ITEA (1996), Vol. 92A N.º 2, 67-75

LA NEOSPOROSIS EN ANIMALES DOMÉSTICOS

T. Sáez Gutiérrez
M.C. Marca Andrés
M.C. Sanz Lorenzo
J.J. Ramos Antón

Dpto. Patología Animal
(Patología General y Médica)
Facultad de Veterinaria
C/ Miguel Servet 177
50013 ZARAGOZA

RESUMEN

Neospora caninum es un protozoo parásito recientemente identificado y que afecta a los animales domésticos. Hasta 1988 era diagnosticado como *Toxoplasma gondii*. *Neospora caninum* es capaz de producir parálisis y muerte en perros y mortalidad neonatal y abortos en vacas, ovejas, cabras y caballos.

Palabaras clave: *Neospora caninum, Toxoplasma gondii,* animales domésticos.

SUMMARY
NEOSPOROSIS IN DOMESTIC ANIMALS

Neospora caninum is a recently recognized protozoan parasite of animals which until 1988 was diagnosed as *Toxoplasma gondii*. *Neospora caninum* causes paralysis and death in dogs and neonatal mortality and abortion in cattle, sheep, goats and horses.

Key words: *Neospora caninum, Toxoplasma gondii,* domestic animals.

Introducción

En 1984, en Noruega se diagnosticó una enfermedad nerviosa en perros que parecía estar asociada a un parásito similar a *T. gondii* (BJERKAS *et al.*, 1984). Dicho parásito se detectó en cerebro y músculos y sin embargo no se hallaron anticuerpos frente a *T. gondii*. En 1988, un parásito similar fue encontrado en 10 perros en EEUU y a este parásito canino se le denominó *Neospora caninum* (DUBEY *et al.*, 1988). Sin embargo la neosporosis no es un hallazgo nuevo ya que estudios retrospectivos muestran que en 1957 un grupo de perros de EEUU desarrollaron una grave enfermedad debida probablemente a *N. caninum* (DUBEY y LINDSAY, 1993). Años más tarde, en 1988, taquizoitos vivos de *N. caninum* fueron aislados en cultivos celulares y se observaron quistes tisulares en ratones inoculados con tejidos de perros infestados. La neosporosis se indujo experimentalmente en perros infestados con

taquizoitos y se desarrolló el test de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para detectar anticuerpos frente a *N. caninum*. El desarrollo de técnicas immunohistoquímicas en 1989 llevaron a la identificación del parásito en tejidos fijados con formol, lo que ha hecho posible el diagnóstico de infecciones por Neospora en un amplio número de animales (LINDSAY y DUBEY, 1989-a). En 1991, la estructura y antigenicidad del parásito procedente de perros de Noruega y EEUU se comparó concluyendo que se trataba del mismo parásito, *N. caninum*.

Posteriormente la neosporosis se ha diagnosticado como causa de aborto en ganado vacuno y también se han publicado casos de neosporosis en cabras, ovejas y caballos. Sin embargo, la incidencia de la neosporosis en estos animales aún no se ha determinado, ni tampoco se conoce la prevalencia y la importancia económica de esta enfermedad.

Hasta el momento se han realizado 2 aislamientos de *Neospora*, uno en un feto bovino y otro en un perro. Sin embargo las diferencias antigénicas entre ambos son muy escasas. Los taquizoitos de ambos aislamientos son muy similares, sólo existen pequeñas diferencias en los quistes tisulares (LINDSAY *et al.*, 1993; CONRAD *et al.*, 1993).

Estructura

El parásito *N. caninum* se encuentra dentro del phylum Apicomplexa familia Sarcocystidae junto con los géneros *Toxoplasma*, *Sarcocystis* y *Hammondia* (HOLMDAHL *et al.*, 1994).

Aunque clínicamente neosporosis y toxoplasmosis son parecidas, *T. gondii* y *N. caninum* son distintos antigénica y estructuralmente. A microscopia óptica los taquizoitos de *N. caninum* y *T. gondii* pueden parecer idénticos, sin embargo a microscopia electrónica de transmisión las roptrias en *N. caninum* aparecen electrodensas mientras que en *T. gondii* son esponjosas (DUBEY *et al.*, 1988).

