



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	2
RESUMEN	3
ABSTRACT.....	4
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. Distribución e importancia económica	5
1.2. Etiología.....	6
1.3. Ciclo biológico	8
1.4. Epidemiología	10
1.5. Cuadro clínico	11
1.6. Diagnóstico	14
1.7. Tratamiento, prevención y control	15
2. SITUACIÓN EN ESPAÑA	18
2.1. Estudios de prevalencia	18
2.2. Estudios de aspectos epidemiológicos	21
2.3. Importancia de la fauna silvestre	21
CONCLUSIONES	23
VALORACIÓN PERSONAL.....	24
BIBLIOGRAFÍA.....	25

RESUMEN:

La neosporosis bovina es una enfermedad de distribución mundial causada por un protozoo, *Neospora caninum*. Este parásito puede afectar a un gran rango de hospedadores, muchos de los cuales puede que todavía no se conozcan, pero tiene preferencia por los cánidos y los bovinos. Esta patología provoca grandes pérdidas económicas en las explotaciones de ganado vacuno debido a que es una importante causa de abortos. La infección puede transmitirse tanto por vía horizontal como por vía vertical (transplacentaria). Las vacas infectadas pueden abortar desde el tercer mes de gestación. En ocasiones no se produce el aborto y nacen terneros sin signos clínicos pero que estarán persistentemente infectados. En los fetos abortados, las lesiones más características producidas por la neosporosis son áreas de necrosis múltiples. Respecto al diagnóstico de la enfermedad, se utiliza el análisis serológico en las vacas en busca de anticuerpos frente a *N. caninum*. En los fetos abortados se usa la PCR en tejidos y órganos como cerebro y corazón para detectar la presencia de ADN del parásito y el estudio histológico de las lesiones. A pesar de su importancia económica, a día de hoy no existe tratamiento ni vacuna efectiva frente a la infección por *N. caninum*. En España se ha confirmado su importancia, con valores de seroprevalencia entre el 14 y el 29,6%. En este trabajo de revisión bibliográfica, se abordan los principales aspectos etiológicos, epidemiológicos, clínicos y diagnósticos de la enfermedad, y su situación actual en España.

ABSTRACT

Bovine neosporosis is a disease of worldwide distribution caused by the protozoan *Neospora caninum*. This parasite can affect a large range of hosts, many of which may still be unknown, but it has a preference for canines and bovines. This pathology causes great economic losses in cattle farms because it is an important cause of abortions in this host species. Cattle can be horizontally or vertically (transplacental) infected by *N. caninum*. Infected cows may abort from the third month of pregnancy. Sometimes, calves are born without clinical signs but will be persistently infected. Multifocal areas of necrosis are the most typical lesions in aborted fetuses. Infection in cows is usually diagnosed by the detection of specific antibodies by serological tests. Both histology and PCR in samples from tissues such as brain and heart are used to diagnose *N. caninum* infection in aborted fetuses. Currently, there is no vaccination or approved treatment for *Neospora*. Seroprevalence rates in cattle farms in Spain ranges from 14 to 29.6%. The main etiological, epidemiological, clinical and diagnostic aspects of this disease, as well as its current situation in Spain, will be addressed in this review.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA:

1. INTRODUCCIÓN:

La neosporosis bovina es una enfermedad parasitaria de distribución mundial, producida por el protozoo *Neospora caninum*, el cual afecta principalmente a perros y vacas. Es un parásito intracelular obligado que tiene un amplio abanico de hospedadores, muchos de los cuales puede que todavía se desconozcan. Las vacas se comportan como hospedadores intermediarios, mientras que los cánidos domésticos son el hospedador definitivo principal. Se describió por primera vez como nuevo género y especie en 1988 (Dubey y Lindsay, 1996), sin embargo ya se había identificado en 1984 en el perro (Bjerkås y col., 1984) pero debido a su similitud, se confundió con *Toxoplasma gondii*. En 1989, Thilsted y Dubey identificaron por primera vez *Neospora caninum* como agente etiológico de abortos en ganado vacuno. Desde su descripción, la neosporosis se ha convertido en la principal causa de abortos en vacas produciendo importantes pérdidas económicas en el sector primario.

Respecto a su epidemiología, la neosporosis bovina no afecta por igual al ganado vacuno de leche y al de carne. Su principal vía de transmisión es la materno-fetal a través de la placenta, aunque la transmisión horizontal no debe menospreciarse. El principal síntoma de la enfermedad es el aborto, que suele suceder entre el 5º y el 7º mes de gestación (Dubey, 1999). En ocasiones, el aborto no ocurre y se produce el nacimiento de terneros clínicamente sanos pero infectados persistentemente. No existen evidencias indicativas de la capacidad zoonótica de *N. caninum*, como así confirman los estudios serológicos realizados en población humana (Dubey y col., 2007; McCann y col., 2008). A pesar de su alta prevalencia en los rebaños, todavía no existe tratamiento ni vacuna frente a la enfermedad, lo que explica su importancia económica. Esta revisión bibliográfica se centra en la descripción de las principales características de la enfermedad desde su etiología hasta su control y prevención. Además se revisa su situación actual en España, así como los diferentes estudios y experimentos que se están llevando a cabo en la actualidad.

1.1. Distribución e importancia económica:

La neosporosis bovina es una enfermedad de distribución mundial, que desde que se describiera por primera vez en 1988 se ha convertido en una patología de importancia internacional. Es considerada una de las causas más importantes de abortos en las vacas, que se traducen en grandes pérdidas económicas en la producción primaria. Diversos estudios también afirman que la enfermedad afecta a la producción láctea; en algunas publicaciones relacionan la infección con una disminución de leche en los animales afectados, aumentando

así sus repercusiones económicas negativas (Thurmond y Hietala, 1997b). Sin embargo, otros autores hablan de un aumento de la producción láctea en vacas seropositivas (Pfeiffer y col., 2002; Hall y col., 2005).

La ausencia de tratamientos y vacunas efectivas frente a la infección agrava las pérdidas económicas. El tratamiento con toltrazuril resulta demasiado caro, además de existir riesgo de que aparezcan residuos del medicamento en leche y carne. Las vacunas disponibles hasta el momento tampoco han resultado demasiado eficaces. La vacuna "Neoguard", que fue retirada del mercado, demostró poco más del 60% de eficacia en el mejor de los casos (Weston y col., 2012).

Existen otros factores que pueden influir en los efectos económicos que produce *Neospora caninum*. La raza puede tener influencia en la susceptibilidad de las vacas. Por ejemplo, en Suecia se ha observado una asociación significativa entre la infección y algunas razas lecheras (Bartels y col., 2006). Otro factor importante es el manejo que se lleve a cabo en el rebaño. Las pérdidas económicas serán mayores en producciones intensivas debido a la mayor facilidad de transmisión del parásito. La producción láctea del rebaño, la nutrición o la convivencia con otras patologías también pueden tener repercusión en la presentación de la enfermedad.

Tanto Trees y col. (1999) como Bartels y col. (2006) afirman que las pérdidas económicas producidas por esta patología no solo están asociadas a los abortos, sino que a éstos se suman un incremento del intervalo entre partos, la reducción de la producción de leche, la disminución del valor del rebaño y una elevada tasa de sacrificio, entre otros (Trees y col., 1999; Bartels y col., 2006).

1.2. Etiología:

Neospora caninum es un parásito protozoo del phylum *Apicomplexa* que pertenece a la familia *Sarcocystidae*. Morfológicamente es bastante similar a *Toxoplasma gondii*, de hecho cuando se describió por primera vez en 1984 se creía que eran la misma especie; y no fue hasta 1988 cuando se describió *Neospora caninum* como nuevo género y especie. Se trata de un parásito intracelular que atraviesa por diferentes estadios evolutivos a lo largo de su ciclo biológico (Figura 1). Los taquizoítos, la forma en la que se reproducen activamente en el hospedador intermediario, tienen forma semilunar o globular. Miden entre 3-7 μm de largo y 1-5 μm de ancho, dependiendo del momento de la división en que se encuentren (Dubey y col., 2004). Poseen un complejo apical que les permite ingresar en las células activamente y en su

citoplasma encontramos complejo de Golgi, retículo endoplasmático, núcleo, mitocondrias, ribosomas, gránulos densos y gránulos de amilopectina (Speer y col., 1999).

Una vez que el taquizoíto ha invadido la célula diana, permanece en su interior rodeado por una vacuola parasitófora, secretando proteínas que forman una red tubular en el interior de la vacuola y comenzando su proceso de división por endodiogenia (Hemphill y col., 1998). En el hospedador intermediario también encontramos bradizoítos, esféricos u ovales, con un tamaño de 5 a 8 μm de largo y de 1 a 2 μm de ancho. Los bradizoítos poseen las mismas organelas que el taquizoíto y se acumulan formando quistes en el interior de las células, principalmente en el tejido nervioso (cerebro, médula y retina) (Dubey y col., 2004). Estos quistes pueden llegar a medir hasta 100 μm de diámetro y poseen una pared gruesa en su cara externa de hasta 4 μm de espesor (Dubey y col., 2002). Los taquizoítos han sido descritos en neuronas, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, miocitos, células renales y hepatocitos, mientras que los quistes tisulares con bradizoítos solamente han sido observados en el tejido nervioso.

