

## Capítulo XLIV

### Importancia de *neospora caninum* en la ganadería bovina

César A Obando R.  
Jesús A Maldonado Z.

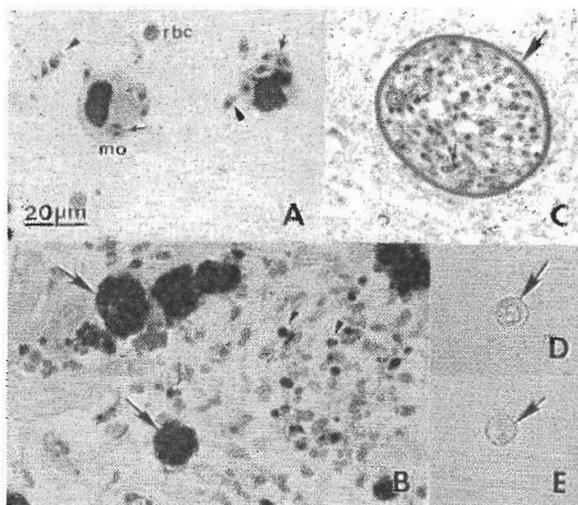
---

*Neospora caninum* es un parásito protozoario intracelular que fue descubierto en caninos de Noruega con síndrome de encefalitis y miocarditis (Bjerkas *et al.*, 1984); posteriormente, se reportó como causa de aborto en bovinos. Perteneció a la familia *Sarcocystidae*, donde se incluyen las especies: *Toxoplasma gondii*, *Isospora*, *Hammondia* y *Sarcocystis* (Atkinsons *et al.*, 2000). *N. caninum* es responsable de la enfermedad conocida como neosporosis fetal bovina o neosporosis abortiva bovina, que ha sido reportada en muchos países del mundo.

Esta enfermedad fue considerada como la mayor causa de abortos bovinos en el estado de California (EUA) en el año 1991. En 1993, Conrad y colaboradores lograron reproducir la enfermedad al inocular taquizoitos en bovinos en forma experimental. En la actualidad, es reconocida como una de las principales causas de abortos en la ganadería bovina (Hernández *et al.*, 2001). Cuando ocurre la infección ésta es de carácter persistente, reportándose mayor número de abortos durante la primera gestación en comparación con las preñeces subsecuentes, lo que sugiere que la respuesta inmunológica del bovino le confiere cierta protección contra el aborto. Sin embargo, hasta el presente, no se ha podido desarrollar una vacuna que proteja contra el aborto, a pesar de que inducen una buena respuesta humoral (Gómez, 2009) y tampoco existen quimioterápicos efectivos para su control. En Venezuela, el primer reporte fue hecho con base a la detección de anticuerpos específicos (Lista, 2006) y como resultados de algunos trabajos la frecuencia de bovinos seropositivos esta alrededor de 17%.

#### AGENTE ETIOLÓGICO Y TAXONOMÍA

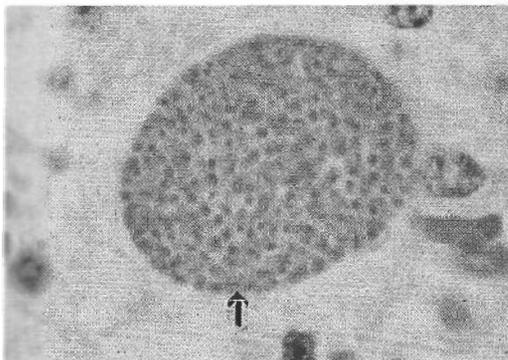
*N. caninum* es un protozoario intracelular obligado, clasificado dentro del *phylum*: *Apicomplexa*, familia *Sarcocystidae*, subfamilia *Toxoplasmatinae*. Es morfológicamente similar a *Toxoplasma gondii* y está relacionado taxonómicamente con otros protozoarios que generan quistes, como: *Toxoplasma*, *Isospora* y *Hammondia* (Barta, 2001). Su ciclo de vida comprende tres estadios: taquizoitos, quistes tisulares con bradizoitos y ooquistes (Figura 1). Los dos primeros se encuentran en los huéspedes intermediarios, ambos son intracelulares (Dubey *et al.*, 2002), mientras que los ooquistes se encuentran y eliminan en las heces del huésped definitivo (McAllister *et al.*, 1998).



