

La carga parasitaria y la severidad de las lesiones observadas disminuyen con el progreso de la gestación, siendo mayores en el primer y segundo trimestre (Collantes et al. 2006¹⁹). Este resultado confirma la influencia de la edad fetal en la patogenia de la infección natural de *N. caninum*.

En estudios experimentales en vacas infectadas con *N. caninum* al día 70 de la gestación, la media de tiempo en producirse la muerte fetal es de 24,3 días (Williams & Trees 2006¹⁰¹).

La causa exacta del aborto en el ganado infectado con *N. caninum* no se conoce completamente. La muerte fetal puede ocurrir por la destrucción directa del tejido fetal por la multiplicación intracelular del parásito o en forma secundaria al daño de la placenta, comprometiendo el aporte de oxígeno y la nutrición al feto (Dubey et al. 2006²⁵). Un estudio reciente ha encontrado presencia de células maternas T-CD4+ y IFN γ caracterizando las inmunorrespuestas inflamatorias en la placenta de vacas que abortaron luego de ser infectadas con *N. caninum* el día 70 de la gestación, en contraste a los animales que no abortaron, en los cuales no se observó ninguna respuesta inflamatoria en el tejido placentario (Maley 2007, in press, citado por Innes 2007⁴⁸). Para estos autores, estos estudios proporcionan una evidencia interesante para apoyar la teoría que, en esa etapa de la gestación, una inmunorrespuesta materno-inflamatoria en la placenta po-



dría contribuir a la causa de la muerte fetal. Williams / Trees (2006¹⁰¹) también sostienen esta posibilidad, y sostienen que es crítico determinar la causa de la muerte fetal (parasitemia fetal o daño en la placenta por inmunorespuesta materna), dado que en un caso un estímulo a la respuesta inflamatoria (vacuna) podría derivar en la muerte del feto, pero por otro lado si el objetivo fuera prevenir que el parásito atravesara la placenta, entonces la respuesta inmune-inflamatoria sería esencial para prevenir la fetopatía.

Estas observaciones también tendrían implicancias importantes al diseñar estrategias inmunológicas de control para combatir la neosporosis en los bovinos. Mientras que es deseable inducir una inmunorespuesta del tipo 1 para controlar la multiplicación de la *N. caninum*, este tipo de inmunorespuesta, inducida en tejido placentario, podría comprometer la supervivencia del feto. Innes (2007⁴⁸) destaca cómo las citoquinas (tales como IFN γ) pueden ser beneficiosas o perjudiciales dependiendo de su concentración y tejido en que se localiza.

La inmunocompetencia relativa del feto desempeña un papel en la determinación de la supervivencia fetal, sin embargo, aún faltan estudios para aclarar los cambios en la inmunorespuesta materna al progresar la gestación y sus consecuencias sobre la supervivencia fetal.

Bajo la hipótesis de que la respuesta inflamatoria Th1 ante la infección puede contribuir en la patogenia del aborto, Bech-Sabat et al. (2007¹³) realizaron un ensayo en el que suplementaron con progesterona animales seropositivos a partir de los 120 días de gestación. Contrario a lo que esperaban encontrar debido al efecto de la progesterona al reducir la respuesta Th1, la aumentó el riesgo de aborto en animales con altos títulos de anticuerpos, mientras no tuvo efecto en los animales con títulos bajos. Este hecho posiblemente haya resultado de una disminución en la respuesta inmune celular.

Dado el alto índice de la transmisión vertical endógena, otra consideración importante es la consecuencia inmunológica de la infección congénita en el feto. Todavía no están claras las consecuencias de la infección fetal en el útero sobre la capacidad del animal de montar una inmunorespuesta a la infección endógena más adelante en vida.

Factores de Riesgo

Teóricamente, diferentes niveles de riesgo pueden ser distinguidos en relación con la *N. caninum* en el ganado. En primer lugar el riesgo de un vaca de ser infectada con el parásito, o "Riesgo de Infección", y en segundo lugar el riesgo de un vaca infestada de abortar el feto, "Riesgo de Aborto" (Wouda et al. 2000¹⁰⁴).

Dos estudios de casos y controles indicaron la pre-

sencia de perros como el el factor de riesgo mas importante en el ganado (Paré et al. 1998⁷⁵; Bartels et al. 1999¹²). Otros estudios también han proporcionados evidencia epidemiológica que indica asociación entre el perro y la ocurrencia de abortos por *N. caninum* (Moen et al. 1998⁶⁵; Dijkstra et al. 2002²⁴). Estudios en España y Francia encontraron asimismo asociaciones positivas entre la seropositividad de la *N. caninum* del ganado y la presencia (Ould-Amrouche et al. 1999⁷³) o el número de perros (Mainar-Jaime et al. 1999⁵⁸). Un estudio en Holanda (Wouda et al. 1999b¹⁰⁵) encontró que la presencia de seropositividad en el perro estaba asociada a una alta prevalencia de infección en el ganado, indicando una relación entre la infección de *N. caninum* en ambas especies. Hobson et al. (2005⁴⁶) encontraron asociación positiva con la seroprevalencia intra-rodeo y el número total de perros en el establecimiento. Guimaraes et al. (2004)³⁷, en Paraná-Brasil, encontraron que la presencia de serología en rodeos lecheros estaba asociada con la presencia de perros seropositivos y con la edad de las vacas (mayores de 24 meses).

Se ha demostrado que taquizoitos de *N. caninum* adicionados a la leche son infectivos para los terneros recién nacidos administrados por vía oral (Uggla et al. 1998⁹⁶). La infección lactogénica sería teóricamente posible (aunque improbable en forma natural), significando un riesgo, particularmente por la práctica de alimentar con pool de calostro a los terneros recién nacidos. En un estudio en el sur de Brasil la seroprevalencia fue asociada significativamente al número de perros, la superficie, el empleo de pool de calostro y la región Corbellini et al. (2006)²⁰.

Se ha reportado una asociación positiva entre seropositivos a *N. caninum* y seropositividad al virus de diarrea viral bovina en el ganado (Björkman et al. 2000¹⁴), pero esa asociación no fue encontrada por otros (Gottstein et al. 1999³⁶, Bartels et al. 1999¹²). Un estudio en Suiza encontró que rodeos con títulos anticuerpos de enfermedades causantes de aborto como *Leptospiras* y BVDV, presumiblemente debidas a vacunación, tuvieron menor probabilidad de experimentar abortos relacionados con *N. caninum* (Hässig & Gottstein 2002)⁴².

No se ha encontrado preferencia en la raza en los abortos asociados a *N. caninum* (Jensen et al. 1999⁵¹), ni en la seropositividad (Ould-Amrouche et al. 1999⁷³). En cuanto al tipo de explotación, los reportes de seroprevalencia de *N. caninum* son mayores para ganado lechero que para ganado de carne (Dubey 2003²⁸; Quintanilla-Gozalo 1999⁸³). Esto puede ser relacionado con los diferentes sistemas de producción para ganado de leche y de carne.

También existen estudios como el realizado en Brasil por Ogawa et al. (2005)⁷⁰ que no encontraron diferencias significativas entre serología a *N. caninum* y las varia-

bles estudiadas, como el manejo de las vacas lecheras, problemas reproductivos, alimentación, presencia de perros, gatos y roedores.