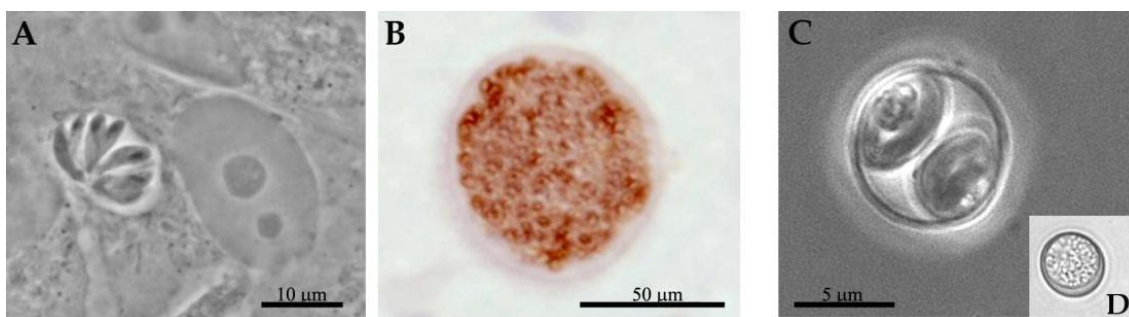


Figura 1: Estadíos en el ciclo biológico de *N. caninum*. A) Vacuola parasitófora con taquizoítos. B) Quiste tisular con bradizoítos. C) Ooquiste esporulado con dos esporocistos D) Ooquiste sin esporular. Tomado de: Risco, V. (2008). Identificación y caracterización de antígenos específicos del estadio de bradizoíto de *Neospora caninum* (Tesis Doctoral)

El perro es el único hospedador definitivo conocido, y también se puede comportar como hospedador intermediario. Los hospedadores definitivos infectados eliminan con sus heces ooquistes no esporulados, que una vez en el exterior esporulan en menos de 24 horas. Tienen forma esférica y un tamaño de 11,7 μm de largo y 11,3 μm de ancho, aproximadamente. Los ooquistes esporulados de *N. caninum* contienen dos esporocistos con cuatro esporozoítos, que tienen un tamaño medio de 6,5 μm de largo por 2,0 μm de ancho (McAllister y col., 1998). Aunque no se sabe con certeza, algunos estudios afirman que estos ooquistes pueden ser viables después de un año en refrigeración. Otros experimentos han demostrado que los

quistes tisulares mantenidos a 4°C son infectantes durante 14 días. Sin embargo, la congelación a -20°C hace que pierdan su viabilidad.

1.3. Ciclo biológico:

Neospora caninum tiene un ciclo biológico heteroxeno por lo que necesita tanto un hospedador intermediario, donde se produce la reproducción asexual y en el que se forman los bradizoítos y taquizoítos, como un hospedador definitivo en cuyo intestino, tras la ingestión de las formas asexuales, se producen los ooquistes (Dubey y Schares, 2011). Los únicos hospedadores definitivos conocidos actualmente son miembros del género *Canis*: perros domésticos y salvajes (McAllister y col., 1998), coyotes (*Canis latrans*) (Gondim y col., 2004), lobo gris (*Canis lupus lupus*) (Dubey y col., 2011) y dingos (*Canis lupus dingo*) (King y col., 2010). Los bovinos suelen ser el hospedador intermediario más común, aunque en los últimos años la infección se ha descrito en otras especies de vertebrados (Dubey y col., 2007; Almeria, 2013). Además, en Europa, se ha detectado ADN de *Neospora caninum* en el cerebro del zorro rojo (*Vulpes vulpes*) (Bartley y col., 2013). También se sospecha que los pájaros actúen como reservorio de la enfermedad (Costa y col., 2008) y que los roedores salvajes puedan actuar como hospedador intermediario, ya que en ellos se ha detectado ADN de *Neospora caninum* (Meerburg y col., 2012).

Cuando un hospedador definitivo ingiere carne bovina cruda con quistes tisulares, en las células epiteliales de su intestino se produce la reproducción sexual formándose gran cantidad de ooquistes no esporulados. Estos ooquistes son la forma de resistencia del parásito que posteriormente serán expulsados al medio externo junto con las heces (Dubey y col., 2004). Una vez en el exterior, los ooquistes esporularán en las siguientes 24-72 horas, convirtiéndose en potencialmente infectivos para hospedadores intermediarios que entren en contacto con ellos por vía oral (Dubey y col., 2006). En su interior se desarrollarán dos esporocistos, cada uno de los cuales tendrá cuatro esporozoítos (Reichel y col., 2007).

El hospedador intermediario ingiere los ooquistes, y una vez que llegan a su tracto gastrointestinal se produce el desenquistamiento de los esporozoítos, que parasitan el intestino y se transforman en taquizoítos (Hemphill y col., 2006). Este estadio del parásito puede pasar al torrente sanguíneo e infectar diversos tejidos y órganos como cerebro, médula ósea, corazón, pulmón, hígado, riñón, membranas fetales, músculo esquelético, placenta y piel (Almería y col., 2003). Además, pueden infectar otras células nucleadas, incluyendo células mononucleares que pueden favorecer la diseminación de la infección a través del movimiento de leucocitos (Dubey y col., 2006). En esta fase y durante los diferentes ciclos de replicación

intracelular se produce la lisis de células infectadas, aparecen las primeras lesiones y algunos animales pueden presentar signos clínicos (Dubey y col., 2007). Los taquizoítos se replican unas veinte veces antes de diferenciarse en bradizoítos (Goodswen y col., 2013).

Los bradizoítos los encontramos en el interior de quistes en varios tejidos, entre ellos el tejido nervioso y constituyen el estadio quiescente que el parásito adopta por la presión que ejerce el sistema inmune del hospedador. El quiste protege a los bradizoítos de esta respuesta inmune, lo que favorece su persistencia y da lugar a una fase crónica asintomática caracterizada por una nula tasa de replicación (Dubey y Schares, 2011). La reactivación de la infección suele ocurrir ante estados de inmunodepresión del hospedador, que permite la transformación de bradizoítos en taquizoítos (Hemphill y col., 2006). Esto es lo que ocurre en hembras preñadas, permitiendo a los taquizoítos invadir nuevos tejidos como la placenta o incluso infectar al feto (Williams y col., 2009). Así se puede producir el aborto o el nacimiento de terneros infectados (Figura 2). La mayoría de estos terneros nacidos de madres infectadas son clínicamente normales, pero permanecerán infectados durante toda la vida favoreciendo la transmisión vertical de la infección (Piergili-Fioretta y col., 2003).

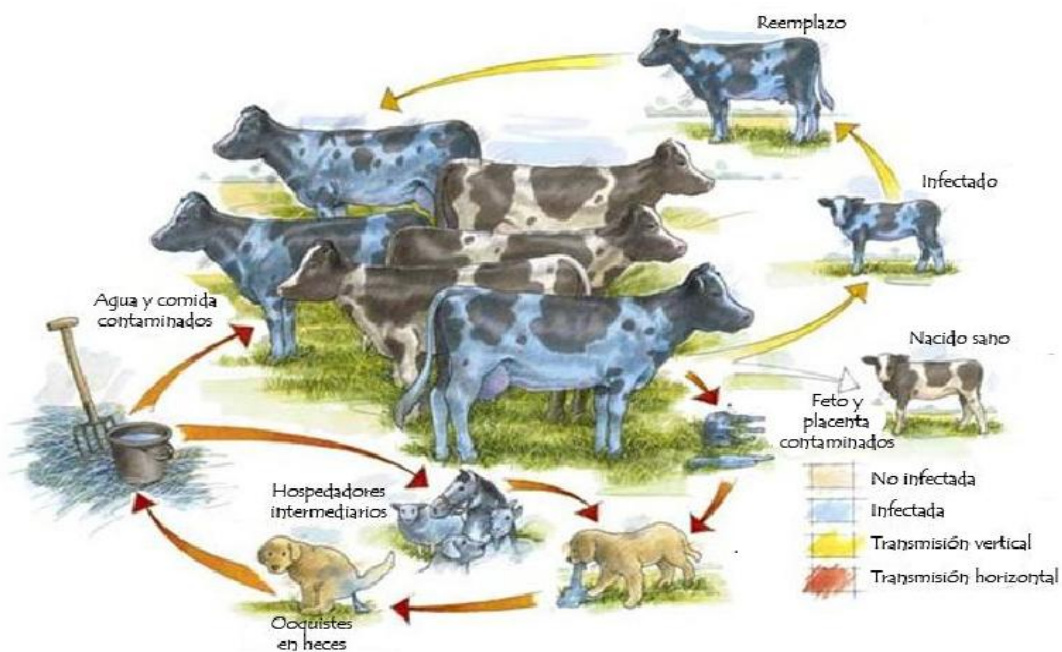


Figura 2: Ciclo biológico de *Neospora caninum*. Tomado de: Risco, V. (2008). Identificación y caracterización de antígenos específicos del estadio de bradizoíto de *Neospora caninum* (Tesis Doctoral).

1.4. Epidemiología:

La infección se puede producir tanto por vía horizontal como vertical. La transmisión horizontal en rumiantes únicamente está demostrada a través de la ingestión de ooquistes (Dubey y col., 2007) aunque la principal forma de contagio es la transmisión vertical, que se produce entre la madre infectada y el feto. La transmisión transplacentaria es muy eficiente, ocurre entre el 75% y 100% de las veces y se estima que es unas diez veces más frecuente que la infección oral (Hall y col., 2005; Bartels y col, 2007). Según Dubey y col. (2007), hasta el 95% de los terneros que nacen de madres infectadas estarán infectados.

Todavía no está claro si existe una transmisión venérea de la neosporosis, a pesar de que se ha podido detectar ADN del protozoo en semen de toros (Ferre y col., 2008). Tampoco se ha confirmado el contagio de los terneros mediante la ingesta de leche contaminada con taquizoítos, aunque algunos autores así lo sugieren y se ha podido detectar ADN del parásito en la leche y el calostro (Davison y col, 2001; Moskwa y col., 2007).