**Figura 1. Estadios de *N. caninum* en perros (20 µM)**

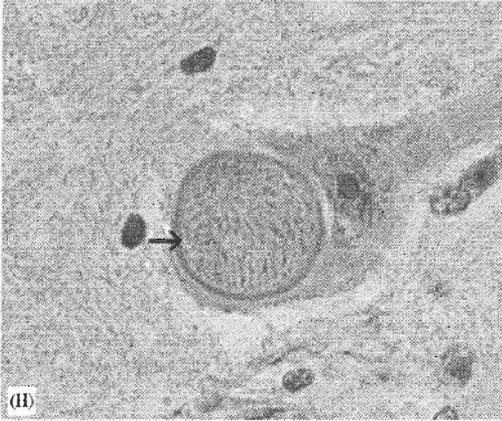
(A) Taquizoítos en una impresión de pulmón. Coloración de Giemsa. Note los organismos individuales (cabezas de flechas), y hay uno dividiéndose en dos (flechas). Compare el tamaño con los glóbulos rojos (rbc) y los macrófagos (mo). (B) Taquizoítos en grupos (flechas) y aislados (cabezas de flechas) en secciones de piel. Coloración inmunohistoquímica con anticuerpos anti-*N. caninum*. (C) Quiste tisular en porción de cerebro. Note la gruesa pared del quiste tisular (flecha), encerrando a los bradizoítos (flechas). Coloración azul de Toluidina. (D) Ooquiste no esporulado con un esporonte individual (flecha). (E) Ooquiste esporulado (flecha). (Dubey, 2003).

Los taquizoítos (Figura 2) tienen forma de media luna o globular, miden 3 a 7 µm de largo por 1 a 5 µm de ancho, y se encuentran generalmente a nivel citoplasmático (Dubey, 2003). Penetran las células del huésped, se dividen por endodiogénesis, ocasionando ruptura y destrucción de las mismas. En ausencia de respuesta inmune causan muerte celular progresiva; se han encontrado en neuronas, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, miositos, células renales, hepatocitos y pueden ser transmitidos al feto a través de la placenta.



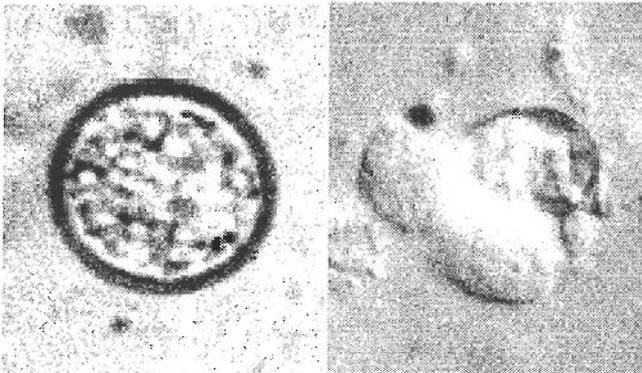
**Figura 2. Grupo de taquizoítos intracelulares de *Neospora caninum*. H-E x 600. Dubey et al., 2006.**

Los quistes tisulares son de forma circular u oval (Figura 3), miden más de  $107 \mu\text{m}$  de longitud y se encuentran mayormente en el sistema nervioso central (cerebro, médula espinal y nervios), incluyendo la retina (Dubey *et al.*, 1988b). La pared del quiste tisular es mayor de  $4 \mu\text{m}$  de espesor y contiene aproximadamente entre 50-500 bradizoítos, quienes constituyen la forma infectiva. En músculos de bovinos y caninos, naturalmente infectados con *N. caninum*, se han encontrado quistes tisulares de pared delgada ( $0,3-1,0 \mu\text{m}$ ) (Peters *et al.*, 2001).



**Figura 3.** Quiste tisular de pared fina (flecha) dentro de una neurona en la médula espinal de un becerro de 3 días de nacido. h-e x 600. (Dubey *et al.*, 2006).

Los ooquistes no esporulados son de forma esférica o subsférica, miden de  $10 \mu\text{m}$  a  $11 \mu\text{m}$  de diámetro, no tienen color (Figura 4), son morfológicamente similares a los ooquistes de *Toxoplasma gondii* y *Hammondia hammondi*; son producidos y eliminados en las heces del huésped definitivo (perro), durante cierto período de tiempo después de la ingestión de los bradizoítos, constituyendo la fase sexual del parásito. Estos ooquistes esporulan en 24 horas en el medio ambiente (esporogonia), fuera del hospedero, formando los ooquistes infectivos (2 esporocistos con 4 esporozoítos cada uno). Una vez que los ooquistes son ingeridos, los esporozoítos son liberados y penetran a través de la pared intestinal, diseminándose por vía sanguínea (Dubey, 1999). Poco se sabe sobre la supervivencia de los ooquistes en el medio ambiente y si otros cánidos también actúan como hospedadores definitivos de *N. caninum*.