Prevención y Control

Para encontrar la mejor estrategia que reduzca las pérdidas reproductivas y productivas debidas a la infección por *N. caninum* se deben considerar las potenciales ventajas y desventajas de los establecimientos libres de infección comparados con rodeos infectados, las pérdidas económicas distintas al aborto, la existencia de vacunas disponibles y su eficacia para el control, y la evaluación económica de las distintas medidas de acuerdo a los resultados que se obtienen y los costos de su implementación.

La elaboración de programas de control para *N. caninum* en los rodeos debe considerar tanto las vías de transmisión horizontal como vertical:

Infección post natal

La transmisión horizontal en ganado, generalmente ocurre en un rango bajo (<5%), excepto en casos de brotes de abortos en los rodeos con evidencia de ser provocado por una exposición a fuente de infección medioambiental. La exposición del ganado a través de contaminación del alimento o de las fuentes de agua, con heces de perros infectados (o hipotéticamente por algún cánido salvaje que eventualmente sea huésped definitivo, como el zorro) que han eliminado ooquistes, es la fuente de exposición ambiental más probable. La serología en los perros no es una herramienta útil debido a que la seropositividad del perro puede deberse a su infección como hospedero intermedio (Dubey & Lindsay 1996²⁶), posiblemente infectado in útero, en la cual no se produciría el ciclo sexuado del protozooario con eliminación de ooquistes, a lo cual se agrega la evidencia existente de que perros eliminando ooquistes pueden no seroconvertir (McAllister et al. 1998⁶³; Lindsay et al. 1999⁵⁵). Es posible que perros que eliminaron ooquistes vuelvan a hacerlo debido a una nueva exposición luego de 18 a 20 meses del primer desafío (Gondim et al. 2005)³⁵. También encontraron que los cachorros eliminaron significativamente más ooquistes que los perros adultos.

En un estudio longitudinal sobre la dinámica de los anticuerpos en perros mostró que en un lapso de cuatro años la mayoría de los perros seropositivos disminuyó los títulos, seronegativizándose 7 de los 19 perros estudiados (Václavek et al. 2007⁹⁷).

Infección transplacentaria

La transmisión vertical de la *N. caninum* de una madre al feto es muy eficiente (>80%) y es suficiente para mantener la infección en rebaños por largos períodos de tiempo, sin la necesidad de tener una nueva introducción

de la infección en el rebaño desde el medio ambiente (ooquistes) o de fuentes externas (comprando hembras infectadas).

El control de la transmisión vertical requiere de la identificación de las vacas infectadas a través de un chequeo serológico. Varios autores han planteado que el status serológico puede ser usado como criterio de refugio, para así disminuir el futuro riesgo de aborto en los rodeos lecheros. Estos autores concluyen que las terneras infectadas por *N. caninum* no deberían ser usadas como reemplazos para así disminuir el futuro riesgo de aborto en los rodeos al mismo tiempo que se debe evitar la introducción de animales seropositivos (Björkman et al. 1996¹⁵; Thurmond & Hietala 1997⁹²; Moen et al. 1998⁶⁵; Hobson et al. 2005⁴⁶), pero se debe evaluar si la eliminación de animales seropositivos a *N. caninum* genera un beneficio económico que justifique esta medida en nuestras condiciones de producción.

En el mismo sentido, algunos autores sostienen que en predios con baja prevalencia de la enfermedad podría ser recomendable descartar la descendencia de vacas seropositivas, disminuyendo así la transmisión vertical intrarodeo (Hall et al. 2005³⁹).

Moore (2005)⁶⁸ plantea evaluar las ventajas y desventajas de los predios libres de infección debido al aumento de probabilidad de tormentas de abortos en predios sin contacto previo con el agente. Además, en rodeos lecheros, plantea evaluar si existen pérdidas diferentes al aborto que justifiquen la eliminación de animales seropositivos.

La transferencia de embriones de hembras seropositivas a receptoras seronegativas puede prevenir la transmisión vertical de la *N. caninum* (Baillargeon et al. 2001⁴; Landmann et al. 2002⁵³).

A medida que baja la prevalencia en un rodeo, también debe considerarse el riesgo de abortos severos y pérdidas reproductivas si hay una exposición importante a una fuente medioambiental que produzca nuevas infecciones en el ganado previamente no infectado, por lo tanto, es imprescindible considerar simultáneamente medidas para evitar la infección post natal. En este sentido, la existencia de un ciclo silvestre del parásito y el desconocimiento de aspectos epidemiológicos como el rol del zorro en nuestras condiciones productivas limitan las posibilidades de la prevención.

Vacunación

Si bien hasta el momento no se han desarrollado vacunas que tengan consenso en su utilización como instrumentos apropiados para la prevención y control de la Neosporosis en bovinos, es promisorio el desarrollo de las mismas en el futuro.

Existen evidencias de que el ganado puede desarro-



llar un grado de inmunidad protectora contra el parásito. La inoculación de las vacas con taquizoitos de *N. caninum* seis semanas antes de la preñez proveyó protección contra la transmisión vertical del parásito cuando las vacas fueron expuestas a los taquizoitos durante la mitad de la gestación (Innes et al. 2001⁵⁰).

Animales que experimentaron un aborto debido a Neosporosis tienen una probabilidad decreciente de sufrir un siguiente aborto causado por el mismo agente de infección (Anderson et al. 1995³; Wouda et al. 1998¹⁰⁶). Sin embargo, como el ganado infectado con *N. caninum* previamente a la preñez puede sufrir abortos, la inmunidad generada por una exposición previa al parásito resulta insuficiente para protegerlo contra el aborto en todos los casos.

Las vacas con evidencia de una exposición previa a la *N. caninum* tuvieron menor probabilidad de abortar o de tener un ternero prematuro durante una epidemia de Neosporosis (brote provocado por una exposición) que las vacas con una infección primaria de *N. caninum*. Este hallazgo sugiere un desarrollo de la inmunidad protectora en vacas previamente infectadas (McAllister et al. 2000⁶¹).

Si el animal es congénitamente infectado (resultado de una TPI endógena) el alto grado de recrudescimiento (con transmisión vertical o incluso aborto) podría indicar que estos animales han sido incapaces de montar respuestas protectoras frente al protozoario. Como resultado de la TPI endógena, el feto desarrollaría alguna forma de tolerancia inmunológica. El hecho de que el animal primero encuentra al parásito cuando su sistema inmune todavía se está desarrollando, ayuda a explicar por qué algunas vacas transmiten en sucesivas gestaciones el parásito sin desarrollar buena inmunidad a su infección adquirida en forma transplacentaria (Williams & Trees 2006¹⁰¹; Innes 2007⁴⁸).

Esto tiene implicancias al evaluar medidas de control, puesto que estos animales persistentemente infectados, además de constituir una fuente de propagación vertical en sucesivas gestaciones perpetuando la infección en el rodeo, del mayor riesgo aborto y por lo tanto de pérdidas, posiblemente tampoco pudan establecer respuestas inmunitarias eficaces frente al protozoario luego de la administración de vacunas. Existen evidencias que infecciones previas pueden proteger al ganado de la TPI exógena (Innes et al. 2001⁵⁰; Williams et al. 2003¹⁰⁰), sin embargo no hay evidencia, o no se conoce, si puede lograrse protección frente a la TPI endógena.

