

## Detección de *Neospora caninum* en fetos bovinos abortados espontáneamente en el nordeste argentino

LERTORA, W.J.<sup>1</sup>; MOHR BETIANA, N.<sup>1</sup>; MOSQUEDA, M.G.<sup>1</sup>; SÁNCHEZ NEGRETTE, M.<sup>1</sup>

### Resumen

El objetivo del presente trabajo fue detectar *Neospora caninum* en neonatos y fetos bovinos de abortos espontáneos del nordeste argentino. Sobre un total de 26 fetos bovinos abortados espontáneamente (23 de cría y 3 de tambo) se detectaron lesiones histopatológicas compatibles con neosporosis en 4 de ellos. La presencia de *Neospora caninum* fue confirmada mediante inmunohistoquímica en el encéfalo de 3/4 fetos (2 de cría y 1 de tambo) con lesiones microscópicas compatibles con neosporosis. Las lesiones histopatológicas más relevantes fueron la asociación de encefalitis, miocarditis y hepatitis no purulenta multifocales. De 10 neonatos bovinos procesados (8 de cría y 2 de tambo), no se detectaron animales con lesiones compatibles con neosporosis. Este trabajo confirma la presencia de *Neospora caninum* en fetos abortados espontáneamente en bovinos de rodeos de cría y de tambo del nordeste argentino.

Palabras clave: (*Neospora caninum*), (aborto bovino), (histopatología), (inmunohistoquímica).

<sup>1</sup>Cátedra de Patología General y Sistemática, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE. Sargento Cabral 2139 (3400) Corrientes, Argentina. Tel/Fax: 03783-425753. E-mail: patgral@vet.unne.edu.ar. Trabajo presentado en la Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2009, 22 al 24 de Junio de 2009, Resistencia, Argentina  
Recibido: 21-11-2009 - Aceptado: 05-01-2011

## Summary

The aim of this work was to detect the presence of *Neospora caninum* in bovine neonates and bovine spontaneous abortions from Argentine northeast. Histopathological lesions compatible with neosporosis were found in 4 of 26 bovine spontaneous abortions (23 beef herds and 3 dairy herds). The *Neospora caninum* presence was confirmed with immunohistochemical analysis in encephalic tissue in 3 of 4 fetuses (2 beef herds and 1 dairy herd) that displayed microscopical lesions of neosporosis. Multifocal non-purulent encephalitis, myocarditis and hepatitis were the most relevant lesions. There were no lesions of neosporosis in 10 bovine neonates (8 beef herds and 2 dairy herds). This work confirms the presence of *Neospora caninum* in spontaneous bovine abortions of beef herds and dairy herds of the Argentine northeast.

Key words: (*Neospora caninum*), (bovine abortion), (histopathology), (immunohistochemical).

## Introducción

La neosporosis bovina es una enfermedad parasitaria producida por un protozoo endocelular, *Neospora caninum* (*Apicomplexa: Coccidia*), que origina abortos y nacimiento de terneros congénitamente infectados con ataxia, parálisis o asintomáticos<sup>19</sup>. En Argentina, la neosporosis tiene una amplia distribución, con seroprevalencias que varían del 4,7 al 88,8%; siendo los rodeos lecheros y con antecedentes de abortos los de mayor prevalencia<sup>13, 15</sup>. La enfermedad ha sido ampliamente demostrada en ganado bovino de la pampa húmeda<sup>3, 10, 14</sup>. En el nordeste argentino la información es menor; en la provincia de Corrientes se informan evidencias serológicas de infección por *N. caninum* del 4,9% en toros<sup>11</sup> y de 16,8% en terneros<sup>12</sup>; no existiendo información sobre la detección directa de *N. caninum* en tejidos de fetos de abortos naturales. Los métodos rutinarios para el diagnóstico de neosporosis en fetos y neonatos incluyen la necropsia, el examen histopatológico y la identificación de estructuras parasitarias por métodos inmunohistoquímicos. Los fetos que evidencian encefalitis, miocarditis y hepatitis no purulenta multifocal son presuntivos

de neosporosis; el diagnóstico definitivo consiste en asociar estas lesiones con la inmunomarcación del parásito<sup>1, 6</sup>. El objetivo del presente trabajo fue detectar *N. caninum*, mediante análisis histopatológico e inmunohistoquímico, en fetos y neonatos obtenidos de casos naturales de rodeos bovinos del nordeste argentino.

## Materiales y métodos

Para el trabajo se emplearon fetos abortados espontáneamente y neonatos remitidos para necropsia al laboratorio de la cátedra de Patología General y Sistemática de la Facultad de Ciencias Veterinarias -UNNE- entre abril del 2003 y septiembre de 2008. También se emplearon muestras de órganos fetales recolectados por veterinarios en el campo.