**Figura 4.** a) ooquiste no esporulado; b) ooquiste esporulado de *N. caninum*. (Interv Int).

## EPIDEMIOLOGÍA

### Distribución geográfica y prevalencia

*N. caninum* tiene una amplia distribución en el mundo, habiendo sido reportado en Estados Unidos de América, Canadá, Sur América (Argentina, Brasil, Chile, Ecuador, Paraguay, Perú, Uruguay, Colombia y Venezuela) (Zambrano *et al.*, 2001; Moore, 2005; Lista, 2006); en varios países de Europa (Bélgica, Dinamarca, Reino Unido, Francia, Alemania, Hungría, Italia, Holanda, Polonia, Portugal, España); así como, en África, Asia, Australia, Nueva Zelanda, Korea, Japón y Tailandia. (Wouda *et al.*, 1999).

La neosporosis clínica ha sido reportada en varias especies, tales como: bovinos, ovinos, caprinos, equinos, venados y rinocerontes. Además, se han detectado anticuerpos contra *N. caninum* en búfalos, lobos, zorros, camellos y felinos, sugiriendo que estos animales también son hospedadores intermediarios (Dubey *et al.*, 1988a).

La prevalencia serológica en los bovinos varía en diferentes países y regiones, lo que depende del manejo animal e incluso el tipo de prueba serológica utilizada, como consecuencia de la sensibilidad de las mismas (Paré *et al.*, 1996). En rebaños lecheros, las prevalencias son usualmente más altas que en rebaños de carne, debido a que los animales se manejan en ambientes más confinados (Barr *et al.*, 1997).

En Venezuela, las encuestas serológicas realizadas en diez estados, sobre una muestra de 550 vacas, distribuidas en 75 unidades de producción reflejó que el 17% de los animales evaluados se habían infectado con *N. caninum*, sugiriendo que la prevalencia nacional pudiera estar alrededor de dicha cifra. Con relación a los rebaños, en 60 de 75 (80%) se detectaron vacas con anticuerpos específicos contra el parásito, lo que sugiere que *N. caninum* tiene una distribución amplia en el rebaño nacional (Fernández, 2004; Lista *et al.*, 2006; Escalona, 2008). En todas las encuestas realizadas las muestras de suero fueron procesadas mediante la prueba de ELISA. Hasta el presente, no se ha reportado ningún caso de neosporosis canina en humanos; sin embargo, debido a la gran variedad de huéspedes intermediarios y a la estrecha relación filogenética con *T. gondii*, la posibilidad de que ocurra no puede ser excluida (Petersen *et al.*, 1999).

### Ciclo biológico y vías de transmisión

Los caninos juegan un papel importante en el ciclo biológico del parásito (Figura 5) (Dubey *et al.*, 1990). El uso de bioensayos y técnicas moleculares han demostrado que el perro es el hospedador definitivo de *N. caninum* (Basso *et al.*, 2001) y actúa tanto como hospedador intermediario como definitivo (McAllister *et al.*, 1998; Lindsay *et al.*, 1999; Basso *et al.*, 2001; Dubey *et al.*, 2002). Los hospederos definitivos adquieren la infección al ingerir tejidos de los hospederos intermediarios, tales como fetos abortados y placentas conteniendo taquizoítos y quistes tisulares (Dubey & Lindsay, 1996; McAllister *et al.*, 1998; Dubey, 1999a). La pared del quiste es degradada por los jugos gástricos liberando las formas parasitarias (Dubey & Lindsay, 1996) y luego de realizar una fase de reproducción asexual y sexual en el intestino, los ooquistes son eliminados en las heces, siendo infectivos a las 24 horas después de su eliminación. Los ooquistes esporulados ingresan a los hospederos intermediarios por la vía oral, mediante la ingestión de pasto y agua contaminados con las heces de los perros, generando en éste los taquizoítos y

quistes tisulares con sus bradizoítos, fase conocida como transmisión horizontal (McAllister *et al.*, 1998; Dubey *et al.*, 2002). Los esporozoítos liberados en el aparato gastrointestinal del hospedero intermediario pueden alcanzar las vías sanguínea y linfática y migrar a todos los tejidos; no obstante, sólo se ha reportado la presencia de quistes en el sistema nervioso central y el tejido muscular (Dubey, 1999a; Dubey, 2003). El bovino puede infectarse por la vía oral, siendo el ciclo de vida heteroxeno (McAllister, 1996; Thurmond & Hietala, 1997; Dubey, 2003); sin embargo, la vía congénita es el principal mecanismo de transmisión (transmisión vertical).