Una estrategia del control podría ser vacunar a los animales no infectados con *N. caninum* y refugar a los animales congénitamente infectados (Innes et al. 2005⁴⁹).

La evidencia de que el ganado puede desarrollar inmunidad protectora frente a *N. caninum* sustenta la hipó-

tesis que una estrategia del control basada en la vacunación puede ser apropiada. Sin embargo, los bovinos congénitamente infectados no parecen desarrollar una inmunidad robusta contra la transmisión vertical del parásito.

Se sabe que las inmuno-respuestas mediadas por células (CMI) son importantes en la limitación de la multiplicación de la *N. caninum*. En este sentido, las vacunas vivas probablemente reproduzcan mejor lo que sucede en la infección natural y los antígenos del parásito se presenten al sistema inmune de forma correcta.

Existen numerosos estudios que han intentado desarrollar cepas atenuadas de *N. caninum* creando mutantes termosensibles, tratando taquizoitos con radiación gama y a través de cultivos sucesivos *in vitro*.

Sería particularmente importante que una cepa vacunal viva de *N. caninum* no persista en el huésped debido al peligro del recrudescimiento de la infección durante una gestación subsecuente. Una vacuna viva también probablemente diera lugar a inmunidad más duradera, que significaría que permitiera su administración antes del servicio, lo que también reduciría el peligro de inducir una respuesta inflamatoria inadecuada en tejidos placentarios al comienzo de la gestación, que puede ser peligrosa para el feto.

Los riesgos potenciales de emplear vacunas vivas, así como su corta vida de almacenamiento y las preocupaciones de seguridad, hacen que también exista interés en el desarrollo de vacunas inactivadas para inducir inmunidad protectora.

En modelos de infección en ratones se indujo con éxito inmunidad protectora usando vacunas recombinantes que expresaban los antígenos de *N. caninum* y vacunas DNA con los genes específicos de *N. caninum*.

La utilización de vacunas inactivadas disminuye la tasa de abortos pero los anticuerpos vacinales aún no pueden diferenciarse de los producidos en la infección. Tampoco existe información concluyente respecto a la eficacia de la vacuna en reducir la infección fetal o en prevenir la infección postnatal en vacas no infectadas (Anderson et al. 2000¹).

La vacuna comercial disponible en nuestro país es una preparación muerta de taquizoitos de *N. caninum* que se administra en dos ocasiones, 3 a 4 semanas entre dosis, durante el primer trimestre de la gestación (Bovilis® Neoguard, Intervet). En ensayos de campo realizados en Costa Rica la vacuna redujo la ocurrencia de abortos (Romero 2004⁸⁵), pero se ha reportado que no genera protección contra la transmisión vertical del parásito (Estill, 2004³⁰).

Tratamiento

En la actualidad, no hay un tratamiento efectivo para las vacas infectadas que pueda prevenir la transmisión vertical. Sin embargo, experimentos en ratones han evidenciado que el uso de los anticoccidiales derivados de la triazina, como toltrazuril y ponazuril, previenen la formación de lesiones cerebrales y además disminuyen la detección de DNA parasitario por medio de PCR en más de 95% (McAllister & Latham, 2002⁶⁰).

Tratamientos en base a Clindamicina durante 4 o más semanas han mostrado ser efectivos en cachorros. Se han empleado también la Pyrimetamina combinada con trimetoprim y sulfadiazina con moderado éxito en el tratamiento de cachorros infectados congénitamente, si se administra antes, y no después, de que se desarrolle una severa parálisis y encefalitis (Dubey & Lindsay 1996²⁶; Dubey 2003²⁸).

No se ha comunicado la existencia de drogas que destruyan los quistes de tisulares de Neospora en el SNC.

Situación Regional

Moore (2005⁶⁹) describió la situación epidemiológica incluyendo los trabajos realizados en bovinos y perros en Sudamérica. Hay numerosos reportes en la región sobre estudios serológicos de *N. caninum* asociada a aborto bovino, tanto en el sur de Brasil (Corbellini et al. 2002²¹), Argentina (Campero et al. 1998¹⁷; Venturini et al. 1999⁹⁸; Moore et al. 2002⁶⁶) y Chile (Patitucci et al. 1999⁷⁹; Patitucci et al. 2000⁷⁸), en los cuales el porcentaje de animales seropositivos en algunos casos supera el 60%.

Situación epidemiológica de la *N. caninum* en el Uruguay

En nuestro país el primer antecedente de exposición al agente data de un estudio realizado en perros de estancias en los cuales se encontró serología positiva mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) en el 20% de los 414 perros muestreados (Barber et al. 1997⁹). Posteriormente fue reportada asociada a la ocurrencia de abortos en vacas Holando en el departamento de Florida mediante serología (IFI) de las vacas abortadas e inmunohistopatología (IFD) en un feto (Cobo et al. 1999¹⁸). El primer diagnóstico de neosporosis en perros y vacunos mediante técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) y serología (IFI) en Uruguay fue realizado en 1999 (Bañales et al. 1999⁵; Bañales et al. 2000⁶) y desde entonces se realiza en forma rutinaria en la DILAVE, encontrándose durante los años 1999 y 2000 que el 37% de los fetos remitidos a la DILAVE fueron confirmados con infección de *N. caninum* (Easton et al. 2001²⁹).

Un estudio seroepidemiológico en un establecimiento lechero encontró asociación significativa entre los abortos y la seropositividad de las vacas mediante IFI (Kashiwazaki et al. 2004⁵²). La infección fue considerada post natal debido a que el 60% de las vacas fueron positivas mientras que solamente lo fue el 20% de los terneros, sumado a la ausencia de correlación entre la seropositividad de las madres con sus crías.

En ganado de carne, un estudio transversal realizado por DILAVE - INIA, sobre 4.444 muestras de bovinos pertenecientes a 229 establecimientos distribuidos en todos los departamentos del país excluido Montevideo, estimó una seroprevalencia de 13.9% \pm 2.4 (CI 95%), y presencia en el 69.2% \pm 15.5 (CI 95%) de los establecimientos productores de carne (Bañales et al. 2006⁸). No se observaron diferencias significativas en las prevalencias entre vacas (14.3%) y vaquillonas (12.9%), sugiriendo que la principal ruta de transmisión es la vertical (transplacentaria).

Cuenca lechera del sur del país

La Facultad de Veterinaria realizó un estudio transversal en la cuenca lechera Sur del Uruguay con el apoyo del INIA (Proyecto LIA 042). El mismo comprendió predios lecheros de los departamentos de Florida, San José y Colonia. En total el estudio incluyó 117 establecimientos de un área geográfica que abarca aproximadamente 800 rodeos y una población animal de 120.000 vacas lecheras, y fue realizado entre los años 2001 y 2003.

Seroprevalencia en bovinos de leche

La estimación de la seroprevalencia estimada para bovinos lecheros fue de 22% (vacas seropositivas), siendo su intervalo de confianza (IC 95%) de 16,8% - 27,2% (Piaggio 2006⁸²).

La estimación de la seroprevalencia de vacas seropositivas por departamento se muestra en el gráfico i.