Uno de los factores que influyen en la distribución de la enfermedad es la **densidad** de hospedadores potenciales. Por ejemplo, en España tenemos rebaños de vacas de leche con valores de seroprevalencia de anticuerpos frente a *N. caninum* del 63%, sin embargo las vacas dedicadas a carne presentan valores inferiores (46%) (Bartels y col., 2006). Esto es debido a la intensificación del ganado lechero y a la distribución en las montañas de las vacas de carne con una menor densidad. Esto no ocurre en otros países, donde tanto los rebaños dedicados a carne como los de leche presentan valores de seroprevalencia similares. La **presencia de perros** que puedan entrar en contacto con el ganado favorece la transmisión horizontal del hospedador definitivo al intermediario y viceversa. Está demostrada la asociación de la presencia de perros en las explotaciones lecheras y la infección por *N. caninum* (Wouda y col., 1999).

No se ha confirmado una posible asociación entre la raza y la susceptibilidad a la infección, aunque se ha observado que la inseminación de vacas lecheras seropositivas con semen de machos de aptitud cárnica, especialmente raza **Limousin**, disminuye el riesgo de aborto (López-Gatius y col, 2005). En un estudio reciente, en el que se inseminaron 1.115 vacas seropositivas con semen de vacuno de carne ó semen de frisón, se produjo el aborto en un 15,2% de las primeras, mientras que el porcentaje fue muy superior (32,2%) en las inseminadas con semen de frisón (Almería y col, 2009). Este hallazgo puede deberse a que las gestaciones cruzadas aumentan la producción de glicoproteínas asociadas a la gestación (PAG-1), que tienen propiedades inmunosupresoras a nivel uterino (Wooding y col., 2005). Estas

concentraciones de PAG-1 más elevadas favorecen mecanismos para evitar el rechazo materno durante la gestación. Además se cree que puede reforzar la barrera placentaria impidiendo el paso del parásito y la infección del feto.

Respecto a la edad, tanto la infección como el aborto se pueden presentar en vacas de cualquier edad. En un estudio realizado a nivel europeo se observó un aumento de la prevalencia asociada a la edad en España, debido a una menor tasa de reposición del rebaño, lo que implica una mayor posibilidad de contacto con el parásito a lo largo la etapa productiva de los animales. Sin embargo, este mismo estudio revela una relación inversa entre edad y seropositividad en otros países como Suecia (Bartels y col., 2006). El **estudio de la seroprevalencia** según la edad resulta útil a la hora de conocer la vía de transmisión de la infección en el rebaño. El incremento de la seroprevalencia asociado a la edad, indica existencia de transmisión horizontal (McAllister y col., 1996). En los rebaños donde predomina la transmisión vertical no se observan diferencias en la prevalencia a distintas edades.

Las altas temperaturas han demostrado tener efectos negativos sobre parámetros reproductivos como la fertilidad, pero no existe ninguna relación entre un clima cálido y el riesgo de sufrir un aborto por *N. caninum*. A su vez, las épocas de lluvias en climas húmedos se han relacionado con un incremento del riesgo de aborto en el segundo trimestre de la gestación en vacas seropositivas (Yániz y col., 2009). Parece ser que las **altas temperaturas y la humedad** procedente de las lluvias favorecen la esporulación de los ooquistes del parásito. También es posible que estas condiciones climáticas favorezcan el crecimiento de hongos productores de toxinas causantes de inmunosupresión en las vacas, provocando la reactivación de infecciones latentes en animales crónicamente infectados (Dubey y col., 2007).

1.5. Cuadro clínico:

La neosporosis bovina se puede presentar bajo tres formas clínicas diferentes en función de la prevalencia que exista en el rebaño:

-Forma epidémica: asociada a transmisión horizontal. Es la forma más devastadora y costosa. Presentan un gran riesgo de aborto (>10%) en un corto periodo de tiempo.

-Forma endémica: asociada a transmisión vertical en explotaciones con alta prevalencia. También resulta costosa por la reducción de la producción de leche de las vacas infectadas.

-Forma esporádica

La neosporosis bovina es una enfermedad que afecta principalmente al feto y la placenta. En las hembras preñadas se produce parasitemia, bien como consecuencia de una infección exógena durante la gestación, o debido a la reactivación de una infección persistente. Cuando el contagio se produce por la ingestión de ooquistes esporulados, se produce la liberación de los esporozoítos en el intestino, al igual que en la toxoplasmosis ovina (Buxton, 1998). Estos esporozoítos son capaces de atravesar la barrera intestinal y distribuirse por vía sanguínea y linfática hasta llegar a ganglios regionales y diferentes tejidos, donde comienza la reproducción asexual mediante endodiogenia, pudiendo producir en las células inflamación o necrosis. Es muy común la formación de quistes tisulares con bradizoítos, que son capaces de persistir durante toda la vida del animal. La parasitemia en vacas preñadas conlleva la distribución de *N. caninum* por todo el cuerpo, incluido el útero grávido, produciéndose el **aborto**.

El cuadro clínico también se puede desencadenar en hembras gestantes portadoras de quistes con bradizoítos que se reactivan como consecuencia de las modificaciones inmunológicas y hormonales asociadas a la gestación y producen parasitemia. Una vez liberados, los bradizoítos se convierten en taquizoítos y se reproducen activamente, pudiendo el taquizoíto atravesar la placenta y provocar el aborto ó el nacimiento del ternero infectado. Si la infección ocurre durante los 100 primeros días de gestación, cuando el tejido linfoide del feto todavía no está desarrollado, se producirá la **momificación o aborto** del feto (Dubey y Schares, 2011). Por el contrario, si la infección tiene lugar durante el segundo trimestre de la gestación, a pesar del aumento de inmunidad del feto, se produce el **aborto** con más incidencia y característico de la enfermedad (entre el 5º y el 7º mes) (Reichel y col., 2013). Cabe la posibilidad de que la infección se produzca en el último trimestre de la gestación, cuando el feto ha desarrollado prácticamente toda su inmunidad. En este caso, lo más probable, es que se produzca el parto, y el ternero nazca **congénitamente infectado**, pudiendo ser portador clínicamente sano de por vida o manifestar síntomas nerviosos durante las primeras semanas de vida (Buxton y col., 2002).

Existen varios mecanismos que pueden conducir al aborto, como son la replicación del parásito en la placenta y el feto, o el insuficiente aporte de oxígeno y nutrientes debido a lesiones en la placenta (Dubey y col., 2006). La activación del sistema inmunológico materno estimula la producción de citoquinas pro-inflamatorias, óxido nítrico o prostaglandinas, lo que puede producir un daño en la placenta (Innes y col., 2007). En fetos jóvenes, el parásito puede causar su muerte debido a la proliferación incontrolada, mientras que en fetos con una inmunidad más desarrollada su efecto es menor, produciendo necrosis focal menos grave (Gibney y col., 2008).

Los abortos por *N. caninum* no suelen estar asociados a retención de la placenta y no afectan a la fertilidad posterior de la vaca. La placenta tiene apariencia normal o puede presentar pequeñas zonas de necrosis cotiledonaria que progresen hacia hiperplasia, fibrosis y calcificación (Maley y col., 2003). Las lesiones más típicas producidas por la infección en fetos abortados son múltiples **áreas de necrosis** rodeadas por una reacción inflamatoria que se observan en cerebro, medula espinal, corazón, pulmón y placenta. Entre estas lesiones destacan las **encefalitis y miocarditis** no supurativas (Wouda y col., 1997). En terneros afectados clínicamente, los síntomas más característicos son: ataxia, déficits propioceptivos, incapacidad para quedar gestante, hiperextensión de miembros posteriores y anteriores, exoftalmia, y síntomas nerviosos como hidrocefalia, escoliosis y estrechamiento de la medula espinal (Dubey y col., 2006).

La infección cursa de forma **asintomática** en las vacas no gestantes, ya que el parásito se acantona en forma de quistes con bradizoítos en el sistema central y los músculos, y se encuentra en equilibrio con el sistema inmunológico del animal (Schaes y col., 2001).

La protección inmunológica del hospedador está mediada por linfocitos T Helper 1. En la fase aguda de la enfermedad, participan el interferón (IFN)- γ , células natural killer (NK), interleucina (IL)-12, linfocitos T CD4+ y CD8+ (Monney y Hemphill, 2014). Los linfocitos T citotóxicos CD4+ son capaces de eliminar células autólogas infectadas con *N. caninum*, mediante la vía de las perforinas (Bartley y col., 2004). Esta respuesta pro-inflamatoria limita la replicación del parásito e induce que la infección quede latente formándose quistes en los diferentes tejidos (Goodswen y col., 2013).

Durante el embarazo, hay un cambio en la inmunomodulación del hospedador y la respuesta inmune pasa a estar mediada por linfocitos TH2. Esta respuesta está caracterizada por la expresión de IL-4, lo que favorece la transformación de bradizoítos en taquizoítos (**recrudescencia de la infección**), replicación incontrolada y efectos patológicos (Williams y col., 2009). La inmunidad humoral mediada por anticuerpos también participa en el control de la infección mediante la neutralización de taquizoítos extracelulares (Bartley y col., 2013). Estos anticuerpos son detectados a partir de los 14 días de una infección experimental y ayudan a prevenir la invasión de otras células hospedadoras (Innes y col., 2002). Las vacas que abortan debido a neosporosis presentan mayor título de anticuerpos específicos frente a *N. caninum* que las vacas infectadas que no abortan. Esta variabilidad en el título de anticuerpos es útil para conocer el riesgo de abortos en el rebaño (López-Gatius y col., 2004)

Existen evidencias de que la variabilidad genética de *N. caninum* influye en la patogenicidad y la respuesta inmune del hospedador. Por ejemplo, ratones infectados con la cepa NC-Liverpool presentan inflamación y necrosis del sistema nervioso central más grave que aquéllos infectados con las cepas de NC-Nowra y NC-SweB1 (Miller y col., 2002). A su vez, la infección de vacas preñadas con NC1 produce muerte fetal, mientras que no se observa muerte fetal en la infección con NC- Spain 1H (Rojo-Montejo y col., 2009).