## Análisis anatomopatológico

Cuando se remitieron fetos y neonatos se realizó la necropsia completa, determinándose el sexo y la edad gestacional aproximada mediante anamnesis y/o fecha de inseminación. Se obtuvieron muestras de bazo, timo, hígado, pulmones, corazón, riñones, encéfalo (cerebro:

región frontal, parietal y occipital; cerebelo; tálamo; tuberculos cuadrigéminos anteriores; tuberculos cuadrigéminos posteriores; pedúnculos cerebelares y obex) y músculo esquelético. Las muestras obtenidas fueron fijadas en formalina bufferada al 10% durante 48 horas y procesadas para el examen histopatológico mediante la técnica clásica para bloques parafinados, cortadas a 5 µm y coloreadas con hematoxilina-eosina. No se obtuvieron muestras para cultivos bacteriológicos ni virológicos.

## Estudio inmunohistoquímico

La detección antigénica de *N. caninum* se realizó solamente a los animales que presentaron lesiones microscópicas compatibles con neosporosis; es decir, aquellos que evidenciaron asociación de encefalitis, miocarditis y hepatitis no purulenta multifocales<sup>1, 3, 5</sup>. Para el examen inmunohistoquímico se siguieron las recomendaciones técnicas de Haines y Chelack, 1991<sup>8</sup>. Los bloques parafinados fueron cortados a 5 µm y montados en portaobjetos tratados con poly-l-lisina. Las secciones fueron desparafinadas con dos pasajes por xilol e hidratadas en concentraciones decrecientes de alcohol (alcohol 100°, peróxido de hidrógeno al 3% en metanol, alcohol 96°, alcohol 80° y alcohol 70°). La peroxidasa endógena se inactivó durante la hidratación con una solución de peróxido de hidrógeno al 3% en metanol durante 10 minutos. La recuperación antigénica se realizó con proteinasa K al 0,2% en cámara húmeda durante 20 minutos a 37°C en estufa de cultivo. Como anticuerpo primario se utilizó un anticuerpo policlonal anti-*N. caninum* elaborado en conejos, gentileza del Dr. Carlos Campero, Patología Veterinaria, INTA, Balcarce. El anticuerpo se empleó a la dilución 1:3000 y se incubó con el tejido durante toda la noche (12 horas) en heladera entre 4° y 6° C. Para revelar la reacción antígeno anticuerpo se utilizó el sistema inmunoenzimática estreptavidina-biotina-peroxidasa (LSAB+System-HRP; Dako, USA) y como cromógeno la diaminobenzidina al 0.05% diluido en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 0,015% en PBS 0,01 M, pH

7,2; durante 10 minutos. Como tejidos controles positivos se emplearon muestras de cerebros de fetos bovinos infectados, diagnosticados por el Dr. Carlos Campero. Como controles negativos se sustituyó el anticuerpo primario por suero normal de conejo.

## Resultados

### Hallazgos anatomopatológicos

Se procesaron 36 especímenes bovinos, de los cuales 16 correspondieron a fetos enteros, 10 a órganos fetales recolectados por veterinarios y 10 fueron neonatos. La Tabla 1 resume los hallazgos de necropsia e histopatológicos de los 36 casos.

Tres fetos procedieron de 2 establecimientos lecheros de la provincia de Corrientes y 23 fetos provinieron de 19 establecimientos de cría comercial del norte de Santa Fe, Chaco y Corrientes. El sexo se determinó en 16/26 fetos, de los cuales 10 fueron hembras y 6 machos. La edad gestacional aproximada se determinó en 17/26 fetos, 1 feto se encontraba en el primer trimestre de la gestación, 10 en el segundo trimestre y 6 en el tercer trimestre de gestación. Los principales hallazgos macroscópicos fueron placentitis necrótica, pleuritis y pericarditis fibrinosa, gemelos onfalotoracópagos y momificación. En la mayoría de los fetos no se detectaron lesiones macroscópicas, incluyendo los casos con inmunodetección positiva a *N. caninum*.

El análisis histopatológico detectó 4/26 fetos con lesiones histopatológicas compatibles con neosporosis, procedentes de 2 rebaños lecheros localizados en los municipios de Riachuelo y Empedrado (provincia de Corrientes) y de 2 rebaños de cría localizados en los municipios de San Luís del Palmar (provincia de Corrientes) y General Obligado (provincia de Santa Fé). Tres de 4 fetos se encontraron en el segundo trimestre de gestación con una edad gestacional promedio de 4,7 meses. Las lesiones del sistema nervioso central se caracterizaron por múltiples focos de microgliosis y de necrosis delimitados

Tabla 1. Hallazgos anatomopatológicos en fetos, órganos fetales y neonatos bovinos.