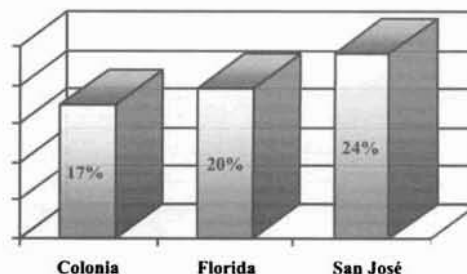


Gráfico i. Seroprevalencia para *N. caninum* en ganado lechero por departamento.

La seroprevalencia encontrada en vacas lecheras mantiene la tendencia de ser mayor que la reportada para ganado de carne (en Uruguay, 14%, Bañales et al. 2006), coincidiendo con lo encontrado en otros estudios.



A nivel regional, la seroprevalencia estimada para bovinos lecheros es 16.6 % en Argentina (Moore et al. 2002⁶⁶), 12%, 14,1%, 15% y 18,4% para diferentes estados en Brasil (Gondim et al. 1999³³, Melo et al. 2004⁶⁴, Guimaraes et al. 2004³⁷ y Ogawa et al. 2005⁷¹) y de 36 % en Paraguay (Osawa et al. 2002⁷²).

Con una tasa de transmisión post natal generalmente menor al 5%, exceptuando brotes de aborto epidémico, el nivel de prevalencia encontrado indica que la infección en la población animal de la cuenca lechera sur del país está presente en forma endémica y posiblemente desde hace larga data.

Difusión en rodeos lecheros

La difusión de *N. caninum* en los rodeos lecheros de la cuenca estudiada alcanza al 92% (IC 95% 85%-99%) de rodeos con al menos un bovino seropositivo.

La distribución de rodeos lecheros de acuerdo a proporción de vacas seropositivas para *N. caninum* intra-rodeo se muestra en el gráfico ii. La amplitud de variación fue entre 0% y 62,5% con una mediana de 20%.

El valor encontrado de 92% de predios con al menos

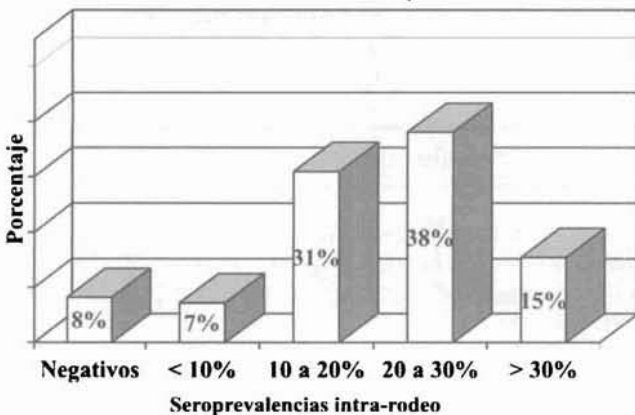


Gráfico ii. Distribución de rodeos lecheros de acuerdo a proporción de vacas seropositivas para *N. caninum* intra-rodeo.

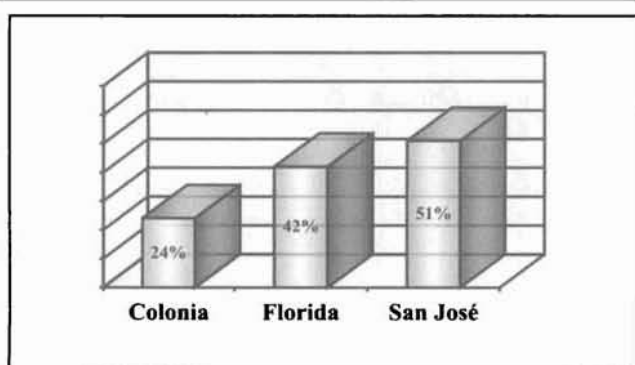


Gráfico iii. Seroprevalencia en perros por departamento.

un animal seropositivo es sumamente elevado, evidenciando la alta difusión que tiene la *N. caninum* en los rodeos lecheros de la cuenca sur. Este valor es coincidente con el encontrado por Corbellini et al. (2006)²⁰, que obtuvieron un 93,3% de establecimientos con al menos un animal seropositivo, en el sur de Brasil.

Estudio serológico en perros de tambos

En un total de 84 establecimientos lecheros de la cuenca sur se relevaron datos de los perros. En los mismos fueron muestreados todos los perros totalizando 212 muestras de sueros. Seis de estos tambos en los cuales se evaluó la serología en bovinos no poseían perros. El promedio de perros por tambo fue de 2,32 con un desvío estándar de 1,52 y un máximo de 10 perros en un tambo (Piaggio 2006⁸²).

La estimación de la seroprevalencia para *N. caninum* en perros alcanzó a 41% (IC95% 34,3 - 47,8 %). Con diferencias observadas entre departamentos, gráfico iii.

La difusión de la seropositividad en perros a *N. caninum*, en los rodeos lecheros de la cuenca estudiada fue de 62,8 % (IC 95% 52-74%), gráfica iv.

La seroprevalencia encontrada en los perros duplica al antecedente de 20% que fuera reportado por Barber et al. (1997)⁹ sobre perros de estancia de nuestro país. Con respecto a los valores de la región, la seroprevalencia de los perros rurales encontrada en Argentina es de 48% y 54,2%, en Brasil 21% y Chile 26%.

Relación de la serología en bovinos con la presencia y número de perros

La evaluación de posibles factores de riesgo se realizó mediante un estudio de casos y controles. Los casos

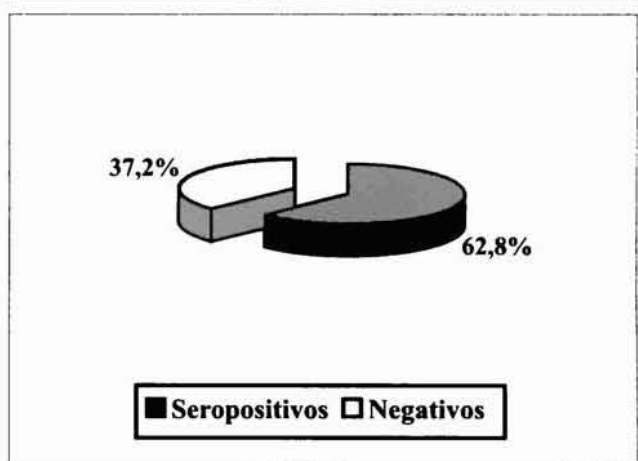


Gráfico iv. Tambos con perros seropositivos



correspondieron a establecimientos con altas seroprevalencia intra-rodeo, mientras que los controles fueron los establecimientos con menor proporción de animales seropositivos (el punto de corte se correspondió con una seroprevalencia intra-rodeo = 20%).

No se encontró asociación entre el número de perros del establecimiento y la ocurrencia de casos ($p=0.314$). Los odds ratios encontrados para los diferentes números de perros no difieren del encontrado para establecimientos sin perro ($p=0.32$) ni manifiestan una tendencia ($p=0.64$). Las proporciones de casos tampoco mostraron diferencias significativas entre los establecimientos con perros y los que no tienen perros.

Relación entre la serología en bovinos y la serología en perros

La presencia de al menos un perro seropositivos no constituyó un factor asociado a la alta serología en bovinos ($p=0.89$).