La concentración en sangre materna de glicoproteínas asociadas a la gestación (PAG-1) puede utilizarse como marcador del bienestar placentario y fetal (Zarrouk y col., 1999). El estudio llevado a cabo por López-Gatius y col. (2007) reveló que en 13 animales infectados crónicamente que no abortaron no se observaron diferencias en las concentraciones de PAG-1 a lo largo de la gestación en comparación con 6 controles seronegativos. Sin embargo, los niveles de PAG-1 eran muy bajos en 3 animales seropositivos que abortaron. Este hecho indica que la infección no afecta a la función placentaria en las infecciones crónicas en que no se produce el aborto (López-Gatius y col., 2007).

Respecto a la neosporosis canina, suele presentarse bajo la forma intestinal que normalmente provoca cuadros subclínicos, aunque en ocasiones, en cachorros jóvenes se han observado casos mortales sistémicos que presentan severa diarrea e incoordinación. Las lesiones más características encontradas en estos animales son meningoencefalitis, neumonía, poliartritis y radiculoneuritis (Dubey y Schares, 2011).

1.6. Diagnóstico:

El diagnóstico de la infección por *N. caninum* en los hospedadores intermediarios se puede llevar a cabo mediante diversas técnicas, incluyendo técnicas serológicas o la detección de anticuerpos o ADN en el suero o la leche. Para el diagnóstico en fetos abortados, se recomienda el envío a laboratorio del feto entero con la placenta materna. Si esto no es posible, se debe enviar muestras de corazón, cerebro e hígado para el estudio histopatológico de las lesiones y la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Además se pueden recoger fluidos torácicos o abdominales fetales para llevar a cabo pruebas serológicas (Ortega-Mora y col., 2006).

En el caso de los fetos abortados, las lesiones más comunes incluyen áreas de necrosis multifocales rodeadas por células inflamatorias. El cerebro, la médula espinal, corazón, hígado y placenta son los órganos más afectados. Para confirmar que estas lesiones están producidas por *N. caninum* se utilizan **tinciones inmunohistoquímicas**, que emplean anticuerpos específicos frente al parásito (Lindsay y Dubey, 1989), así como la técnica de **PCR**, que

demuestra la presencia de su ADN (Baszler y col., 1999). Cabe destacar la baja sensibilidad de la tinción inmunoquímica, por lo que la técnica de PCR es la mejor opción, aunque para mejorar la sensibilidad siempre es aconsejable utilizar más de una técnica (Sánchez y col., 2009). En ocasiones, cuando el feto se encuentre sometido a procesos de autólisis y no se pueda llevar a cabo el estudio de las lesiones, siempre será necesario realizar una PCR para la confirmación del diagnóstico. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la presencia de ADN de *N. caninum* en un feto no siempre indica que el parásito sea la causa del aborto, por lo que se deberán valorar los datos epidemiológicos del rebaño.

Una vez que se detecta la infección en el rebaño, ya sea por la detección de una vaca infectada o de un aborto, es aconsejable estimar la seroprevalencia que existe en el rebaño y analizar todos los fetos abortados. Se ha demostrado que las vacas seropositivas tienen más riesgo de abortar que los animales negativos y el riesgo se incrementa conforme lo hace el nivel de anticuerpos específicos (Dubey y col., 2007). También resulta importante conocer el patrón de abortos y la forma de transmisión que se presenta en la explotación. Para ello se utilizan tres métodos: la determinación del “odds ratio” (compara seropositividad en vacas abortadas y no abortadas), la asociación entre serología precalostral y materna y la avidéz de los anticuerpos mediante ELISA – avidéz. En un patrón de abortos endémico y transmisión principalmente vertical, tendremos un odds ratio cercano a 2, una relación positiva entre la serología precalostral y materna, así como avidéz alta de anticuerpos. Por el contrario, en un patrón de abortos epidémico y transmisión horizontal, el odds ratio será superior a 2, no existirá asociación entre la serología materna y de la descendencia, y la avidéz de los anticuerpos será baja (Aguado-Martínez y col., 2005). Para la detección de anticuerpos se han puesto a punto técnicas como el test de inmunofluorescencia indirecta (IFAT), ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), test de aglutinación (NAT) o la inmunotransferencia (Wapenaar y col., 2007).

1.7. Tratamiento, prevención y control:

Actualmente, no existe tratamiento para evitar el aborto o la infección por *N. caninum*, aunque se están realizando numerosos ensayos *in vitro* para valorar la eficacia de diversos tratamientos. Algunos estudios con modelos experimentales han revelado cierta eficacia de las **sufadiazinas** (Kritzner y col., 2002; Gottstein y col., 2005). El tratamiento con **toltrazuril** de vacas y ratones infectados experimentalmente presenta cierta eficacia en la prevención de la transmisión vertical (Gottstein y col., 2005).

En cuanto a la inmunoprofilaxis, destaca la vacuna Bovilis Neoguard™, producida a partir de taquizoítos inactivados y actualmente retirada del mercado. Antes de su introducción se llevaron a cabo varios estudios de campo para comprobar su eficacia. Entre ellos, destaca el realizado en una explotación de vacas de leche en Minnesota que presentaba un 25% de abortos, la gran mayoría por *N. caninum*, cuya incidencia se redujo a menos del 4% tras la vacunación con Neoguard. Además se sugirió que la vacunación protegía de la transmisión vertical, ya que 6 terneros nacidos de madres seropositivas continuaban siendo seronegativos a los 6 meses de vida (Choromanski y Shawnee, 2002). Sin embargo, un ensayo clínico llevado a cabo por Weston y col. en 2012, puso en duda la eficacia de esta vacuna. En este estudio participaron 5 grandes explotaciones lecheras de Nueva Zelanda, y únicamente en una de ellas se redujo el número de abortos por efecto de la vacunación (Weston y col., 2012).

Por lo que respecta a otras medidas de control y prevención, en la toma de decisiones se debe tener en cuenta la incidencia de la enfermedad en el rebaño, junto con la sensibilidad y especificidad de la técnica diagnóstica utilizada y el coste-beneficio de las medidas de control adoptadas (Hasler y col., 2006). Por ejemplo, hay que valorar si los casos que se presentan en el rebaño son de tipo endémico o epidémico y en función de ello se adoptaran unas medidas u otras, que pueden ir desde la eliminación de hospedadores definitivos hasta el desvieje de hembras seropositivas, o realizar cubrición selectiva (Hall y col., 2005; Ortega-Mora y col., 2006). El control de la infección debe centrarse en **reducir el número de vacas infectadas** y en evitar la introducción de reposición seropositiva en el rebaño. El **sacrificio** es una opción para las vacas que ya han tenido abortos confirmados por *N. caninum*, ya que estos animales presentan mayor riesgo de padecer abortos de repetición (Thurmond y Hietala, 1997a).

Es aconsejable que se lleve a cabo un estudio serológico tanto del rebaño como de la reposición para conocer el estado sanitario (Haddad y col., 2005). Otras medidas aconsejadas son la reducción de otras situaciones estresantes, como pueden ser las micotoxinas del pienso o la diarrea vírica bovina (Quinn y col., 2004), que pueden provocar la reactivación de la infección. Existe también la posibilidad de **transferir embriones** de vacas infectadas a vacas seronegativas con el fin de evitar la transmisión transplacentaria endógena (Baillargeon y col., 2001).

Por otra parte y ante la evidencia de que el perro actúa como hospedador definitivo (McAllister y col., 1998) y su presencia está asociada al aumento de incidencia de neosporosis bovina en el rebaño (Mainar-Jaime y col., 1999), resulta aconsejable la instauración de medidas para evitar la presencia de cánidos en las explotaciones o el contacto de éstos con el

alimento de los animales. Además, es necesaria la eliminación de todos los tejidos que pueden estar potencialmente infectados, como placentas o fetos y que pueden ser la fuente de infección para un hospedador susceptible. También debemos asegurarnos de que el agua y los alimentos están **libres de contaminación fecal** proveniente de hospedadores potenciales.

Aunque no se ha demostrado la implicación de los roedores en la epidemiología del parásito, el control de ratas y ratones también es una medida aconsejable ya que la infección natural por *N. caninum* ha sido descrita en ratas y roedores mediante serología y PCR (Hughes y col., 2006) y podrían actuar como reservorios de la infección. En la Tabla 1 se indican las medidas de control que según Pedreira y col. (2006) están encaminadas a prevenir las dos formas principales de transmisión.

Tabla 1. Pedreira, J., Diaz, P. y col. (2006). "Recommended strategy for the diagnosis and control of the bovine neosporosis in the adsg of Galicia."