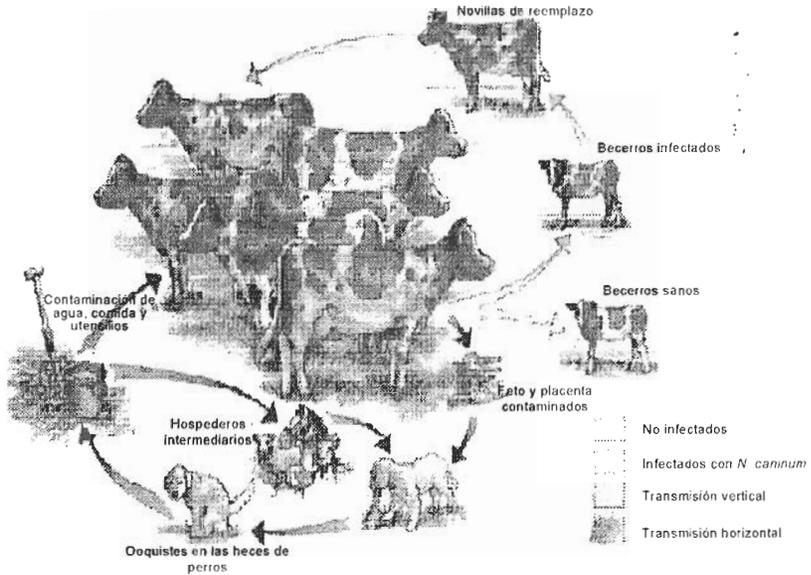


Figura 5. Ciclo Biológico de *Neospora caninum* (Intervet International).

En la vaca gestante, después de una infección oral o por reactivación de quistes tisulares en estado de latencia, el parásito es capaz de atravesar la placenta vía hemática e infectar el feto (Dubey, 2003). Se considera que la transmisión vertical es la responsable del 95% de las infecciones en el bovino (Davison *et al.*, 1999), aunque otros autores consideran que la transmisión horizontal ocurre con mayor frecuencia. Desde el punto de vista epidemiológico, se ha reportado que la transmisión vertical en la vaca lechera puede ocurrir por varias generaciones, sin la participación de ningún factor externo; la transmisión de una vaca a otra y la transmisión venérea no han sido demostradas (Barr *et al.*, 1997), así como tampoco la transmisión por transplante de embriones (Baillargeon *et al.*, 2001). Un estudio, en rebaños lecheros, señaló la presencia de perros, aves y el consumo de ensilaje de maíz, como factores de riesgo de *N. caninum* asociados con abortos epidémicos (Bartels *et al.*, 1999).

La inmunosupresión ocasionada por la infección simultánea con el virus de la diarrea viral bovina (DVB) o por la infección prolongada con micotoxinas podría actuar como factores que potencian el efecto abortigénico de *N. caninum*, en fincas enzooticamente infectadas (Wouda *et al.*, 1998; Obando *et al.*, 2010).

## **PATOGÉNESIS Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS**

*N. caninum* es capaz de producir grandes lesiones necróticas y muerte celular por multiplicación activa de los taquizoitos, pudiendo ocasionar enfermedades neuromusculares en los bovinos y otros hospedadores, al destruir células nerviosas y afectar su conductividad (Dubey & Lindsay, 1996). La invasión de *N. caninum*, la destrucción celular y la ocurrencia de enfermedad depende del equilibrio existente entre la capacidad de penetración y multiplicación de los taquizoitos en las células del hospedero y la habilidad de éste para inhibir la multiplicación del parásito. La invasión celular involucra receptores de superficie. Después de la unión, la membrana externa del parásito forma una estrecha zona de unión móvil con la membrana plasmática del hospedero que empuja al parásito al interior de la célula, hasta que éste es completamente encerrado dentro de la vacuola parasitófora. Existen más de doce proteínas secretadas y 2 antígenos principales de superficie, que han sido identificados de *N. caninum*, asociados con la invasión y el establecimiento de la vacuola parasitófora. La unión móvil se lleva a cabo por el citoesqueleto del parásito, sin utilizar energía de la célula del hospedero. La membrana plasmática del hospedero es usada para formar la membrana vacuolar parasitófora. La mitocondria y el retículo endoplásmico de la célula del hospedero contribuyen a la formación de un sistema de membrana intravacuolar túbulo-vesicular.