La falta de asociación observada en este estudio entre la seroprevalencia en los bovinos con la presencia, número de perros, así como su estatus serológico, discrepa con la mayoría de los estudios existentes. La presencia de alta serología en bovinos de establecimientos que no tienen perros, podría sugerir la posibilidad de una infección muy anterior en el tiempo, la adquisición de animales crónicamente infectados, o infección horizontal por perros vecinos o por la intervención de otros huéspedes definitivos (cánidos salvajes, por ejemplo zorros) hasta ahora no demostrados. También debe considerarse la gran movilidad de los perros en las zonas rurales, que sumado a la eficiencia de la transmisión vertical (a lo largo de sucesivas generaciones) dificultan la determinación de factores asociados.

Impacto e importancia en nuestro país

Como hemos visto, en el Uruguay se ha estimado que el 92% de los establecimientos lecheros y en el 70% de los rodeos de carne existe serología frente a *Neospora caninum*. Al impacto de los abortos se debe sumar la disminución potencial en litros de leche y kilos de carne de los animales lo cual junto al incremento de los refugos determina pérdidas millonarias que se producen en forma silenciosa para la economía de los productores y el país.

La producción bovina, en particular sector carne vacuna es el mayor proveedor de divisas para nuestro país, y uno de los más activos dinamizadores del resto de la economía.

En el 2006 la faena llegó a 2.6 millones de cabezas

implicando un aumento de de 6.8% respecto al 2005. Las toneladas en pie fueron 1.182.827 creciendo un 5.9%, exportándose más de 525 mil toneladas peso carcasa a un precio promedio estimado de USD 1875/tonelada, 17% superior al de 2005. La carne fue el principal capítulo de exportación de Uruguay en 2006, superando los USD 1.000 millones y registrando un aumento de 26% frente a 2005. Las exportaciones de este capítulo representaron el 25% de las exportaciones totales del país. Sigue en importancia la "leche y los productos lácteos", alcanzando USD 270 millones de exportaciones en el año aumentando un 7% frente a 2005, correspondiendo al sector lácteo un 6.8% del total exportado por Uruguay. (fuentes: INAC, OPYPA, DIEA, CIU, Unión de Exportadores del Uruguay).

Un desafío, para que nuestro país pueda crecer en forma sostenible las exportaciones del sector, radica en mejorar la tasa de procreos de forma que permita seguir aumentando la extracción. En el 2006 la tasa de extracción alcanzó un máximo histórico de 23% (OPYPA). La tasas de preñez y procreo en los últimos años muestran una evolución muy positiva alcanzando en 2005 valores de 74% de preñez y 68% de procreo.

Debemos por lo tanto realizar los máximos esfuerzos en mitigar las fallas reproductivas en nuestros rodeos, siendo *N. caninum* un agente importante a considerar.

Evaluación de diferentes estrategias de control

Con estos niveles de prevalencia y difusión existentes en nuestro país es primordial evaluar las estrategias de prevención y control para disminuir las pérdidas económicas debidas a la enfermedad.

Los instrumentos empleados determinarán el éxito o fracaso de la estrategia de control y el costo involucrado en la misma. Dado la variedad de estrategias posibles para controlar la enfermedad, probar cada una en situaciones en terreno resulta impracticable, extremadamente costoso y los resultados tardarían mucho tiempo en ser obtenidos.

Una alternativa ha sido el desarrollo de "modelos teóricos" que simulen la evolución de la enfermedad en tiempo, permitiendo predecir los posibles resultados y costos de diferentes estrategias, bajo diferentes escenarios, de forma de ayudar a la planificación y toma de decisiones. De esta forma se puede seleccionar la forma más eficiente de controlar la enfermedad e identificar las principales restricciones de un eventual programa.

Diferentes modelos se han desarrollado con estos fines, pero los mismos parten de las realidades productivas y situaciones epidemiológicas particulares de cada país,



por lo que no deben extrapolarse a otros contextos.

French (1999)³¹ desarrolló un modelo de simulación para predios lecheros de 100 animales, considerando la transmisión transplacentaria y dos fuentes de exposición horizontales, una intra-rodeo y otra externa, utilizando como base estudios epidemiológicos realizados en el Reino Unido. Una estrategia de refugar a los animales infectados redujo muy rápidamente la prevalencia de la infección, y fue propuesta como el método más efectivo de control. El reemplazo con animales no infectados resultó también efectivo, particularmente en rodeos con una alta tasa de reemplazo. Sin embargo, la eficacia a largo plazo de estas medidas dependió de la tasa de infección horizontal, puesto que sin eliminar esta forma de transmisión no es posible eliminar permanentemente la infección en un rodeo.

Larson et al (2004)⁵⁴ diseñaron un modelo de simulación de cinco años con el objetivo de comparar el resultado económico para tres estrategias del control en rodeos de carne. Las estrategias evaluadas fueron "refugar las vacas con falla en el parto", "vender las hembras seropositivas y comprar reemplazos seronegativos", y "no utilizar a las hijas de las vacas seropositivas como reemplazos". El análisis indicó que las dos primeras estrategias de control (refugar las hembras que no pueden parir un ternero y vender hembras seropositivas y comprar hembras de reemplazo seronegativas) no eran económicamente beneficiosas. La tercera estrategia de control (que prueba en todo el rodeo la infección de *N. caninum* y que excluye la descendencia de vacas seropositivas como reemplazos) resultó ser una estrategia razonable del control.

En Suiza, un estudio fue diseñado para estimar las pérdidas directas debido a *N. caninum* en ganados lecheros, y para determinar los costos y las ventajas de diversas estrategias potenciales de control (Häsler et al 2006a⁴⁰; Häsler et al 2006b⁴¹). Un módulo de simulación Monte Carlo fue desarrollado para estimar los costos directos causados por *N. caninum*, con y sin estrategias de control, y para evaluar los costos de las mismas mediante un análisis financiero. El modelo de referencia fue la situación actual (seroprevalencia en Suiza del 12%). Las estrategias del control consideradas fueron: "prueba y descarte de vacas seropositivas", "discontinuar la cría de terneras hijas de vacas seropositivas", "tratamiento quimioterápico de las terneras" y la "vacunación de todas las hembras". Las pérdidas anuales debidas a *N. caninum* en la población suiza de vacas lecheras fueron estimadas en • 9.7 millones. En términos económicos, la estrategia de control que resultó mejor fue la de "No realizar la cría de la descendencia de vacas seropositivas". Si bien esta estrategia no reduce la seroprevalencia drásticamente como algunas otras medidas, logra una reducción de la prevalencia debajo del 2% en el plazo de 11 años de acuerdo al modelo y a la situación inicial en Suiza. Sin embargo, los análisis de la sensibilidad revelaron que la eficacia de las medidas depende fuertemente de las tasas de transmi-

sión horizontal y vertical, la sensibilidad de la prueba diagnóstica y las eficacias del tratamiento y de la vacunación. Finalmente, el modelo confirmó que no era posible suprimir totalmente la *N. caninum* mientras el proceso horizontal de la transmisión no fuera interrumpido.

Reichel & Ellis (2006)⁸⁴ también modelaron diferentes alternativas de control tomando como referencia la situación de Nueva Zelanda y Australia. Las medidas evaluadas fueron "test y refugio de seropositivos", tratamiento terapéutico, vacunación y "no hacer nada". El modelo mostró que en términos económicos la opción de no intervenir era óptima si la prevalencia intra-rodeo era menor al 18%, mientras que para valores altos de prevalencias intrarodeo (mayores a 21%) la vacunación se convertía en la mejor estrategia.