PRINCIPALES MEDIDAS DE CONTROL DE LA NEOSPOROSIS
<p>A.- DE LA TRANSMISIÓN VERTICAL O CONGÉNITA</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Diagnóstico etiológico y diferencial de <i>Neospora caninum</i> y de otros agentes. ➤ Adopción de medidas cuando hay relación entre los abortos y los animales seropositivos a <i>Neospora caninum</i> y la prevalencia de infección es elevada. ➤ Recrear y reponer solo con hembras seronegativas. ➤ Utilizar hembras receptoras seronegativas en el transplante de embriones. ➤ Eliminar las madres seropositivas con abortos de repetición. ➤ Inseminar con razas de aptitud cárnica a las vacas seropositivas, que sean de difícil reposición, y destinar su descendencia al cebo. ➤ Utilizar calostro procedentes de vacas seronegativas.
<p>B.- DE LA TRANSMISIÓN HORIZONTAL O POSTNATAL</p> <ul style="list-style-type: none"> • Desinfección de instalaciones y materiales contaminados con abortos. • Impedir que los perros ingieran restos de abortos. • Evitar que los perros defecuen en las proximidades de los alimentos de los rumiantes • Controlar el acceso a las explotaciones de otros animales que pueden actuar como posibles hospedadores definitivos.

2. SITUACIÓN EN ESPAÑA

2.1. Estudios de prevalencia:

Desde el descubrimiento de *Neospora caninum* como el agente etiológico responsable de la neosporosis bovina y su asociación con una alta incidencia de abortos, se han llevado a cabo en nuestro país numerosos **estudios de seroprevalencia**, tanto a nivel individual como de rebaño. Reichel y col. (2013) estimaron que las pérdidas anuales debidas a esta patología ascendían a **19,8 millones de dólares americanos** en la industria láctea española (rango entre 7,2 millones y 57,9 millones), con una media de pérdidas por explotación en torno a 500 dólares. Según estos investigadores, las pérdidas anuales en la industria cárnica ascenderían a 9.8 millones de dólares, con unos costes medios por explotación de aproximadamente 200 dólares.

En España el primer trabajo sobre la presencia de anticuerpos frente a *N. caninum* se llevó a cabo en una granja de vacas de leche de Galicia (Quintanilla-Gonzalo y col., 1999). En este estudio, se observó una relación entre la seroprevalencia y los abortos en el 72% de los casos. En ese mismo año se publicó un estudio sobre seroprevalencia en la región Centro-coste Asturiana, con unos resultados del 30% de seropositividad (Mainar-Jaime y col., 1999).

Quintanilla-Gonzalo y col. (1999) también observaron **diferencias en los valores de seroprevalencia** entre vacas de leche (35,9%) y vacas de carne (17,9%), hallazgo que podría ser debido a diferencias en el **manejo**. Mientras que las vacas de leche llevan un manejo intensificado con alta densidad de animales por explotación, las vacas de carne se sitúan en zonas montañosas y la densidad de animales por granja es mucho menor, en comparación con otros países europeos que tienen un manejo intensificado del ganado de carne (Bartels y col, 2006). De hecho, cabe destacar que en países como Holanda y Alemania no hay diferencias en la seroprevalencia entre rebaños de carne y de leche.

Tanto Quintanilla-Gonzalo y col. (2000) como Pereira-Bueno y col. (2000) estudiaron la fluctuación mensual en el título de anticuerpos durante la gestación en vacas seropositivas, algunas de las cuales abortaron. Estos investigadores observaron un incremento del título de anticuerpos en el segundo trimestre de la gestación, incremento que fue superior en vacas que abortaron en comparación con las que tuvieron gestación a término.

López-Gatius y col. (2004) realizaron un estudio serológico de la infección por *N. caninum* durante 12 meses en una explotación de ganado lechero en la zona noreste de España. Durante ese año, se produjeron 38 abortos entre las 164 gestaciones diagnosticadas (23.2%

abortos). Se hallaron anticuerpos frente al parásito en el 35,4% de las vacas y el 44% de las vacas seropositivas preñadas abortaron. En base a estos hallazgos, los autores concluyeron que el riesgo de aborto era **12.2** ($P < 0.0001$) veces mayor en vacas seropositivas que en las seronegativas, aunque la infección solo se confirmó en dos de los fetos abortados. La relación causal entre infección por *N. caninum* y aborto ha sido descrita en numerosos trabajos (Dubey y col., 1997; Moore y col., 2003).

El porcentaje de rebaños seropositivos en otro estudio realizado en España fue del 63% en rebaños lecheros, frente al 46% en los de aptitud cárnica (Bartels y col., 2006). En dicho estudio y con fines comparativos se incluyeron rebaños de otros países europeos (Alemania, Suecia, Holanda y España), que fuesen representativos a la producción de cada país y se examinaron serológicamente todos los animales mayores de 2 años mediante ELISAs con una alta especificidad (>98.0%). El resultado de la prueba fue considerado positivo cuando al menos un animal del rebaño era seropositivo. En el caso de que en el rebaño únicamente se obtuviera un animal seropositivo se re-ensayaba mediante la **técnica de inmunobloting** (tabla 2). La prevalencia de rebaño que se observó se calculó dividiendo el número de rebaños positivos entre el número total de rebaños estudiados.

Tabla 2. Resultados obtenidos en inmunobloting en suero o leche de rebaños con un animal positivo (adaptado de Bartels y col., 2006)

País	Nº de muestras	Nº de positivos	Nº de de negativos o no conclusivo
Alemania	15	14 (93%)	1 (7%)
Holanda	30	18 (60%)	12 (40%)
España	62	56 (90%)	6 (10%)
Suecia	24	8 (33%)	18 (67%)

En España, la zona elegida para el estudio fue Galicia, en la que fueron muestreadas 375 vacas de carne y 295 rebaños lecheros entre enero de 1999 y Octubre de 2003. Los resultados obtenidos mostraron que en nuestro país más rebaños lecheros que cárnicos fueron positivos a *Neospora caninum* mientras que en Alemania y Holanda no se vieron diferencias. La prevalencia verdadera de los animales en rebaños lecheros observada en España fue de 16.2% (95%CI: 14.9–17.5%). Las vacas de aptitud cárnica que se crían en pastoreo con una baja

densidad de población obtuvieron prevalencias del 0.7% (95% CI: 0.5-1.0). Estas razas presentaron una menor prevalencia que el Holstein frisón, la Rubia Gallega y otras razas mixtas.

Más recientemente, Eiras y col. (2011) llevaron a cabo un amplio estudio en explotaciones de las Agrupaciones de Defensa Sanitaria Ganadera de Galicia, observándose elevados porcentajes de seropositividad tanto a nivel de explotación (87,7%, 76,7% y 78,4% en granjas de leche, carne y mixtas, respectivamente), como a nivel individual (21,9%, 25,1% y 28,6%, respectivamente). En dicho trabajo se analizaron serológicamente por ELISA indirecto todos los animales ≥ 1 año de edad. En total, 1147 rebaños lecheros (37.090 animales), 1464 rebaños de vacuno (20.206 animales) y 141 rebaños mixtos (2292 animales) fueron objeto del análisis. En explotaciones de aptitud lechera, González-Warleta y col (2008) también observaron valores de seropositividad elevados, tanto a nivel de explotación (79,3%), como individual (15,7%).

En relación con estudios realizados sobre fetos bovinos abortados, cabe citar el trabajo de González y col. (1999), donde se registra un porcentaje de fetos positivos que oscila entre 32% y 57%, según la técnica diagnóstica, sobre un total de 81 fetos. En un estudio posterior realizado por Pereira-Bueno y col. (2002), resultaron positivos al menos a una de las técnicas el 38.2% de los fetos bovinos analizados, hallazgo que confirma la elevada incidencia de este protozoo en la etiología de abortos en ganado vacuno en nuestro país. El trabajo se llevó a cabo en 4 comunidades autónomas: Asturias, Galicia, Castilla-León y Madrid y se utilizaron varias técnicas diagnósticas: histología, serología (IFAT y ELISA) y PCR (Tabla 3).

Tabla 3. Porcentaje de fetos infectados por *Neospora caninum* según diferentes pruebas diagnósticas en un estudio realizado en diversas comunidades autónomas de España (modificado de Pereira-Bueno y col., 2002).

Región	Nº de fetos	Porcentaje (positivos/analizados)					
		Histología	IH	Serología		PCR	Total
				IFAT	ELISA		
Asturias	35	37.1 (13/35)	100 (1/1)	12.9 (4/31)	12.9 (4/31)	11.8 (4/34)	37.1 (13/35)
Galicia	22	40.9 (9/22)	55.6 (5/9)	22.2 (2/9)	22.2 (2/9)	(0/3)	50.0 (11/22)

Castilla-León	20	15.0 (3/20)	33.3 (1/3)	(0/16)	(0/16)	20.0 (4/20)	30.0 (6/20)
Madrid	3	(0/3)	-	-	-	50.0 (1/2)	33.3 (1/3)
Total	80	31.3 (25/80)	53.8 (7/13)	10.7 (6/56)	10.7 (6/56)	15.3 (9/59)	38.8 (31/80)

2.2. Estudios de aspectos epidemiológicos:

Almería y López-Gatius (2005) analizaron la influencia del clima en el porcentaje de abortos en vacas lecheras infectadas por *N. caninum* en la zona nordeste de España, observando que la **lluvia** podría ser un factor de riesgo, al provocar situaciones de estrés desencadenantes del aborto. Por su parte, Yániz y col. (2009) observaron que el incremento del número de días acumulados con **humedad relativa** superior al 60% durante el segundo trimestre de la gestación aumenta el riesgo de aborto en vacas y novillas.