Los taquizoitos tienen forma ovoide o globular y miden de 3-7 x 1-5 µm, dependiendo de su estado de división. Se dividen en 2 zoitos por endodiogenia. En animales infectados, los taquizoitos se encuentran en diferentes células: nerviosas, macrófagos, fibroblastos, células del endotelio vascular, miocitos, células epiteliales de los túbulos renales y hepatocitos (DUBEY *et al.*, 1988; DUBEY y LINDSAY, 1993). Los taquizoitos se localizan en el citoplasma de las células con o sin vacuola parasitófora, presentando organelas típicas de *T. gondii* y de otros coccidios.

Los quistes tisulares tienen forma oval, miden más de 107 µm de largo y se encuentran sólo en tejido nervioso (cerebro, médula espinal) y retina (DUBEY *et al.*, 1988; DUBEY y LINDSAY, 1993). La pared del quiste es lisa y mide unos 4 µm de espesor. Los bradizoitos son delgados (6-8 x 1-1,8 µm) y contienen las mismas organelas que los taquizoitos excepto que tienen menos roptrias y los gránulos son más PAS + en los bradizoitos. En los quistes aparecen estructuras tubulares entre los bradizoitos que contienen microporos (BJERKAS, y PRESTUS, 1988). Los microporos se han observado en bradizoitos de quistes tisulares de perros de Noruega mientras que en perros de EEUU no se han encontrado (SPEER y DUBEY, 1989).

N. caninum inicialmente se ha cultivado *in vitro* en monocitos bovinos y células endoteliales de arteria cardiopulmonar. Al mismo tiempo *N. caninum* también se ha logrado cultivar en células de riñón bovino Madin-Darby, en fibroblastos de piel huma-

na y en otras líneas celulares de cerebro fetal de ratón. El efecto citopático se observa sobre todo a los 3 días postinfección y consiste principalmente en la ruptura de las células produciendo agujeros en la monocapa de cultivo. A los 4-6 días postinfección se ha destruído aproximadamente el 70% de las células de cultivo. En estos cultivos sólo se obtienen taquizoitos que son infectivos para los animales. El pase continuado de taquizoitos en cultivos celulares se ha mantenido durante años sin pérdida de infectividad. Asimismo, los taquizoitos en nitrógeno líquido siguen siendo infectivos para los cultivos celulares (LINDSAY y DUBEY, 1989-b).

Epidemiología

Hasta el momento no se conoce el ciclo de *N. caninum,* únicamente se ha demostrado la transmisión vertical de la madre al feto (DUBEY, 1992). La infección experimental se ha inducido en ratas, ratones, perros, gatos, ovejas, vacas (DUBEY y LINDSAY, 1993; BARR *et al.*, 1994) y cabras (BUXTON, comunicación personal). Asimismo, la infección puede tener lugar en el mismo animal repetidamente (DUBEY y LINDSAY, 1993).

La similitud entre *N. caninum* y *T. gondii* sugiere que se trata de un coccidio con un carnívoro como hospedado definitivo. De su ciclo biológico sólo se han identificado taquizoitos y quistes. Sin embargo no se han detectado ooquistes en heces de perros, gatos o mapaches infectados experimentalmente con *N. caninum.*

En unos días, *N. caninum* es capaz de producir lesiones necróticas causando la muerte celular por la multiplicación activa de los taquizoitos. Asimismo, puede producir una enfermedad neuromuscular grave en perros y probablemente en otros hospedadores destruyendo gran variedad de células nerviosas, incluyendo los nervios espinal y craneal y alterando la conductividad de las células afectadas (DUBEY y LINDSAY, 1993).

Generalmente, los quistes tisulares no están rodeados por una zona de reacción del hospedador. No obstante, la formación de granulomas alrededor de algunos quistes tisulares y bradizoitos sugiere que algunos quistes se pueden romper causando una reacción de inflamación por parte del hospedador. Asimismo, la administración de corticoides exógenos puede exacerbar la neosporosis. Por otra parte, aunque no se conoce por cuánto tiempo los quistes tisulares pueden permanecer en el sistema nervioso central; experimentalmente se ha comprobado en ratones que pueden ser viables durante al menos 1 año (DUBEY y LINDSAY, 1993).