Nº	Espécimen	Sexo	Edad*	Producción	Necropsia	Histopatología
1	Feto	hembra	3	leche	PN	PN
2	Feto	macho	5	leche	IHb	ENM, MNM, HND, NINM, NeNM
3	Feto	hembra	6	cría	SLA	SLA
4	Feto	hembra	6	cría	IHb	SLA
5	Feto	macho	4	cría	SLA	MioNM
6	Feto	hembra	8	cría	SLA	SLA
7	Feto	macho	6	cría	SLA	NP, encefalitis purulenta
8	Feto	macho	5	cría	IHb	SLA
9	Feto	hembra	4	cría	SLA	SLA
10	Feto	macho	8	cría	Hepatomegalia, meconio en vías respiratorias	NP, timitis mixta, hepatitis mixta
11	Feto	macho	8	cría	SLA	SLA
12	Feto	hembra	4	leche	SLA	MNM, HNM, MioNM
13	Feto	hembra	5	cría	SLA	ENM, MNM, HND, MioNM
14	Feto	hembra	4	cría	Momificado	Meningitis no purulenta, MioNM
15	Feto	hembra	7	cría	Pericarditis fibrinosa, pleuritis fibrinosa	Meningitis, epicarditis, pleuritis y hepatitis no purulenta difusa
16	Feto	hembra	8	cría	Onfalotoracópago	ND
17	Órganos fetales	ND	ND	cría	ND	Degeneración grasa hepática
18	Órganos fetales	ND	ND	cría	ND	Degeneración grasa hepática
19	Órganos fetales	ND	ND	cría	ND	Esplenitis purulenta multifocal
20	Órganos fetales	ND	ND	cría	ND	NP
21	Órganos fetales	ND	ND	cría	ND	PN
22	Órganos fetales	ND	ND	cría	ND	SLA
23	Órganos fetales	ND	ND	cría	SLA	ENM, MNM, HNM
24	Órganos fetales	ND	ND	cría	ND	SLA
25	Órganos fetales	ND	ND	cría	ND	Encefalitis purulenta multifocal
26	Órganos fetales	ND	9	cría	ND	SLA
27	Neonato	macho		leche	SLA	SLA
28	Neonato	hembra		cría	SLA	SLA
29	Neonato	macho		cría	SLA	SLA
30	Neonato	hembra		cría	Palatosquisis	SLA
31	Neonato	macho		cría	Queilosquisis y palatosquisis	SLA
32	Neonato	hembra		cría	Hidrocefalia	Atrofia cerebral
33	Neonato	macho		cría	Congestión, edema y hemorragia en cabeza y cuello.	Congestión difusa encefálica, congestión pulmonar
34	Neonato	macho		cría	Congestión, edema y hemorragias en cabeza y cuello.	Congestión difusa encefálica
35	Neonato	macho		leche	Uraquitis y peritonitis fibrinopurulenta	Inflamación purulenta en diversos órganos
36	Neonato	hembra		cría	Cogestión y edema pulmonar	Neumonitis aguda

\* Edad gestacional en meses. PN: Placentitis necrótica. IHb: Imbibición hemoglobínica. ENM: Encefalitis no purulenta multifocal. MNM: Miocarditis no purulenta multifocal. HND: Hepatitis no purulenta difusa. HNM: Hepatitis no purulenta multifocal. NINM: Neumonía intersticial no purulenta multifocal. NeNM: Nefritis intersticial no purulenta multifocal. SLA: Sin lesiones aparentes. ND: No disponible. NP: Neumonía purulenta. MioNM: Miositis no purulenta multifocal. +: Positivo. -: negativo. Las filas sombreadas corresponden a los casos con lesiones histopatológicas compatibles con neosporosis.

por células de la microglia (Figura 1), localizados en la sustancia gris de todas las regiones muestreadas del sistema nervioso central. En dos fetos los focos de necrosis y microgliosis fueron más numerosos en la base del encéfalo (Tabla 2). En el miocardio se observaron múltiples focos de necrosis con infiltrado inflamatorio mononuclear (Figura 2). Las lesiones en hígado se caracterizaron por infiltración difusa de células mononucleares en sinusoides y espacios periportales, con ocasionales focos de necrosis (Figura 3).