Los anteriores investigadores también analizaron la presencia de anticuerpos frente a *N. caninum* en vacas y novillas de alta producción lechera en la franja Lérida-Huesca. Los animales objeto de estudio se observaban diariamente para detectar cualquier indicio de aborto entre el día 90 de gestación y el parto. El porcentaje de abortos fue 2,3 % (61/2709) en los animales seronegativos y 23,6% (177/750) en los seropositivos. En las novillas no se observó relación entre el título de anticuerpos y el riesgo de aborto, pero ambos parámetros si mantenían **correlación positiva** en las vacas, diferencias que podrían estar relacionadas con la respuesta inmune en infecciones primarias (novillas) y crónicas (vacas). En las vacas también se observó una disminución del riesgo de aborto con el incremento del número de lactaciones.

2.3. Importancia de la fauna silvestre:

El papel que desempeñan los animales salvajes en la epidemiología de la neosporosis no se conoce con certeza. En España se han detectado anticuerpos frente *N. caninum* en **carnívoros salvajes** como el zorro rojo (*Vulpes vulpes*), lobo (*Canis lupus*), lince ibérico (*Lynx pardinus*), gato salvaje europeo (*Felis silvestris silvestris*), tejón euroasiático (*Meles meles*), marta (*Martes foina*), turón (*Mustela putorius*) y gatos salvajes (Sobrino y col., 2008; Millán y col., 2009). También se han detectado anticuerpos en **rumiantes salvajes** como el ciervo rojo (*Cervus elaphus*), arruí o carnero de Berbería (*Ammotragus lervia*), corzo (*Capreolus capreolus*) y cabra ibérica (*Capra pyrenaica hispánica*) (Panadero y col., 2010; García-Bocanegra y col., 2012).

En la Tabla 4 se recogen los resultados de un estudio realizado con la técnica ELISA en 1.034 animales salvajes no carnívoros. Las 32 muestras positivas fueron confirmadas por inmunofluorescencia indirecta (IFAT). La seroprevalencia más elevada fue observada en el ciervo rojo (11.8%), siendo los ejemplares de la zona del Guadiana los más frecuentemente infectados (21.3%) y los de Sierra Morena donde se observaron valores más bajos (1.5%). También se observaron seropositivos entre las muestras de arruí, corzo y jabalí (Almería y col., 2007).

Tabla 4. Prevalencia de anticuerpos frente a *Neospora caninum* en 1034 animales salvajes en España (modificado a partir de Almería y col., 2007)

Especies	Nº examinados	Nº positivos	Prevalencia (%+95%CI)
Ciervo rojo	237	28	11.8 ± 4.1
Carnero de berbería o arruí	13	1	7.7 ± 14.5
Corzo	33	2	6.1 ± 8.2
Jabalí	298	1	0.3 ± 0.6
Cabra montesa	3	0	0.0 ± 0.0
Conejo	251	0	0.0 ± 0.0
Liebre ibérica	53	0	0.0 ± 0.0
Gamo común	79	0	0.0 ± 0.0
Muflón	27	0	0.0 ± 0.0
Sarrío	40	0	0.0 ± 0.0

CONCLUSIONES:

La neosporosis bovina es una patología que provoca grandes pérdidas económicas a nivel mundial, debido a los problemas reproductivos que produce en las vacas infectadas. El desconocimiento acerca de su ciclo biológico, de sus hospedadores potenciales y la falta de vacunas para prevenir la infección hace que la enfermedad presente elevada prevalencia en los rebaños de ganado vacuno de todo el mundo. Las medidas encaminadas a disminuir la prevalencia en las explotaciones infectadas deben basarse en el sacrificio de animales seropositivos y evitar que las heces del hospedador definitivo entren en contacto con el alimento y agua del ganado.

En España, debido al diferente manejo que se les da a los rebaños cárnicos y lecheros, se observan diferencias en la prevalencia en unos u otros que en otros países no se producen. Los numerosos estudios que se han realizado en nuestro país han revelado que el porcentaje de explotaciones seropositivas oscila entre el 75 y el 88% y el número de animales seropositivos ronda el 20%. La gran repercusión económica que tiene esta patología ha hecho que numerosos grupos de investigación centren su atención en la obtención de una vacuna eficaz que consiga proteger de la infección.

CONCLUSIONS:

Bovine neosporosis is a pathology that causes large economic losses worldwide because of the reproductive problems it produces in infected cows. Many aspects of its life cycle and their potential hosts are unreported, and the lack of vaccines to prevent infection makes the disease to present a high prevalence in the world. Farm prevalence can be reduced by selective culling of seropositive animals and measures to prevent the contamination of food and water with the feces of the final hosts should be taken.

In Spain, differences in the seroprevalence between dairy and beef farms have been reported, which may be due to different management. The farm level and individual seroprevalence in Spain has been found to be 75-90% and 20%, respectively. Many studies carried out in recent years have been focused in the development of an effective vaccine against neosporosis.

VALORACIÓN PERSONAL:

Este Trabajo de Fin de Grado pone fin a una etapa formativa de mi vida. La realización de este trabajo y la dinámica con la que hay que llevarlo a cabo es muy diferente a todos los trabajos que hemos realizado durante nuestros estudios. Significa el final de una carrera universitaria y te termina de preparar a nivel académico.

Durante la realización de esta revisión bibliográfica, no solo he conocido más a fondo la neosporosis bovina y sus repercusiones negativas tanto a nivel productivo como a nivel económico, sino que también he aprendido a manejar y buscar información en bases de datos científicas, como Web of Science-WOS. Al consultar numerosos documentos, he podido mejorar mi capacidad para detectar la información más relevante y mi capacidad de sintetizarla.

Desde mi punto de vista, el Trabajo de Fin de Grado supone una experiencia necesaria y formativa por la que todos los estudiantes debemos pasar antes de acabar nuestra carrera universitaria.

BIBLIOGRAFÍA:

1. AGUADO-MARTÍNEZ, A., ÁLVAREZ-GARCÍA, G. y col. (2005). "Use of avidity enzyme-linked immunosorbent assay and avidity western blot to discriminate between acute and chronic *Neospora caninum* infection in cattle" en *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, vol.17, pp. 442-450.
2. ALBEITAR PORTAL VETERINARIO. *Neosporosis bovina*.
<http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/13842/articulos-rumiantes-archivo/neosporosis-bovina.html> [Consulta: 17 de Julio de 2017]
3. ALMERIA, S. (2013). "*Neospora caninum* and wildlife" en *ISRN Parasitology*, 2013, pp. 1–23.
4. ALMERIA, S., DEMAREZ, T. y col. (2003). "Cytokine gene expression in dams and fetuses after experimental *Neospora caninum* infection of heifers at 110 days of gestation" en *Parasite Immunology*, vol. 25, pp. 383-392.
5. ALMERIA, S., VIDAL, D. y col. (2007). "Seroprevalence of *Neospora caninum* in non-carnivorous wildlife from Spain" en *Veterinary Parasitology*, vol. 143, pp. 21–28.
6. ALMERÍA, S., LÓPEZ-GATIUS, F. y col. (2009). "Effects of crossbreed pregnancies on the abortion risk of *Neospora caninum*-infected dairy cows" en *Veterinary Parasitology* vol. 163, pp. 323–329.
7. ALMERÍA, S., LÓPEZ-GATIUS, F. y col. (2013). "Bovine neosporosis: clinical and practical aspects" en *Veterinary Science*, vol. 95, pp. 303-309.
8. ALMERÍA, S y LÓPEZ-GATIUS, F. (2015). "Markers related to the diagnosis and to the risk of abortion in bovine neosporosis" en *Veterinary Science*, vol. 100, pp. 169-175.
9. BAILLARGEON, P., FECTEAU, G. y col. (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" en *Journal of the American Veterinary Medical Association*, vol. 218, pp. 1803-1806.
10. BARR, B.C., CONRAD, P.A. y col. (1994). "Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate" en *Laboratory Investigation*, vol. 71, pp. 236–242.
11. BARTELS, C.J.M., VAN MAANEN, C. y col. (2005). "Evaluation of three enzymelinked immunosorbent assays for detection of antibodies to *Neospora caninum* in bulk milk" en *Veterinary Parasitology*, vol.131, pp.235-246.

12. BARTELS, C.J., ARNAIZ-SECO, J.I. y col. (2006). "Supranational comparison of *Neospora caninum* seroprevalences in cattle in Germany, The Netherlands, Spain and Sweden" en *Veterinary Parasitology* vol. 137, pp. 17–27.
13. BARTELS, C.J., HUININK, I. y col. (2007). "Quantification of vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* infection in Dutch dairy herds" en *Veterinary Parasitology*, vol. 148, pp. 83–92.
14. BARTLEY, P. M., KIRVAR, E. y col. (2004). "Maternal and fetal immune responses of cattle inoculated with *Neospora caninum* at mid-gestation" en *Journal of Comparative Pathology*, vol. 130, pp. 81-91.
15. BARTLEY, P.M., KATZER, F. y col. (2013). "Development of maternal and foetal immune responses in cattle following experimental challenge with *Neospora caninum* at day 210 of gestation" en *Veterinary Research*, vol. 44, pp. 91.
16. BARTLEY, P.M., WRIGHT, S.E. y col. (2013). "Detection of *Neospora caninum* in wild carnivorans in Great Britain" en *Veterinary Parasitology*, vol. 192, pp. 279–283.
17. BASZLER, T.V., LONG, M.T. y col. (1999). "Interferon- and interleukin-12 mediate protection to acute *Neospora caninum* infection in BALBrc mice" en *International Journal for Parasitology*, vol. 29, pp. 1635–1646.
18. BJERKAS, I., MOHN, S.F. y PRESTHUS, J. (1984). "Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs" en *Z Parasitenkd*, vol. 70, pp. 271–274.
19. BUXTON, D. (1998). "Protozoan infections (*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Sarcocystis spp.*) in sheep and goats: recent advances" en *Veterinary Research*, vol.29, pp. 289-310.
20. BUXTON, D., MCALLISTER, M.M. y DUBEY, J.P. (2002). "The comparative pathogenesis of neosporosis" en *Trends in Parasitology*, vol. 18, pp. 546–552.
21. CHOROMANSKI, L.J. y SHAWNEE, K.S. (2002). "Bovine neosporosis and *Neospora vaccine*" en *20th American College of Veterinary Internal*, Dallas, Texas, pp. 293–295.
22. COSTA, K.S., SANTOS, S.L. y col. (2008). "Chickens (*Gallus domesticus*) are natural intermediate hosts of *Neospora caninum*" en *International Journal for Parasitology*, vol. 38, pp. 157–159.
23. DAVISON, H.C., GUY, C.S. y col. (2001). "Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle" en *Research in Veterinary Science*, vol. 70, pp. 163–168.