En animales inoculados experimentalmente, *N. caninum* es infectivo por vía subcutánea, intraperitoneal, intramuscular e incluso por via oral (DUBEY y LINDSAY, 1993). Los bradizoitos de los quistes tisulares son resistentes al HCl y la pepsina, lo cual indica que los carnívoros pueden formar parte del ciclo biológico de *N. caninum.* También se ha comprobado que los quistes tisulares de *N. caninum* pueden sobrevivir durante más de 14 días a 4 °C, pero no son infectivos después de una incubación a -20 °C durante 1 día (DUBEY y LINDSAY, 1993). Estos mismos autores recogieron taquizoitos de *Neospora* de ratones inoculados con tejido nervioso de un ternero aun cuando la muestra había permanecido durante 4 meses a -52 °C antes de ser inoculada.

En gatos, la infección experimental antes de la gestación dió lugar a una infección congénita en los cachorros, al mismo tiempo que se encontraron taquizoitos en la pla-

centa y el útero de la madre (DUBEY y LINDSAY, 1993).

N. caninum no produce infección en roedores inmunocompetentes. Una alternativa para producir la infección en ratones es provocarles inmunosupresión con corticosteroides. Dependiendo del grado de infección y la dosis de corticosteroides se puede producir infección experimental e incluso ser más patogeno para los ratones que para otras especies. La neumonía y la encefalitis son los signos predominantes de la neosporosis en ratones mientras que las ratas suelen desarrollar hepatitis. El número de quistes tisulares producidos es impredecible. Estos, son mucho más pequeños (10-15 µm) en ratones que en perros infectados por vía natural (DUBEY y LINDSAY, 1993).

N. caninum como agente causal de abortos

En ganado vacuno, los abortos son el síntoma más característico de Neosporosis y éstos pueden tener lugar tanto de forma esporádica, como enzoótica o epidémica originando el nacimiento de terneros débiles (NIETFELD *et al.*, 1992, DUBEY y LINDSAY, 1993). En California, el 15% de los abortos investigados fueron debidos a *N. caninum* (BARR *et al.*, 1991) y en Escocia, el 9% de las vacas que habían abortado recientemente, mostraron diferentes títulos de anticuerpos frente a *N. caninum* (TREES *et al.*, 1994). OTTER *et al.* (1995) de 190 fetos abortados o mortinatos, diagnosticaron *N. caninum* en el cerebro de 8 de ellos (4,2%). Asimismo, la Neosporosis está considerada como una de las mayores causas de aborto en Nueva Zelanda, al mismo tiempo que ha sido diagnosticada en Canadá, Europa, Australia, Sudáfrica y Japón (DUBEY y LINDSAY, 1993). Gran parte de la información disponible sobre la epidemiología de Neospora como responsable de abortos en vacas proviene de estudios realizados en ganado lechero de California. En un estudio realizado sobre 689 fetos, entre los 3 y 8 meses de gestación, se encontró neosporosis en el 24,4% (ANDERSON *et al.*, 1991).

Los abortos suelen tener lugar a partir del tercer mes de gestación con una media de edad de 5,6 meses. En los fetos, tanto el parásito como los quistes tisulares son más abundantes a finales de la gestación y también en terneros recién nacidos (ANDERSON *et al.*, 1991; BARR *et al.*; 1991), sin embargo, los taquizoitos se suelen encontrar en fetos a los 4 meses de gestación (DUBEY y LINDSAY, 1993). Asimismo, *Neospora* puede causar reabsorción fetal a principios de gestación, muerte y, en algunos casos, retención del esqueleto o de los fetos momificados hasta final de gestación. Algunos autores consideran que el hallazgo de fetos momificados es un signo clínico importante que hace sospechar de un brote de Neosporosis (TREES *et al.*, 1993).

Los terneros nacidos vivos pueden desarrollar signos neuromusculares como resultado de la infección por *Neospora*. Estos signos clínicos aparecen frecuentemente entre los 3 y 5 días de vida aunque también pueden aparecer a las 2 semanas. Los animales infectados suelen nacer con un peso más bajo de lo normal, debilidad y en ocasiones incapacidad para mantenerse en pie, ya que las extremidades pueden aparecer en extensión. No obstante actualmente, la prevalencia subclínica de la Neosporosis congénita todavía no se conoce (BARR *et al.*, 1991; DUBEY y LINDSAY, 1993).

Experimentalmente se ha comprobado que de 3 vacas inoculadas con *N. caninum*, 2 de ellas abortaron fetos momificados; la tercera fue sacrificada a los 32 días postin-

fección y el feto estaba vivo aunque presentaba una extensa necrosis tanto de la materia gris como de la blanca. En la siguiente gestación los fetos fueron normales, aunque en condiciones naturales se ha comprobado que la Neosporosis congénita puede repetirse en esta especie (BARR *et al.*, 1993).