### **Patogénesis del aborto**

La patogénesis de la neosporosis en el bovino no ha sido totalmente esclarecida, pero hay hallazgos que ayudan a comprender los mecanismos involucrados en la transmisión vertical del parásito y la muerte fetal (Dubey, 2003). En la hembra bovina gestante los taquizoitos circulantes, resultantes de una infección oral o por reactivación de los bradizoitos alojados en los quistes tisulares del sistema nervioso central, por influencia de los cambios hormonales que se generan durante la gestación, pueden originar parasitemia (Sawada *et al.*, 2000). Estos una vez en las células infectadas se multiplican ocasionando daño celular o forman quistes tisulares capaces de persistir durante toda la vida del animal. Los cambios hormonales e inmunológicos en la hembra gestante, en conjunto con el desarrollo del sistema inmune del feto, determinan si la infección desencadena la muerte del feto, el nacimiento de un ternero infectado, que en el caso de ser hembra transmitirá la enfermedad a su descendencia y tendrá alta probabilidad de abortar. Aunque poco frecuente, también puede ocurrir el nacimiento de becerros libres de infección (Williams *et al.*, 2000). La edad del feto, magnitud de la parasitemia y las características de la cepa de *N. caninum* involucrada, también influyen en el resultado de la infección. La placentitis, focos necróticos en los cotiledones y las lesiones necróticas e inflamatorias en el sistema nervioso central y corazón de los fetos, son consideradas como las causas del aborto. Se ha estimado que el aborto se presenta después de tres o cuatro semanas de ocurrida la infección fetal (Barr *et al.*, 1991).

### **SIGNOS CLÍNICOS**

El ganado bovino infectado por *N. caninum*, por lo general, muestra pocos síntomas clínicos. El aborto es el único signo clínico observado, pudiendo ocurrir a cualquier edad del animal y desde los tres meses de gestación hasta el final de la misma,

aunque se presenta con mayor frecuencia entre el cuarto y sexto mes. Los abortos se ocurren en cualquier época del año y pueden ser endémicos o epidémicos (Dubey, 1999). Los fetos infectados, a través de la placenta, pueden morir y ser reabsorbidos, momificados, autolizados, nacer muertos, nacer vivos pero enfermos o nacer clínicamente normales e infectados (Dubey & Lindsay, 1996).

La encefalitis y placentitis, con focos de necrosis, son las lesiones que con mayor frecuencia se observan cuando se realiza el diagnóstico de aborto por éste parásito. En becerros infectados, menores de dos años, han sido reportado signos clínicos mayormente de origen neurológico, tales como: incapacidad para levantarse, los miembros anteriores y/o posteriores pueden estar flexionados o hiperextendidos, disminución del reflejo patelar y pérdida de la conciencia propioceptiva. Pueden nacer de bajo peso, exoftalmia y con apariencia asimétrica de los ojos (Dubey, 1999).

## DIAGNÓSTICO

El diagnóstico presuntivo de la neosporosis bovina normalmente es difícil, debido a que los animales infectados crónicamente, no muestran síntomas clínicos o lo hacen muy poco. El aborto, único signo clínico observado, puede ocurrir como consecuencia de muchos otros agentes microbiológicos y, además, hay escaso número de parásitos en los fetos abortados (Jenkins *et al.*, 2002). Para el diagnóstico definitivo se requiere de pruebas de laboratorio. Entre las pruebas más frecuentemente utilizadas para el diagnóstico del aborto por neosporosis bovina se encuentran: la histopatología, la inmunohistoquímica y las pruebas serológicas.

### Histopatología

La histopatología es un método corrientemente utilizado para el diagnóstico de abortos, igualmente cuando se sospecha de *N. caninum*, a pesar de que no hay lesiones patognomónicas originadas por este parásito (Dubey, 1999). Para ello son de utilidad las muestras de cerebro, tronco encefálico, pedúnculos cerebelosos, corazón, hígado y placenta (Barr *et al.*, 1997). Las lesiones fetales que con más frecuencia se observan son la encefalitis y miocarditis multifocal no supurativas, las cuales si bien no son patognomónicas pueden conducir a un diagnóstico presuntivo de neosporosis (Wouda *et al.*, 1997). Se puede observar la hepatitis portal no supurativa, así como, lesiones necróticas e inflamatorias en la placenta, pero el parásito es difícil de encontrar (Bergeron *et al.*, 2001). Una de las desventajas de este método es que usualmente los fetos son retenidos dentro del útero, horas o días después de su muerte, permitiendo que la autólisis progrese y dificulte la observación las lesiones existentes (Thurmond *et al.*, 1995).