24. DONAHOE, S.L., LINDSAY, S.A. y col. (2015). "A review of neosporosis and pathologic findings of *Neospora caninum* infection in wildlife" en *International Journal for Parasitology: parasites and wildlife*, vol. 4, pp. 216-238.
25. DUBEY, J.P. (1999). "Recent advances in *Neospora* and neosporosis" en *Veterinary Parasitology*, vol. 84, pp. 349–367.
26. DUBEY, J.P. (2003). "Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals" en *Korean Journal Parasitology*, vol. 41, pp. 1–16.
27. DUBEY, J.P. y LINDSAY, D.S. (1996). "A review of *Neospora caninum* and neosporosis" en *Veterinary Parasitology*, vol. 67, pp. 1–59.
28. DUBEY, J. P., JENKINS, M. C. y col. (1997). "Antibody responses of cows during an outbreak of neosporosis evaluated by indirect fluorescent antibody test and different enzyme-linked immunosorbent assays" en *Journal Parasitology* vol. 83, pp. 1063–1069.
29. DUBEY, J. P., SREEKUMAR, C. y col. (2004). "Biologic, morphologic, and molecular characterisation of *Neospora caninum* isolates from littermate dogs" en *International Journal for Parasitology*, vol. 34 (10), pp. 1157-1167.
30. DUBEY, J. P., BUXTON, D. y WOU DA, W. (2006). "Pathogenesis of bovine neosporosis" en *Journal of Comparative Pathology*, vol.134 (4), pp. 267-289.
31. DUBEY, J.P., SCHARES, G. y ORTEGA-MORA, L.M. (2007). "Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*" en *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 20, pp. 323–367.
32. DUBEY, J.P., JENKINS, M.C. y col. (2011). "Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*" en *Veterinary Parasitology*, vol. 181, pp. 382–387.
33. DUBEY, J.P. y SCHARES, G. (2011). "Neosporosis in animals – the last five years" en *Veterinary Parasitology*, vol. 180, pp. 90–108.
34. EIRAS, C., ARNAIZ, I. y col. (2011). "*Neospora caninum* seroprevalence in dairy and beef cattle from the northwest region of Spain, Galicia" en *Preventive Veterinary Medicine*, vol. 98 (2 -3), pp. 128- 132.
35. FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA. *Neosporosis*.
http://www.fcv.unlp.edu.ar/index.php?option=com_content&view=article&id=1876&Itemid=1 [Consulta: 17 de Julio de 2017]
36. FERRE, I., SERRANO-MARTÍNEZ, E. y col. (2008). "Effects of reinfection with *Neospora caninum* in bulls on parasite detection in semen and blood and immunological responses" en *Theriogenology*, vol. 69, pp. 905–911.

37. GARCIA-BOCANEGRA, I., CABEZON, O. y col. (2012). "Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*)" en *Veterinary Journal*, vol. 191, pp. 257–260.
38. GIBNEY, E.H., KIPAR, A. y col. (2008). "The extent of parasite-associated necrosis in the placenta and foetal tissues of cattle following *Neospora caninum* infection in early and late gestation correlates with foetal death" en *International Journal for Parasitology*, vol. 38, pp. 579–588.
39. GONDIM, L.F., MCALLISTER, M.M. y col. (2004). "Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*" en *International Journal for Parasitology*, vol. 34, pp. 159–161.
40. GONZÁLEZ, L., BUXTON, D. y col. (1999). "Bovine abortion associated with *Neospora caninum* in northern Spain" en *Veterinary Record*, vol. 144, pp. 145–150.
41. GONZÁLEZ-WARLETA, M., CASTRO-HERMIDA, J.A. y col. (2008). "Epidemiology of neosporosis in dairy cattle in Galicia (NW Spain)" en *Parasitology Research*, vol. 2, pp. 243–249.
42. GOODSWEN, S.J., KENNEDY, P.J. y ELLIS, J.T. (2013). "A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: from the past to the present" en *Infection, Genetics and Evolution*, vol. 13, pp. 133–150.
43. GOTTSSTEIN, B., RAZMI, G.R. y col. (2005). "Toltrazuril treatment to control diaplacental *Neospora caninum* transmission in experimentally infected pregnant mice" en *Parasitology*, vol. 130, pp. 41–48.
44. HADDAD, J.P.A., DOHOO, I.R. y VANLEEWEN, J.A. (2005). "A review of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle – a Canadian perspective" en *Canadian Veterinary Journal*, vol. 46, pp. 230–243.
45. HALL, C. A., REICHEL, M. P. y ELLIS, J. T. (2005). "Neospora abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control" en *Veterinary Parasitology*, vol. 128 (3-4), pp. 231-241.
46. HASLER, B., REGULA, G. y col. (2006). "Financial analysis of various strategies for the control of *Neospora caninum* in dairy cattle in Switzerland" en *Preventive Veterinary Medicine*, vol. 77 (3-4), pp. 230-253
47. HEMPHILL, A., GAJENDRAN, N. y col. (1998). "Identification and characterisation of a dense granule-associated protein in *Neospora caninum* tachyzoites" en *International Journal for Parasitology*, vol. 28 (3), pp. 429-438.

48. HEMPHILL, A., VONLAUFEN, N. y NAGULESWARAN, A. (2006). "Cellular and immunological basis of the host-parasite relationship during infection with *Neospora caninum*" en *Parasitology*, vol. 133, pp. 261–278.
49. HORCAJO, P., REGIDOR-CERRILLO, J. y col. (2016). "Vaccines for bovine neosporosis: current status and key aspects for development" en *Parasite Immunology*, vol. 38, pp. 709-723.
50. HUGHES, J.M., WILLIAMS, R.H. y col. (2006). "The prevalence of *Neospora caninum* and co-infection with *Toxoplasma gondii* by PCR analysis in naturally occurring mammal populations" en *Parasitology*, vol. 132 (Pt 1), pp. 29-36.
51. INNES, E.A., ANDRIANARIVO, A.G. y col. (2002). "Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination" en *Trends in Parasitology*, vol. 18, pp. 497–504.
52. INNES, E.A., BARTLEY, P.M. y col. (2007). "Comparative host–parasite relationships in ovine toxoplasmosis and bovine neosporosis and strategies for vaccination" en *Vaccine*, vol. 25, pp. 5495–5503.
53. KING, J.S., SLAPETA, J. y col. (2010). "Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*" en *International Journal for Parasitology*, vol.40, pp. 945–950.
54. KRITZNER, S., SAGER, H. y col. (2002). "An explorative study to assess the efficacy of toltrazuril-sulfone (ponazuril) in calves experimentally infected with *Neospora caninum*" en *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, vol. 1, pp. 4.
55. KUL, O., ATMACA, H.T. y col. (2015). "*Neospora caninum*: the First Demonstration of the Enteroepithelial Stages in the Intestines of a Naturally Infected Dog" en *Journal of Comparative Pathology*, vol. 153, pp. 9-13.
56. LINDSAY, D.S. y DUBEY, J.P. (1989). "*Neospora caninum* (Protozoa: apicomplexa) infections in mice" en *Journal of Parasitology*, vol. 75, pp. 772–779.
57. LÓPEZ-GATIUS, F., PABÓN, M. y ALMERÍA, S. (2004). "*Neospora caninum* infection does not affect early pregnancy in dairy cattle" en *Theriogenology*, vol.62, pp. 606–613.
58. LÓPEZ-GATIUS, F., LÓPEZ-BÉJAR, M. y col. (2004). "*Neospora*-associated Abortion episode over 1-year period in a dairy herd in North-east Spain" en *Journal of Veterinary Medicine. B*, vol. 51, pp. 348-352.
59. LÓPEZ-GATIUS, F., SANTOLARIA, P. y col. (2005a). "The use of beef bull semen reduced the risk of abortion in *Neospora*-seropositive dairy cows" en *Journal of Veterinary Medicine. B Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, vol. 52(2), pp. 88-92.