Asimismo, ANDERSON (1992), al estudiar la prevalencia en ganado vacuno entre los años 1985-1990, observó que ésta era muy similar a lo largo de ese período, lo cual indica que no se trata de una enfermedad nueva introducida recientemente. Sin embargo, en algunas explotaciones se ha observado un brote repentino de abortos provocado por *N. caninum;* este hecho suele tener lugar en explotaciones que anteriormente no habían estado en contacto con dicho parásito (THORNTON *et al.*, 1994; YAEGER *et al.*, 1994).

En caballos, el primer caso fue diagnosticado por DUBEY y PORTERFIELD (1990) en un feto abortado 2 meses antes de la fecha prevista para el parto, lo cual indica que en équidos también es posible la transmisión transplacentaria, ya que los taquizoitos de *N. caninum* se encontraron en secciones de pulmón.

En ganado ovino, aunque no es una especie muy susceptible de padecer esta enfermedad, se diagnosticó por primera vez en un cordero de una semana de edad el cual era incapaz de mantenerse en pie. Los quistes tisulares de *N. caninum* se encontraban en cerebro y espina dorsal (DUBEY *et al.*, 1990). En cabras, se diagnosticó por primera vez a partir de cerebro de cabrito siendo la distribución de los quistes similar a la que se da en el ganado ovino (DUBEY *et al.*, 1992).

Respecto a las lesiones en fetos o mortinatos, éstas no son específicas. En los fetos abortados, las lesiones microscópicas se localizan principalmente en cerebro, espina dorsal y corazón, y ocasionalmente, en pulmones, riñones y membranas fetales (BARR *et al.*, 1991; DUBEY y LINDSAY, 1993). Las lesiones microscópicas consisten en encefalitis y miocarditis multifocal necrotizante no supurativa. Los focos de necrosis estan rodeados de células inflamatorias (de la glia o mononucleares). Asimismo, también se pueden encontrar lesiones en la placenta con infiltrados de células inflamatorias a nivel focal o intersticial (BARR *et al.*, 1992).

Neosporosis en animales de compañia

Neospora caninum se ha encontrado en perros infectados naturalmente en distintas áreas geográficas, incluyendo EEUU, Canadá, Europa, Australia, Sudáfrica y Japón. En animales jóvenes la enfermedad cursa de forma grave, sobre todo en cachorros infectados de forma congenita (HAY *et al.*, 1990; MAYHEW *et al.*, 1991; DUBEY y LINDSAY, 1993), los cuales desarrollan una parálisis ascendente, entre las 7 semanas y los 10 meses de edad, con las extremidades posteriores más gravemente afectadas, no obstante, los animales pueden vivir durante varios meses. Cuando aparecen afectados varios animales de la misma camada esto debe hacernos sospechar de neosporosis. La enfermedad puede estar localizada o generalizada en todos los órganos incluyendo la piel. Otras disfunciones incluyen dificultad para tragar, parálisis mandíbular, flacidez, atrofia muscular y finalmente fallo cardíaco (SHEAHAN *et al.*, 1993; CUDDON *et al.*, 1992).

Los valores hemáticos generalmente no estan alterados, aunque puede haber incremento de los enzimas séricos asociados con necrosis de miocitos y del hígado: CK, GPT y AP (CUDDON *et al.*, 1992; GREIG *et al.*, 1995).

No se conoce ninguna predisposición racial o susceptibilidad respecto al sexo en la Neosporosis. No obstante, el caso más grave se ha observado en 4 camadas de Pointer de un mismo dueño, en los que ve de 36 perros, 29 presentaron parálisis de las extremidades y en 6 perros necropsiados se encontró *N. caninum* (DUBEY y LINDSAY, 1993).

Más recientemente, GREIG *et al.*, 1995 describieron un caso de neumonía en un perro adulto (11 años de edad). Dicho animal había sido tratado durante 8 años con corticoides por problemas de atopia. Las radiografías mostraban una enfermedad alveolar multifocal distribuída por todo el pulmón. Al estudiar el aspirado pulmonar se observaron taquizoitos de *N. caninum*. ODIN y DUBEY (1993) citan un caso de muerte repentina en un perro de 10 meses sin signos clínicos aparentes. La necropsia del animal reveló que se trataba de miocarditis multifocal intersticial y necrosis con infiltración de linfocitos y macrófagos y unos pocos neutrófilos. Los taquizoitos se detectaron en los miocitos y entre las células inflamatorias.