Para nuestras condiciones productivas no contamos aún con modelos que permitan evaluar diferentes estrategias.

Referencias bibliográficas

1. Anderson M, Andrianarivo A, Conrad P. (2000). Neosporosis in cattle. *Anim*
2. Anderson M, Reynolds J, Rowe J. (1997). Evidence of vertical transmission of Neospora sp. infection in dairy cattle. *JAVMA* 210:1169-1172.
3. Anderson ML, Palmer CW, Thurmond MC, Picanso JP, Blanchard PC, Breitmeyer RE, Layton AW, McAllister M, Daft B, Kinde H, Read DH, Dubey JP, Conrad PA, Barr BC. (1995). Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *JAVMA* 207:1206-1210.
4. Baillargeon P, Fectear 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. *JAVMA* 218:1803-1806.
5. Bañales P, Easton C, Haritani M, Kashiwazaki Y, Paullier C, Pizzorno M. (1999). Aborto Bovino por Neospora caninum en el Uruguay: Primeros diagnósticos. *Veterinaria* 34: 28-32.
6. Bañales P, Easton C, Haritani M, Kashiwazaki Y, Paullier C, Pizzorno M. (2000). Bovine abortion in Uruguay caused by Neospora caninum: First diagnosis. *Proceedings XXI World Buiatrics Congress, December 2000, Punta del Este, Uruguay.*
7. Bañales P., Fernandez L., Repiso M.V., Gil A., Dargatz D.A., Osawa T. (2006). A nationwide survey on seroprevalence of Neospora caninum in beef cattle in Uruguay. *Veterinary Parasitology* 139:15-20.
8. Bañales P., Fernandez L., Repiso M.V., Gil A., Dargatz D.A., Osawa T. (2006). A nationwide survey on seroprevalence of Neospora caninum in beef cattle in Uruguay. *Vet Parasitol* 139:15-20.
9. Barber JS, Gasser RB, Ellis J, Reichel, MP,



- Trees AJ. (1997). Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in different canid populations. *J Parasitol* 83:1056-1058.
10. Barling KS, McNeill JW, Thompson JA, Paschal JC, McCollum FT, Craig TM, Adams LG. (2000). Association of serologic status for *Neospora caninum* with postweaning weight gain and carcass measurements in beef calves. *JAVMA* 217:1356-1360.
 11. Bartels C, van Schaik G, Veldhuisen J, van den Borne B, Wouda W, Dijkstra T. 2006. Effect of *Neospora caninum*-serostatus on culling, reproductive performance and milk production in Dutch dairy herds with and without a history of *Neospora caninum*-associated abortion epidemics. *Prev Vet Med* 77:186-198
 12. Bartels C, Wouda W, Schukken H. (1999). Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995 to 1997). *Theriogenology* 52:247-257.
 13. Bech-Sabat G, López-Gatius F, Santolaria P, García-Ispuerto I, Pabón M, Nogareda C, Yáñez JL, Almería S. 2007. Progesterone supplementation during mid-gestation increases the risk of abortion in *Neospora*-infected dairy cows with high antibody titres. *Vet Parasitol* 145:164-167.
 14. Björkman C, Alenius S, Emanuelsson U, Ugglå A. (2000). *Neospora caninum* and bovine virus diarrhoea virus infections in Swedish dairy cows in relation to abortion. *Vet J* 159:201-6.
 15. Björkman C, Holmdahl OJM, Ugglå A. (1996). *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. *JAVMA* 208:1441-1443.
 16. Buxton D, McAllister M, Dubey JP. (2002). The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends in Parasitol* 18:546-552.
 17. Campero CM, Anderson ML, Conosciuto G, Odriozola H, Bretschneider G, Poso MA. (1998). *Neospora caninum*-associated abortion in a dairy herd in Argentina. *Vet Rec* 143:228-229.
 18. Cobo A, Pacheco J, Freire A, Gurgitano J. (1999). 1º Diagnóstico de Aborto Bovino asociado a *Neospora caninum* en Uruguay. *Prácticas Veterinarias* 2:5-6.
 19. Collantes-Fernandez E, Rodriguez-Bertos A, Arnaiz-Seco I, Moreno B, Aduriz G, Ortega-Mora LM. (2006). Influence of the stage of pregnancy on *Neospora caninum* distribution, parasite loads and lesions in aborted bovine fetuses. *Theriogenology* 65:629-41.
 20. Corbellini L, Smith D, Pescador C, Schmitz M, Correa A, Steffen D, Driemeier D. (2006). Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. *Prev Vet Med* 17:130-41.
 21. Corbellini, L.G.; Driemeier, D.; Cruz, C.F.E.; Gondim, L.F.P.; Wald, V. (2002). Neosporosis was a cause of aborto in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Vet Parasitol* 103:195-202.
 22. Davison HC, Otter HC, Trees AJ. (1999). Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. *Int J Parasitol* 29:1683-1689.
 23. De Marez T, Liddell S, Dubey JP, Jenkins MC, Gasbarre L. (1999). Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. *Int J Parasitol* 29:1647-57.
 24. Dijkstra T, Barkema H, Hesselink J, Wouda W. (2002). Point source exposure of cattle to *Neospora caninum* consistent with periods of common housing and feeding and related to the introduction of a dog. *Vet Parasitol* 105:89-98.
 25. Dubey JP, Buxton D, Wouda W. 2006. Pathogenesis of bovine neosporosis, *J Comp Pathol* 134:267-289.
 26. Dubey JP, Lindsay DS. (1996). A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol* 67:1-59.
 27. Dubey JP, Schares G. 2006. Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet Parasitol* 140:1-34.
 28. Dubey JP. (2003) Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol* 41:1-16.
 29. Easton C, Paullier C, Bañales P, Repiso M, Herrera B. (2001). Aborto bovino: principales etiologías diagnosticadas por la DILAVE "Miguel C. Rubino". VII Congreso Nacional de Veterinaria, Noviembre 2001, Montevideo, Uruguay.
 30. Estill C. (2004) *Neospora*-associated abortion and field experience with a commercial vaccine in a dairy herd. 23rd World Buiatrics Congress. July 11-16. Quebec City, Canada.
 31. French NP, Clancy D, Davison HC, Trees AJ (1999). Mathematical models of *Neospora caninum* infection in dairy cattle: transmission and options for control. *Int J Parasitol* 29:1691-1704.
 32. Gondim L, McAllister M, Mateus-Pinilla N, Pitt W, Mech L, Nelson M. (2004a). Transmission of *Neospora caninum* between wild and domestic animals. *J Parasitol* 90:1361-1365.
 33. Gondim L, Sartor I, Hasegawa M, Yamane I. (1999). Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. *Vet Parasitol* 86:71-75.
 34. Gondim LF, McAllister MM, Pitt WC, Zemlicka DE. (2004b). Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 34:159-161.
 35. Gondim LFP, McAllister MM, 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.
 36. Gottstein B, Hentrich B, Wyss R, Thür B, Busato A, Stärk KDC, Müller N. (1999). Molecular and immunodiagnostic investigations on bovine neosporosis in Switzerland. *Int J Parasitol* 28:679-91.
 37. Guimaraes JS, Souza SLP, Bergamaschi DP, Gennari SM. (2004). Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Parana state, Brazil. *Vet Parasitol* 124:1-8.
 38. Guy CS, Williams DJL, Kelly DF, McGarry JW, Guy F, Bjorkman C, Smith RF, Trees AJ. (2001)



Neospora caninum in persistently infected, pregnant cows: spontaneous transplacental infection is associated with an acute increase in maternal antibody. *Vet Rec* 149:443-449.