### Inmunohistoquímica

El diagnóstico por histopatología es muy limitado ya que con frecuencia, hay poca cantidad de parásitos en los tejidos autolizados y ésta, a su vez, dificulta la observación de las lesiones en las preparaciones con hematoxilina-eosina (Dubey, 1999). En consecuencia, la inmunohistoquímica (IHQ) es de más utilidad, por su relativa mayor sensibilidad. Este método se usa con frecuencia para identificar la presencia del parásito en tejidos que muestren lesiones, particularmente de cerebro, corazón,

hígado y pulmón. Una de sus limitaciones es que es poco sensible debido al escaso número de parásitos en los tejidos afectados. En consecuencia, el éxito de la IHQ depende en gran medida del número de cortes histológicos realizados (Wouda *et al.*, 1997). Además, hay tener presente que el estado de autólisis de los fetos puede disminuir también la precisión diagnóstica.

### Pruebas serológicas

Las pruebas serológicas se fundamentan en la detección de anticuerpos específicos contra *N. caninum* como consecuencia de haber estado el animal expuesto al parásito. La reactividad a la prueba de sueros de vacas abortadas sólo es indicativa de que el animal está infectado, pero no significa que el aborto sea consecuencia del parásito; para establecer el diagnóstico es necesario el examen de los fetos y realizar el aislamiento del parásito o la determinación de sus antígenos mediante pruebas inmunológicas (Jenkins *et al.*, 2002).

Las pruebas serológicas son de gran utilidad para estudios epidemiológicos, particularmente cuando se desea conocer el estado de infección de los bovinos de un rebaño, localidad, región o país. Más aún, tienen importante valor diagnóstico cuando se quiere conocer si *N. caninum* es responsable de la ocurrencia de abortos en determinado rebaño, para lo cual basta comparar la frecuencia de abortos en grupos estadísticamente significativos de vacas y novillas seropositivas y seronegativas al parásito (Thurmond & Hietala, 1996; Obando *et al.*, 2010).

Estas pruebas son de gran valor estratégico, en el saneamiento de rebaños, al permitir identificar los becerros con infección congénita, mediante la detección de anticuerpos contra *N. caninum* en sueros recolectados antes del consumo de calostro (Paré *et al.*, 1996). Entre las pruebas serológicas, la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y el ensayo inmunoenzimático (ELISA) son las más comúnmente utilizadas en los laboratorios de diagnóstico.

### Otras pruebas

El Inmunoblot (Western Blot) es una prueba de alta sensibilidad y especificidad, en comparación con las pruebas de histopatología e inmunohistoquímica; pero es mucho menos sensible y específica que la prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Sin embargo, ninguna de las dos es de elección cuando se requieren procesar muestras numerosas, debido a su alto costo, requerimientos de equipo y laboriosidad.

## TRATAMIENTO, PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA ENFERMEDAD

Hasta el presente no existe tratamiento que elimine a *N. caninum* ni que impida la transmisión vertical del parásito en hembras infectadas (Dubey, 2003), a pesar de que con algunos antimicrobianos se ha logrado reducir el número de taquizoítos cultivados *in vitro* (Lindsay *et al.*, 1994). Entre ellos la clindamicina, diclazuril, robenidina y pyrimethamina han sido las más efectivas. Se ha reportado que con el uso de toltrazuril y praziquantel, los cuales son derivados de la triazolinona, se han logrado disminuir las lesiones cerebrales de terneros inoculados experimentalmente. En consecuencia, la única

forma efectiva de controlar la neosporosis bovina en los rebaños es mediante la eliminación de las hembras infectadas, para evitar la transmisión vertical; investigaciones realizadas han demostrado que entre 78 y 95% de las vacas infectadas paren becerros infectados (Paré *et al.*, 1996). La ausencia de anticuerpos en becerros recién nacidos de madres infectadas, no es necesariamente indicativo de libres de infección por el parásito, ya que se han detectado por PCR, becerros infectados nacidos de vacas seronegativas (Sager *et al.*, 2003). Además hay establecer un control efectivo de los perros, los cuales constituyen la fuente principal de la transmisión horizontal.

Para el control de la transmisión vertical hay que evaluar la totalidad de las hembras, mediante una prueba serológica e identificar cuales de ellas estan infectadas. Lo ideal sería la eliminación de todas las seropositivas, pero por supuesto, ello dependerá de su proporción en el rebaño y de la posibilidad del propietario para reducir su población animal, tomando en consideración su impacto económico dentro de la unidad de producción.