60. LÓPEZ-GATIUS, F., GARCÍA-ISPIERTO, I. y col. (2005b). "Relationship between rainfall and *Neospora caninum*-associated abortion in two dairy herds in a dry environment" en *Journal of Veterinary Medicine*, vol. 52, pp. 147–152.
61. LÓPEZ-GATIUS, F. y ALMERIA, S. (2009). "Aspectos epidemiológicos de la neosporosis bovina en el Nordeste español. Una perspectiva clínica" en *ITEA*, vol. 115 (4), pp. 296-312.
62. MAINAR-JAIME, R., BERZAL-HERRANZ, B. y col. (1999). "Prevalencia frente a *Neospora caninum* en el ganado vacuno lechero de la región centro-costa asturiana" en *Producción Animal*, vol. 140, pp. 24–26.
63. MALEY, S.W., BUXTON, D. y col. (2003). "The pathogenesis of neosporosis in pregnant cattle: inoculation at mid-gestation" en *Journal of Comparative Pathology*, vol. 129, pp. 186-195.
64. MCALLISTER, M. M., HUFFMAN, E. M. y col. (1996). "Evidence suggesting a point source exposure in an outbreak of bovine abortion due to neosporosis" en *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, vol. 8 (3), pp.355-357.
65. MCALLISTER, M. M., DUBEY, J. P. y col. (1998). "Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*" en *International Journal for Parasitology*, vol. 28 (9), pp. 1473-1478.
66. MCCANN, C.M., VYSE, A.J. y col. (2008). "Lack of serologic evidence of *Neospora caninum* in humans, England" en *Emerging Infectious Diseases*, vol. 14, pp. 978–980.
67. MEERBURG, B.G., DE CRAEYE, S. y col. (2012). "*Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in brain tissue of feral rodents and insectivores caught on farms in the Netherlands" en *Veterinary Parasitology*, vol. 184, pp. 317–320.
68. MILLAN, J., CANDELA, M.G. y col. (2009). "Disease threats to the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*)" en *Veterinary Journal*, vol. 182, pp. 114–124.
69. MILLER, C.M., QUINN, H.E. y col. (2002). "Characterisation of the first Australian isolate of *Neospora caninum* from cattle" en *Australian Veterinary Journal*, vol. 80, pp. 620–625.
70. MONNEY, T. y HEMPHILL, A. (2014). "Vaccines against neosporosis: what can we learn from the past studies?" en *Experimental Parasitology*, vol. 140, pp. 52–70.
71. MOORE, D. P., CAMPERO, C. M. y col. (2003). "Reproductive losses due to *Neospora caninum* in a beef herd in Argentina" en *Journal of Veterinary Medicine*, vol. 50, pp. 304–308.
72. MOSKWA, B., PASTUSIAK, K. y col. (2007). "The first detection of *Neospora caninum* DNA in the colostrum of infected cows" en *Parasitology Research*, vol. 100, pp. 633–636.

73. ORTEGA-MORA, L. M., FERNÁNDEZ-GARCÍA, A. y GÓMEZ-BAUTISTA, M. (2006). "Diagnosis of bovine neosporosis: Recent advances and perspectives" en *Acta Parasitológica*, vol. 51 (1), pp. 1-14.
74. PANADERO, R., PAINCEIRA, A. y col. (2010). "Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wild and domestic ruminants sharing pastures in Galicia (Northwest Spain)" en *Research in Veterinary Science*, vol. 88, pp. 111-115.
75. PEDREIRA, J., DÍAZ, P. y col. (2006). "Recommended strategy for the diagnosis and control of the bovine neosporosis in the adsg of Galicia" en XIV Congreso Internacional de la Federación Mediterránea de Sanidad y Producción de Rumiantes, pp. 471-473.
76. PEREIRA-BUENO, J., QUINTANILLA-GOZALO, A. y col. (2000). "Observational studies in *Neospora caninum* infected dairy cattle: pattern of transmission and age-related antibody fluctuations" en *International Journal for Parasitology*, vol. 30, pp. 906-909.
77. PEREIRA-BUENO, J., QUINTANILLA-GOZALO, A. y col. (2003). "Evaluation by different diagnostic techniques of bovine abortion associated with *Neospora caninum* in Spain" en *Veterinary Parasitology*, vol. 111, pp. 143-152.
78. PFEIFFER, D.U., WILLIAMSON, N.B. y col. (2002). "A longitudinal study of *Neospora caninum* infection on a dairy farm in New Zealand" en *Preventive Veterinary Medicine*, vol. 54, pp. 11-24.
79. PIERGILI-FIORETTI, D., PASQUALI, P. y col. (2003). "*Neospora caninum* infection and congenital transmission: serological and parasitological study of cows up to the fourth gestation" en *Journal of Veterinary Medicine B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, vol. 50, pp. 399-404.
80. QUINN, H.E., WINDSOR, P.A. y col. (2004). "An outbreak of abortion in a dairy herd associated with *Neospora caninum* and bovine pestivirus infection" en *Australian Veterinary Journal*, vol. 82, pp. 99-101.
81. QUINTANILLA-GOZALO, A., PEREIRA-BUENO, J. y col. (1999). "Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy cattle and beef cattle in Spain" en *International Journal for Parasitology*, vol. 29, pp. 1201-1208.
82. REICHEL, M.P., ELLIS, J.T. y DUBEY, J.P. (2007). "Neosporosis and hammondiosis in dogs" en *Journal of Small Animal Practice*, vol. 48, pp. 308-312.
83. REICHEL, M.P., ALEJANDRA AYANEGUI-ALCERRECA, M. y col. (2013). "What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle – the billion dollar question" en *International Journal for Parasitology*, vol. 43, pp. 133-142.

84. RISCO, V. (2008). Identificación y caracterización de antígenos específicos del estadio de bradizoíto de "*Neospora caninum*" (Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid).
85. ROJO-MONTEJO, S., COLLANTES-FERNANDEZ, E. y col. (2009). "Isolation and characterization of a bovine isolate of *Neospora caninum* with low virulence" en *Veterinary Parasitology*, vol. 159, pp. 7–16.
86. SÁNCHEZ, G.F., BANDA, R.V. y col. (2009). "Comparison between immunohistochemistry and two PCR methods for detection of *Neospora caninum* in formalin-fixed and paraffin-embedded brain tissue of bovine fetuses" en *Veterinary Parasitology*, vol. 164, pp. 328–332.
87. SCHARES, G., WENZEL, U. y col. (2001). "Serological evidence for naturally occurring transmission of *Neospora caninum* among foxes (*Vulpes vulpes*)" en *International Journal for Parasitology*, vol. 31, pp. 418-423.
88. SCHARES, G., HEYDORN, A. O. y col. (2002). "In contrast to dogs, red foxes (*Vulpes vulpes*) did not shed *Neospora caninum* upon feeding of intermediate host tissues" en *Parasitology Research*, vol. 88 (1), pp. 44-52.
89. SOBRINO, R., DUBEY, J.P. y col. (2008). "*Neospora caninum* antibodies in wild carnivores from Spain" en *Veterinary Parasitology*, vol. 155, pp. 190-197.
90. SPEER, C.A., DUBEY, J.P. y col. (1999). "Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*" en *International Journal for Parasitology*, vol. 29, pp. 1509-1519.
91. THILSTED, J.P. y DUBEY, J.P. (1989). "Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle" en *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, vol. 1, pp. 205–209.
92. THURMOND, M. C. y HIETALA, S. K. (1997a). "Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle" en *American Journal of Veterinary Research*, vol. 58 (12), pp. 1381-1385.
93. THURMOND, M.C. y HIETALA, S.K. (1997b). "Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first-lactation dairy cows" en *Journal of American Veterinary Medical Association*, vol. 210, pp. 672-674.
94. TREES, A. J., DAVISON, H. C. y col. (1999). "Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis" en *International Journal for Parasitology*, vol. 29, pp. 1195-1200.
95. VARCASIA, A., CAPELLI, G. y col. (2006). "Prevalence of *Neospora caninum* infection in Sardinian dairy farms (Italy) detected by iscom ELISA on tank bulk milk" en *Parasitology Research*, vol. 98(3), pp. 264-7.

96. WAPENAAR, W., BARKEMA, H.W. y col. (2007). "Comparison of serological methods for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in cattle" en *Veterinary Parasitology*, vol. 143, pp. 166–173.
97. WESTON, J.F., HEUER, C. y WILLIAMSON, N.B. (2012). "Efficacy of a *Neospora caninum* killed tachyzoite vaccine in preventing abortion and vertical transmission in dairy cattle" en *Preventive Veterinary Medicine*, vol. 103, pp. 136–144.
98. WILLIAMS, D.J., HARTLEY, C.S. y col. (2009). "Endogenous and exogenous transplacental transmission of *Neospora caninum* – how the route of transmission impacts on epidemiology and control of disease" en *Parasitology*, vol. 136, pp. 1895–1900.
99. WOODING, F.B., ROBERTS, R.M. y GREEN, J.A. (2005). "Light and electron microscope immunocytochemical studies of the distribution of pregnancy associated glycoproteins (PAGs) throughout pregnancy in the cow: possible functional implications" en *Placenta*, vol. 26, pp. 807–827.
100. WOUDA, W., DUBEY, J.P. y JENKINS, M.C. (1997). "Serological diagnosis of bovine fetal neosporosis" en *Journal of Parasitology*, vol. 83, pp. 545-547.
101. WOUDA, W., DIJKSTRA, T.H. y col. (1999). "Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle" en *International Journal for Parasitology*, vol. 29 (10), pp. 1677-1682.
102. WOUDA, W., BARTELS, C. J. y MOEN, A. R. (1999). "Characteristics of *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995 to 1997)" en *Theriogenology*, vol. 52 (2), pp. 233-245.
103. YÁÑIZ, J.L., LÓPEZ-GATIUS, F. y col. (2009). "Some factors affecting the abortion rate in dairy herds with high incidence of *Neospora*-associated abortions are different in cows and heifers" en *Reproduction in Domestic Animals*, vol. 45, pp. 699-705.
104. ZARROUK, A., ENGELAND, I. y col. (1999). "Pregnancy- associated glycoprotein levels in pregnant goats inoculated with *Toxoplasma gondii* or *Listeria monocytogenes*: a retrospective study" en *Theriogenology*, vol. 52, pp. 1105-1114.