39. Hall C, Reichel M, Ellis J. (2005). *Neospora* abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. *Vet Parasitol* 128:231-241.

40. Häslar B, Regula G, Stärk K, Sager H, Gottstein B, Reist M. (2006). Financial analysis of various strategies for the control of *Neospora caninum* in dairy cattle in Switzerland. *Prev Vet Med* 77:230-53.

41. Häslar B, Stärk K, Sager H, Gottstein B, Reist M. (2006). Simulating the impact of four control strategies on the population dynamics of *Neospora caninum* infection in Swiss dairy cattle. *Prev Vet Med* 77:254-283.

42. Hässig M, Gottstein B. (2002). Epidemiological investigations of abortions due to *Neospora caninum* on Swiss dairy farms. *Vet Rec* 150:538-542.

43. Hernandez J, Risco C, Donovan A. (2001). Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows. *JAVMA* 219:632-635.

44. Hietala SK, Thurmond MC. (1999). Postnatal *Neospora caninum* transmission and transient serologic responses in two dairies. *Int J Parasitol* 29:1669-76.

45. Hobson JC, Duffield TF, Kelton D, Lissemore K, Hietala SK, Leslie KE, McEwen B, Cramer G, Peregrine AS. (2002). *Neospora caninum* serostatus and milk production of Holstein cattle. *JAVMA* 221:1160-1164.

46. Hobson JC, Duffield TF, Kelton D, Lissemore K, Hietala SK, Leslie KE, McEwen B, Peregrine AS. (2005). Risk factors associated with *Neospora caninum* abortion in Ontario Holstein dairy herds. *Vet Parasitol* 127:177-188.

47. Innes E, Andrianarivo A, Björkman C, Williams D, Conrad A. (2002). Immune response to *Neospora caninum* and prospect for vaccination. *Trends Parasitol* 18:497-504.

48. Innes E, Bartley P, Maley S, Wright S, Buxton D. 2007. Comparative host-parasite relationships in ovine toxoplasmosis and bovine neosporosis and strategies for vaccination. *Vaccine* (in press).

49. Innes E, Wright S, Bartley P, Maley S, Macalldowie C, Esteban-Redondo I, Buxton D. (2005). The host-parasite relationship in bovine neosporosis. *Vet Immunol Immunopathol* 108:29-36.

50. Innes E, Wright S, Maley S, Rae A, Schock A, Kirvar E, Bartley P, Hamilton C, Carey I, Buxton D. (2001). Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *Int J Parasitol* 31:1523-1534.

51. Jensen AM, Björkman C, Kjeldsen AM, Wedderkopp A, Willadsen C, Uggla A, Lind P. (1999). Associations of *Neospora caninum* seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds. *Prev Vet Med* 40:151-63.

52. Kashiwazaki Y, Giannechini RE, Lust M, Gil J. (2004). Seroepidemiology of neosporosis in dairy cattle in Uruguay. *Vet Parasitol* 120:139-144.

53. Landmann JK, Jillella D, O'Donoghue PJ, McGowan MR. (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.

54. Larson R, Hardin D, Pierce V. Economic considerations for diagnostic and control options for *Neospora caninum*-induced abortions in endemically infected herds of beef cattle. *J Am Vet Med Assoc* 2004; 224:1597-1604.

55. Lindsay, D.S.; Dubey, J.P.; Duncan, R.B. (1999) Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol* 82:327-333.

56. Lopez-Gatius F, Pabon M, Almeria S. (2004). *Neospora caninum* infection does not affect early pregnancy in dairy cattle. *Theriogenology* 62:606-13.

57. Macalldowie C, Maley S, Wright S, Bartley P, Esteban-Redondo I, Buxton D, Innes E. 2004. Placental pathology associated with fetal death in cattle inoculated with *Neospora caninum* by two different routes in early pregnancy. *J Comp Path* 131:142-156.

58. Mainar-Jaime RC, Thurmond MC, Berzal-Herranz B, Hietala SK. (1999). Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. *Vet Rec* 145:72-75.

59. Maley S, Buxton D, Rae A, Wright S, Schock A, Bartley P, Esteban-Redondo I, Swales C, Hamilton C, Sales J, Innes E. (2003). The pathogenesis of neosporosis in pregnant cattle: inoculation at mid-gestation. *J Comp Path* 129:186-195.

60. McAllister D, Latham S. (2002). *Neospora* 2001. *Trends Parasitol* 18: 4-5.

61. McAllister MM, Björkman C, Anderson-Sprecher R, Rogers DG. (2000). Evidence of point-source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows. *JAVMA* 217:881-887.

62. McAllister MM, Huffman EM, Hietala SK, Conrad PA, Anderson ML, Salman MD. (1996). Evidence suggesting a point source exposure in an outbreak of bovine abortion due to neosporosis. *J Vet Diagn Invest* 8:355-357.

63. McAllister MM; Dubey JP; Lindsay DS; Jolley WR; Wills RA; McGuire AM. (1998). Dogs as the definitive host of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 28:1473-1478.

64. Melo CB, Leite RC, Lobato ZIP, Leite RC. (2004). Infection by *Neospora caninum* associated with bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhoea virus in cattle from Minas Gerais State. *Brazil Vet Parasitol* 119:97-105.

65. Moen AR; Wouda W; Mul MF; Graat EAM; van Werven T. (1998) Increased risk of abortion following *Neospora caninum* abortion outbreaks: a retrospective and prospective cohort study in four dairy herds. *Theriogenology* 49:1301-1308.

66. Moore D, Campero C, Odeón A, Posso M, Cano D, Leunda M, Basso W, Venturini M, Späth E. (2002). Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. *Vet Parasitol* 107:303-316.

67. Moore D, Leunda M, Zamorano P, Odeón A, Romera S, Cano A, De Yaniz G, Venturini M, Campero C. (2005a). Immune response to *Neospora caninum* in naturally infected heifers and heifers vaccinated with



inactivated antigen during the second trimester of gestation. *Vet Parasitol* 130:29-39.

68. Moore D. (2005). Fate of Neospora-seropositive animals: An opinion. *Parasitol Latinoam* 60:192-195. ISSN 0717-7712.

69. Moore D.P. (2005). Neosporosis in South America. *Vet Parasitol* 127:87-97.

70. Ogawa L, Freire RL, Vidotto O, Gondim LFP, Navarro IT. (2005). Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dairy cattle from the northern region of the Paraná State, Brazil. *Arq Bras Med Vet Zootec* 57:312-316.

71. Ogawa L, Freire RL, Vidotto O, Gondim LFP, Navarro IT. (2005). Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dairy cattle from the northern region of the Paraná State, Brazil. *Arq Bras Med Vet Zootec* 57:312-316.

72. Osawa T, Wastling J, Acosta L, Ortellado C, Ibarra J, Innes E. (2002). Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Paraguay. *Vet Parasitol* 110:17-23.

73. Ould-Amrouche A, Klein F, Osdoit C, Mohammed HO, Touratier A, Sanaa M, Mialot J-P. (1999). Estimation of *Neospora caninum* seroprevalence in dairy cattle from Normandy, France. *Vet Res* 30:531-538.