Cuando la proporción de hembras seropositivas es considerable, se recomienda establecer un plan sistemático y mantenido de eliminación anual, que permita sacar progresivamente estos animales del rebaño, para evitar el nacimiento de más animales infectados. En caso el caso de rebaños de leche donde, por razones económicas, sea necesario incorporar reemplazos seropositivos al servicio, para mantener ciertos niveles de producción de leche, ello pudiera ser factible, pero hay que tener en cuenta que sus crías hembras deberán ser eliminadas, al igual que ellas al final de la lactancia. La cuarentena y prueba serológica de toda hembra bovina que ingrese a la finca es una necesidad.

En cuanto a la transmisión horizontal, es importante restringir el acceso de los perros a los corrales y potreros, realizar la eliminación rápida de placentas o fetos abortados, para evitar su ingestión por carnívoros; los potreros de maternidad contribuyen en buena forma al establecimiento de estas medidas.

## CONCLUSIONES

*Neospora caninum* es un parásito de importancia dentro de la ganadería bovina, por su comprobada participación como agente abortigénico, contra el cual no hay tratamiento ni vacunas efectivas para su control. Estudios realizados en otros países lo señalan como la principal causa de abortos, en rebaños lecheros de algunos estados. Este parásito, poco estudiado en Venezuela, se viene difundiendo en la ganadería nacional, como consecuencia de la práctica habitual de mantener perros dentro de nuestras unidades de producción; además, del desconocimiento de la enfermedad y del mal manejo sanitario. Los escasos estudios realizados, hasta ahora, sugieren que un gran número de rebaños están infectados, aunque las proporciones de animales seropositivos están en niveles bajos, fáciles de controlar. Pocas fincas realizan despistaje de *N. caninum* en sus rebaños y comercializan hembras sin conocimiento de la condición de los animales que venden o incorporan para la cría. En consecuencia, es oportuno e imperativo recolectar muestras de suero representativas de los rebaños y analizarlas por serología, con el objeto de conocer si *N. caninum* está presente en las fincas y de implementar planes de saneamiento, antes de que las proporciones de animales infectados sean elevadas, con las consecuentes pérdidas económicas debido a la ocurrencia de abortos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Atkinson R, Harper P, Reichel M, Ellis J. 2000. Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infection of cattle. *Parasitol Today* 16 (3): 110 – 114.
- Baillargeon P, Fecteau G, Paré J, Lamothe P, Sauve R. 2001. Evaluation of the embryo transfer procedure proposed by the International Embryo Transfer Society as a method of controlling vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle. *J Am Vet Med Assoc* 218: 1803 – 1806.
- Barr BC, Anderson ML, Dubey JP, Conrad PA. 1991. *Neospora* like protozoal infections associated with bovine abortions. *Vet Pathol* 28:110-116.
- Barr BC, Björkas I, Buxton D, Conrad P, Dubey JP, Ellis J, Jenkins M, Johnston S, Lindsay D, Sibley L, Trees A, Wouda W. 1997. Neosporosis Report the international *Neospora* workshop. *Comp Parasitol* 4 (19): 120-127.
- Barta J. 2001. Molecular approaches for inferring evolutionary relationships among protistan parasites. *Vet Parasitol.* 101: 175-186.
- Bartels CJM, Wouda W, Shukken H. 1999. Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995 to 1997). *Theriogenology* 52: 247-257.
- Basso W, Venturini L, Venturini MC, Hill DE, Kwok OCH, Shen SK, Dubey JP. 2001. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. *J Parasitol* 87 (3): 612-618.
- Bergeron N, Girard C, Paré J, Fecteau G, Robinson J, Baillargeon P. 2001. Rare detection of *Neospora caninum* in placentas from seropositive dams giving birth to full-term calves. *J Vet Diagn Invest* 13: 173-175.
- Björkas I, Mohn SF, Presthus J. 1984 Unidentified cyst forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z Parasitenk* 70: 271-274.
- Conrad PA, Barr BC, Sverlow KW, Anderson M, Daft B, Kinde H, Dubey JP, Munson L, Ardans A. 1993. In vitro isolation and characterization of a *Neospora* sp. from aborted bovine fetuses. *Parasitol* 106: 239-249.
- Davison HC, Otter A, Trees AJ. 1999. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. *Int J Parasitol.* 29: 1683-1689.
- Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Topper MJ, Uggla A. 1988a. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Med Assoc* 192: 1269-1285.
- Dubey JP, Hattel AL, Lindsay DS, Topper MJ. 1988b. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: Isolation of the causative agent and experimental transmission. *J Am Vet Med Assoc* 193: 1259-1263.
- Dubey JP, Hartley WJ, Lindsay DS. 1990. Congenital *Neospora caninum* infection in a calf with spinal cord anomaly. *J Am Vet Med Assoc* 197: 1043-1044.
- Dubey JP, Lindsay DS. 1996. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol* 67: 1-59.
- Dubey JP. 1999. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet Parasitol.* 84: 349-367.
- Dubey JP. 1999a. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *J Am Vet Med Assoc* 8 (214): 1160-1163.
- Dubey JP, Barr BC, Barta JR. 2002. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *Int J Parasitol* 32: 929-946.