Diagnóstico

Normalmente el diagnóstico de Neosporosis se hace sobre cortes histológicos con técnicas convencionales de hematoxilina/eosina y también con técnicas inmunohistoquímicas (LINDSAY y DUBEY, 1989a; ANDERSON *et al.*, 1991).

Estudios preliminares indican que muchas especies de animales desarrollan anticuerpos específicos frente a *N. caninum* los cuales se pueden detectar mediante IFI usando como antígeno taquizoitos de *N. caninum* procedentes de cultivos celulares. El título de anticuerpos a partir del cual un animal es considerado positivo a *N. caninum* es 1/200. Sin embargo, existe cierta reacción cruzada entre *N. caninum* y *T. gondii* en diluciones < 1/50. Los perros con neosporosis clínica presentan títulos ≥ 1/200, aunque perros con títulos > 1/800 pueden ser clínicamente normales (DUBEY y LINDSAY, 1993). En nuestra opinión, y según las recomendaciones del Dr. BUXTON, consideramos animales positivos a partir de la dilución 1/256.

Cuando se trata de diagnosticar Neosporosis en el ganado bovino, es preciso hacer el diagnóstico diferencial frente a *T. gondii* y *Sarcocystis spp.*, tanto en el test IFI como en las técnicas inmunohistoquímicas (LINDSAY y DUBEY, 1989a; BARR *et al.*, 1991; TREES *et al.*, 1994; OTTER *et al.*, 1995).

La técnica serológica ideal debe ser sensible, específica, (particularmente no debe haber reacción cruzada con otros parásitos como *T. gondii, Sarcocystis spp.* u otros coccidios), de bajo coste, y a ser posible automatizable, para poder analizar gran número de muestras sin invertir demasiado tiempo. El test ELISA cumple prácticamente todos estos requisitos y se está utilizando como un método rápido para detectar y titular anticuerpos frente a varios antígenos. Actualmente, el test ELISA frente a *N. caninum* no se ha desarrollado debido a la reacción cruzada frente a otros protozoos (DUBEY y LINDSAY, 1993), por lo tanto las futuras investigaciones deben ir encaminadas a desarrollar dicho test.

Mediante técnicas inmunohistoquímicas también se puede diagnosticar *N. caninum* usando suero anti. En algunos casos se utiliza suero policlonal de conejos inmunizados con taquizoitos de cultivos celulares. En ocasiones, *N. caninum* reacciona débilmente con antisueros de *T. gondii;* sin embargo,

las técnicas inmunohistoquímicas son fiables 100%. Además hay que tener en cuenta que el tipo de antígeno, el estado del parásito al inmunizar los conejos, el tratamiento con tripsina o pepsina de los tejidos o la falta de tratamiento enzimático en los mismos pueden influir sobre los resultados inmunohistoquímicos (LINDSAY y DUBEY, 1989-a). Actualmente se ha desarrollado un anticuerpo monoclonal específico para taquizoitos y quistes de *N. caninum* (COLE *et al.*, 1993).

Tratamiento y profilaxis

Inicialmente algunos fármacos empleados en el tratamiento de la Toxoplasmosis se han testado en cultivos celulares de *N. caninum* (Lindsay *et al.*, 1994). Lasalocid, monensina, piretrezim, pirimetamina y trimetroprin previenen la multiplicación intracelular de *N. caninum*. Asimismo, la sulfadiazina en el agua de bebida previene la Neosporosis clínica en ratones infectados experimentalmente, pero su administración no es efectiva una vez que los signos clínicos han aparecido (DUBEY y LINDSAY, 1993).

En perros, siempre que el diagnóstico sea precoz, se pueden utilizar como tratamiento sulfadiazina/trimetoprin (15 mg/kg 2 veces al día) y pirimetamina (1 mg/kg diariamente), aunque ninguno de estos fármacos es efectivo en animales con parálisis o rigidez de extremidades (HAY *et al.*, 1990; MAYHEW *et àl.*, 1991). El tratamiento con clindamicina (13,5 mg/kg 3 veces al día) dió resultado en un perro con miositis y diagnosticado de neosporosis (DUBEY y LINDSAY, 1993). Igualmente DUBEY *et al.*, (1995), al tratar con clindamicina a un perro con neosporosis la cual cursaba con dermatitis piogranulomatosa, resolvieron las lesiones cutáneas a los 45 días del tratamiento.