74. Pan Y, Jansen GB, Duffield TF, Hietala S, Kelton D, Lin CY, Peregrine AS. (2004). Genetic Susceptibility to *Neospora caninum* Infection in Holstein Cattle in Ontario. *J Dairy Sci* 87:3967-3975.

75. Paré J, Fecteau G, Fortin M, Marsolais G. (1998). Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. *J Am Vet Med Assoc* 213:1595-1598.

76. Paré J, Thurmond MC, Hietala SK. (1996) Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhood mortality. *Can J Vet Res* 60:133-139.

77. Paré J, Thurmond MC, Hietala SK. (1997). *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *J Parasitol* 83:82-87.

78. Patitucci A, Pérez M, Israel K, Rozas M. (2000). Prevalencia de anticuerpos séricos contra *Neospora caninum* en dos rebaños lecheros de la IX Región de Chile. *Arch Med Vet* 32: 209-214.

79. Patitucci A, Pérez M, Luders C, Ratto M, Dumont A. (1999). Evidencia serológica de infección por *Neospora caninum* en rebaños lecheros del sur de Chile. *Arch Med Vet* 31:215-218.

80. Pereira-Bueno J, Quintanilla-Gozalo A, Seijas-Carballedo A, Costas E, Ortega-Mora LM. (2000). Observational studies in *Neospora caninum* infected dairy cattle: pattern of transmission and age-related antibody fluctuations. In: Hemphill A, Gottstein B. A European perspective on *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 30:906-909.

81. Pereira-Bueno J, Quintanilla-Gozalo A, Seijas-Carballedo A, Costas E, Ortega-Mora LM. (2000). Observational studies in *Neospora caninum* infected dairy cattle: pattern of transmission and age-related antibody

fluctuations. In: Hemphill A, Gottstein B. A European perspective on *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 30:906-909.

82. Piaggio J. (2006). Estudio transversal de Neosporosis en la principal cuenca lechera del Uruguay. Tesis de maestría, Universidad de la República - Facultad de Veterinaria, Montevideo Uruguay.

83. Quintanilla-Gozalo A, Pereira-Bueno J, Tabarés E, Innes EA, González-Paniello R, Ortega-Mora LM. (1999). Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Spain. *Int J Parasitol* 29:1201-8.

84. Reichel M, Ellis J. (2006). If control of *Neospora caninum* infection is technically feasible does it make economic sense. *Vet Parasitol* 142:23-34.

85. Romero J J, Pérez E, Frankena K. (2004). Effect of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite vaccine on the crude abortion rate of Costa Rican dairy cows under field conditions. *Vet Parasitol* 123:149-59.

86. Schares G, Peters M, Wurm R, Barwald A, Conraths FJ. (1998). The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. *Vet Parasitol* 80:87-98.

87. Schares G, Rauser M, Zimmer K, Peters M, Wurm R, Dubey JP, de Graaf DC, Edelhofer R, Mertens C, Hess G, Conraths FJ. (1999). Serological differences in *Neospora caninum*-associated epidemic and endemic abortions. *J Parasitol* 85:688-694.

88. Serrano-Martínez E, Ferre I, Osoro K, Aduriz G, Mota RA, Martínez A, del-Pozo I, Hidalgo CO, Ortega-Mora LM. 2007. Intrauterine *Neospora caninum* inoculation of heifers and cows using contaminated semen with different numbers of tachyzoites. *Theriogenology* 67:729-737.

89. Staubli D, Sager H, Haerdi C, Haessig M, Gottstein B. 2006. Precolostral serology in calves born from *Neospora*-seropositive mothers. *Parasitol Res* 99:398-404.

90. Thurmond MC, Hietala SK, Blanchard PC. (1997c). Herds-based diagnosis of *Neospora caninum*-induced endemic and epidemic abortions in cows and evidence for congenital and postnatal transmission. *J Vet Diagn Invest* 9:44-49.

91. Thurmond MC, Hietala SK. (1996). Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. *Am J Vet Res* 57:1559-1562.

92. Thurmond MC, Hietala SK. (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.

93. Thurmond MC, Hietala SK. (1997b). Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first-lactation dairy cows. *JAVMA* 210:672-674.

94. Trees AJ, Davison HC, Innes EA, Wastling JM. (1999). Towards evaluating the economic impact of bovine Neosporosis. *Int J Parasitol* 29:1195-1200.

95. Trees AJ, Williams DJL. (2005). Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Trends in Parasitol* 21:558-561.

96. Ugglá A, Stenlund S, Holmdahl OJM, Jakubek EB, Thebo P, Kindahl H, Björkman C. (1998). Oral *Neospora*



caninum inoculation of neonatal calves. *Int J Parasitol* 28:1467-72.

97. Václavěk P, Sedlák K, Hurková L, Vodráčková P, Šebesta R, Koudela B. 2007. Serological survey of *Neospora caninum* in dogs in the Czech Republic and a long-term study of dynamics of antibodies *Vet Parasitol* 143:35-41

98. Venturini, M.C.; Venturini, L.; Bacigalupe, D.; Machuca, M.; Echaide, I.; Basso, W.; Unzaga, J.M.; Di Lorenzo, C.; Guglielmone, A.; Jenkins, M.C.; Dubey, J.P. (1999) *Neospora caninum* infections in bovine foetuses and dairy cows with abortions in Argentina. *Int J Parasitol* 29:1705-1708.

99. Waldner CL. (2002). Precolostral antibodies to *Neospora caninum* in beef calves following an abortion outbreak and associated fall weaning weights. *Bov Pract* 36:81-5.

100. Williams D, Guy C, Smith R, Guy F, McGarry J, McKay J, Trees A. (2003). First demonstration of protective immunity against foetopathy in cattle with latent *Neospora caninum* infection. *Int J Parasitol* 33:1059-1065.

101. Williams DJ, Trees AJ. 2006. Protecting babies: vaccine strategies to prevent foetopathy in *Neospora caninum*-infected cattle. *Parasite Immunology* 28:61-71.

102. Williams DJL, Guy CS, McGarry JW, Guy F, Tasker L, Smith RF, MacEachern K, Cripps PJ, Kelly DF, Trees AJ. (2000). *Neospora caninum*-associated abortion in cattle: the time of experimentally-induced parasitaemia

during gestation determines foetal survival. *Parasitology* 121:347-358.

103. Wouda W, Bartels C, Moen A. (1999a). Characteristics of *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995 to 1997). *Theriogenology* 52:233-245.

104. Wouda W, Bartels CJM, Dijkstra T. (2000). Epidemiology of bovine neosporosis with emphasis on risk factors. In: Hemphill A, Gottstein B. A European perspective on *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 30:884-886.

105. Wouda W, Dijkstra T, Kramer A, MH, Maanen C, van Brinkhof J.M. (1999b) Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. *Int J Parasitol* 29:1677-1682.

106. Wouda W, Moen AR, Schukken YH. (1998). Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology* 49:1311-1316.

107. Wouda W, Moen AR, Visser IF, van Knapen F. (1997b). 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.

108. Yaeger MJ, Shawd-Wessels S, Leslie-Steen P. (1994). *Neospora* abortion storm in a Midwestern dairy. *J Vet Diagn Invest* 6:506-508.