Dubey JP. 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol* 41: 1-16.

Escalona J. 2008. Factores de riesgo asociados a la prevalencia de neosporosis bovina en el Municipio Bolívar del Estado Yaracuy. Trabajo de grado de Maestría, Postgrado de Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela. 144p.

Fernández J. 2004. Seropositividad de la neosporosis bovina en fincas de la región de Tucacas, Estado Falcón. Trabajo de grado de Maestría, Postgrado de Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela. 83p.

Gomez C. 2009. Evaluación de una vacuna de taquizoitos muertos de *Neospora caninum*, en un rebaño lechero con neosporosis endémica en el estado Lara. Trabajo de grado de Maestría, Postgrado de Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela. 85p.

Hernández J, Risco C, Donovan A. 2001. Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc* 219: 632-635.

Jenkins MC, Baszler T, Björkman C, Schares G, Williams D. 2002. Diagnosis and sero-epidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *Int J Parasitol* 32: 631-636.

Lindsay DS, Rippey NS, Cole RA, Parsons LC, Dubey JP, Tidwell RR, Blagburn BL. 1994. Examination of the activities of 43 chemotherapeutic agents against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells. *Am J Vet Res* 55: 976-981.

Lindsay DS, Dubey JP, Duncan RB. 1999. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol* 82: 327-333.

Lista D. 2006. Serological evidence of *Neospora caninum* in dual-purpose cattle herds in Venezuela. *Vet Parasitol* 136: 347-349.

McAllister M. 1996. Evidence suggesting a point source exposure in a outbreak of bovine abortion due to neosporosis. *J Vet Diagn Invest* 8: 355-357.

McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire AM. 1998. Dogs are definitive host of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 28: 1473-1478.

Moore D, Leunda M, Zamorano P, Odeón A, Romera S, Cano A, De Yaniz G, Venturini M, Campero C. 2005. 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.

Obando C, Bracamonte M, Montoya A, Cadenas V. 2010. *Neospora caninum* en un rebaño lechero y su asociación con el aborto. *Revista Científica, FCV-LUZ*. XX (3): 235 – 239.

Paré J, Thurmond MC, Hietala SK. 1996. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calthood mortality. *Canadian J Vet Res*. 60: 133-139.

Peters M, Lutkefels E, Heckeroth AR, Shares G. 2001. Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. *Int J Parasitol* 31: 1144-1148.

Petersen E, Lebech M, Jensen L, Lind P, Rask M, Bagger P, Björkman C, Uggla A. 1999. *Neospora caninum* infection and repeated abortions in humans. *Emerg Infect Dis* 5: 278-280.

Sager H, Gloor M, Björkman C, Kritznier S, Gottstein B. 2003. Assessment of antibody avidity in aborting cattle by a somatic *Neospora caninum* tachyzoite antigen IgG avidity ELISA. *Vet Parasitol* 112: 1-10.

Sawada M, Kondo H, Tomioka Y, Park C, Morita T, Shimada A. 2000. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected adult dairy cow. *Vet Parasitol* 90: 247-252.

Thurmond MC, Anderson ML, Blanchard PC. 1995. Secular and seasonal trends of *Neospora* abortion in California dairy cows. *J Parasitol* 81: 364-367.

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

Thurmond MC, Hietala SK. 1997. Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. *Am J Vet Res* 58: 1381-1385.

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. *Parasitol* 121: 347-358.

Wouda W, Moen AR, Visser IJR, Van Knapen F. 1997. Bovine fetal neosporosis: 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.

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

Wouda W, Dijkstra T, Kramer AMH, Van Maanen C, Brinkhof JMA. 1999. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. *Int J Parasitol* 29: 1677-1682.

Zambrano J, Cotrino V, Jiménez C, Romero M, Guerrero B. 2001. Evaluación serológica de *Neospora caninum* en bovinos en Colombia. ACOVEZ Convención seguridad alimentaria siglo XXI. 2001; 26 Available from: URL: <http://www.encolombia.com/acovez.htm>).