Respecto a la profilaxis poco se puede decir, puesto que el ciclo del parásito aún no se conoce. En los países en que ya ha sido diagnosticada la enfermedad la única medida que se está llevando a cabo es el control de los animales positivos.

Agradecimientos

La realización de este trabajo ha sido posible gracias a una ayuda de investigación CAI-CONAI concedida en Noviembre de 1994.

Bibliografía

ANDERSON, M.L., BLANCHARD, P.C. y BARR, B.C. 1991. Neospora-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. JAVMA, 198, 241-244.

ANDERSON, M.L. 1992. XVII Buitrics Congress and XXV American Association of Bovine Practicioners Conference. St. Paul, USA.

BARR, B.C., ANDERSON, M.L., DUBEY, J.P. y CONRAD, P.A. 1991. Neospora-like protozoal infectious associated with bovine abortions. Vet. Pathol, 28, 110-116.

BARR, B.C., ANDERSON, M.L., WOODS, L.W., DUBEY, J.P. y CONRAD, P.A. 1992. Neospora-like protozoal infections associated with abortion in goats. J. Vet. Diagn. Invest., 4, 365-367.

BARR, B.C., CONRAD, P.A., BREITMEYER, R., SVERLOW, K., ANDERSON, M.L., REYNOLDS, J., CHAUVET, A.E., DUBEY, J.P. y ARDANS, A.A. 1993. Congenital neospora infection in calves born from cows that had previosly aborted Neospora-infected fetuses: four cases (1990-1992). JAVMA, Vol. 202 (1), 113-117.

BARR, B.C., ROWE, J.D., SVERLOW, K.W., BONDURANT, R.H., ARDANS, A.A., OLIVER, M.N. y CONRAD, P.A.

1994. Experimental reproduction of bovine fetal Neospora infection and death with a bovine Neospora isolate. J. Vet. Diagn. Invest., 6, 207-215.

BJERKAS, I., MOHN, S.I. y PRESTHUS, J. 1984. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. Z. Parasitenkd., 70, 271-274.

BJERKAS, I. y PRESTUS, J. 1988. Immuno-histochemical and ultrastructural characteristics of a cyst-forming sporozoan associated with encephalomielitis and myositis in dogs. Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand., 96, 445-454.

COLE, R.A., LINDSAY, D.S., DUBEY, J.P. y BLAGBURN, B.L. 1993. Deteccion of *Neospora caninum* in tissue sections using a murine monoclonal antibody. J. Vet. Diagn. Invest., 5, 579-584.

CONRAD, P.A., BARR, B.C., SVERLOW, K.W., ANDERSON, M., DAFT, B., KINDE, H., DUBEY, J.P., MUNSON, L. y ARDANS, A. 1993. In vitro isolation and characterization of a *Neospora sp.* from aborted bovine foetuses. Parasitology, 106, 239-349.

CUDDON, P., LIN, D., BOWAN, D.D., LINDSAY, D.S., MILLER, T.K., DUCAN, I.D., DELAHUNTA, A., CUMMINGS, J., SUTA, M., COOPER, B., KING, J.M., DUBEY, J.P. 1992. *Neospora caninum* infection in English springer spaniel littermates. J. Vet. In. Med., 6, 325-332.

DUBEY, J.P., CARPENTER, J.L. y SPEER, C.A. 1988. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. JAVMA, 192, 1269-1285.

DUBEY, J.P., HARTLEY, W.J., LINDSAY, D.S. y TOPPER, M.J. 1990. Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. J. Parasitol., 76 (1), 127-130.

DUBEY, J.P. y PORTEFIELD, M.L. 1990. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in an aborted equine fetus. J. Parasitol. 76 (5), 732-734.

DUBEY, J.P. 1992. A review of *Neospora caninum* and Neospora-like infections in animals. J. Protoozol. Res. 2, 40-52.

DUBEY, J.P., ACLAND, H.M. y HAMIR, A.N. 1992. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in a stillborn goat. J. Parasitol. 78 (3), 532-534.

DUBEY, J.P. y LINDSAY, D.S. 1993. Neosporosis. Parasitology Today. Vol. 9 (12), 452-458.

DUBEY, J.P., METZGER, F.L., HATTEL, A.L., LINDSAY, D.S., y FRITZ, D.L. 1995. Canine cutaneous neosporosis: clinical improvement with clindamycin. Veterinary Dermatology 6 (1), 37-43.

GREIG, B., ROSSOW, K.D., COLLINS, J.E. y DUBEY, J.P. 1995. *Neospora caninum* pneumonia in an adult dog. JAVMA, 206, (7), 1000-1001.

HAY, W.H., SHELL, L.G., LINDSAY, D.S. y DUBEY, J.P. 1990. Diagnosis and treatment of *Neospora caninum* infection in a dog. JAVMA, 197, (1), 87-89.

HOLMDHAL, O.J.M., MATTSSON, J.G., UGGLA, A., JOHANSSON, K.E. 1994. The phylogeny of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* based on ribosomal RNA sequences. FEMS Microbiology Letters 119, 187-192.

LINDSAY, D.S. y DUBEY, J.P. 1989-a. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. Am. J. Vet. Res., 50, (11), 1981-1983.

LINDSAY, D.S. y DUBEY, J.P. 1989-b. *In vitro* development of *Neospora caninum* (Protoza: Apicomplexa) from dogs. J. Parasitol., 75 (1), 163-165.

LINDSAY, D.S., SPEER, C.A., TOIVIO-KINNUCAN, M.A., DUBEY, J.P. y BLAGBURN, B.L. 1993. Use of infected cultured cells to compare ultrstructural features of *Neospora caninum* from dogs and *Toxoplasma gondii*. Am. J. Vet. Res., 54, 1, 103-106.

LINDSAY, D.S., RIPPEY, N.S., COLE, R.A., PARSONS, L.C., DUBEY, J.P., TIDWELL, R.P. y BLAGBURN, B.L. 1994. Examination of the activities of 43 chemotherapeutic agents againts *Neospora caninum* tachyzoites in culture cells. Am. J. Vet. Res., 55, (7), 976-981.

MAYHEW, I.G., SMITH, K.C., DUBEY, J.P., GATWARD, L.K. y MCGLENNON, N.J. 1991. Treatment of encephalomyelitis due to *Neospora caninum* in a litter of puppies. J. Small An. Prac., 32, 609-612.

NIETFELD, J.C., DUBEY, J.P. y ANDERSON, M.L. 1992. Neospora-like protozoan infection as a cause of abortion in a dairy cattle. J. Vet. Diagn. Invest., 4, 223-236.

OTTER, A., JEFFREY, M., GRIFFITHS, I.B. y DUBEY, J.P. 1995. A survey of the incidence of *Neospora caninum* infection in aborted and stillborn bovine fetuses in England and Wales. Vet. Rec., 136, 602-606.

ODIN, M. y DUBEY, J.P. 1993. Sudden death associated with *Neospora caninum* myocarditis in a dog. JAVMA, 203, (6), 831-833.

SHEAHAN, B.J., CAFFREY, J.F., DUBEY, J.P. y MCHENRY, D.F. 1993. *Neospora caninum* encephalomyelitis in seven dogs. Irish Vet. J., 46, 3-7.

SPEER, C.A. y DUBEY, J.P. 1989. Ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites and tissue cyst of *Neospora caninum*. J. Protozool, 36, 458-463.

THORNTON, R.N., GAJADHAR, A. y EVANS, J. 1994. Neospora abortion epidemic in a dairy herd. New Zealand Vet. J., 42, 190-191.

TREES, A.J., GUY, F., TENNANT, B.J., BALFOUR, A.H. y DUBEY, J.P. 1993. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in a population of urban dogs in England. Vet. Rec., 132, 125-126.

TREES, A.J., GUY, F., LOW, J.C., ROBERTS, L., BUXTON, D. y DUBEY, J.P. 1994. Serological evidence implicating Neospora species as a cause of abortion in British cattle. Vet. Rec., 134, 405-407.

YAEGER, M.J., SHAWD-WESSELS, S. y LESLIE-STEEN, P. 1994. Neospora abortion storm in a midwestern dairy. J. Vet. Diagn. Invest., 6, 506-508.

(Aceptado para publicación en 21 de mayo de 1996)