Los neonatos procedieron de 2 establecimientos lecheros de la provincia de Corrientes y norte de Santa Fe y de 8 establecimientos de cría comercial de la provincia del Chaco y Corrientes. Los principales hallazgos anatomopatológicos fueron malformaciones (palatosquisis, queilosquisis e hidrocefalia), lesiones compatibles con parto distócico y lesiones inflamatorias inespecíficas (Tabla 1). Ninguno de los neonatos bovinos presentó lesiones microscópicas compatibles con neosporosis.

## Hallazgos inmunohistoquímicos

Se inmunomarcaron antígenos de *N. caninum* en el sistema nervioso central de 3/4 fetos con lesiones histopatológicas compatibles con neosporosis (Tabla 2). En los mismos, se necesitaron cortes seriados de las distintas regiones del sistema nervioso central para la inmunolocalización del parásito. En escasos focos de necrosis y microgliosis, se observaron agrupaciones de taquizoitos de *N. caninum* (Figura 4). No se identificaron estructuras parasitarias en miocardio, hígado, pulmones, riñones y músculo esquelético en ninguno de los 4 fetos. Tampoco se observaron formas quísticas en ninguna de las secciones tisulares analizadas.

## Discusión y conclusiones

No se investigaron otros agentes infecciosos y no infecciosos abortigénicos; por lo tanto, no es concluyente que la causa de abortos sea *N. caninum*. Sin embargo, el presente trabajo

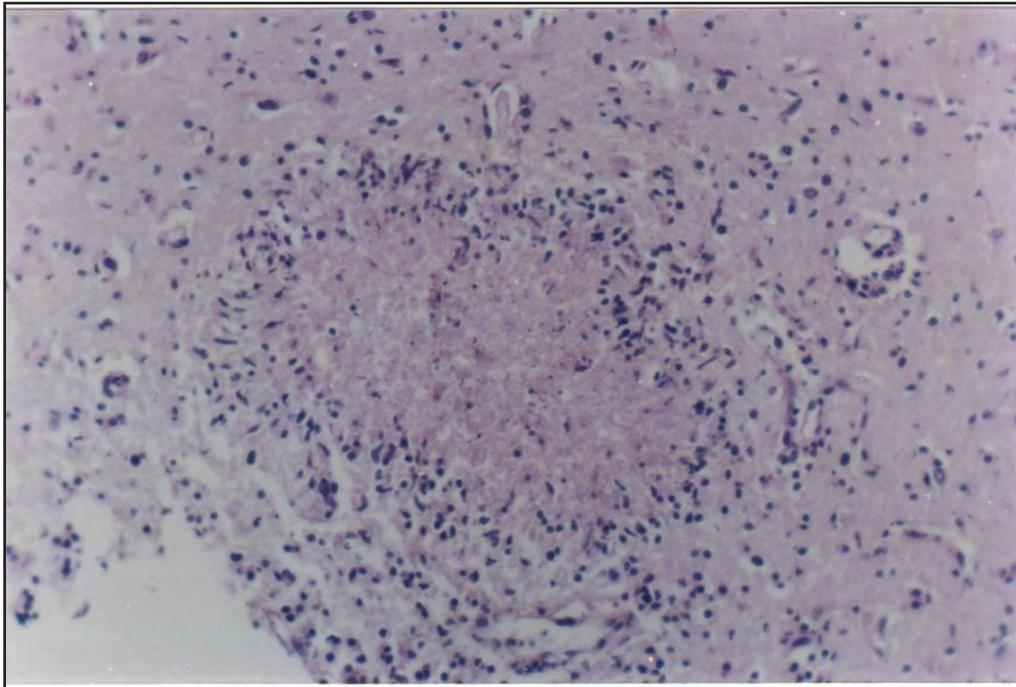
estableció la presencia, mediante un método inmunohistoquímico, de *N. caninum* en el sistema nervioso central de 3/4 fetos bovinos con lesiones histopatológicas compatibles con neosporosis en la región del noreste argentino. En Argentina, las principales causas de abortos infecciosos son bacterias como *Brucella abortus*, *Campylobacter fetus* y *Escherichia coli*  $\beta$ -hemolítico<sup>3,7</sup>. *N. caninum* es responsable de originar 7,3 a 9,9% de abortos<sup>3,14</sup>. Los agentes virales (virus diarrea viral bovina y herpesvirus bovino-1) y hongos (*Aspergillus*) son menos diagnosticados<sup>3,7</sup>.

El principal hallazgo histopatológico fue la asociación de encefalitis, hepatitis y miocarditis no purulenta multifocal. Trabajos previos indican que estas lesiones son sugestivas de neosporosis fetal, aunque no son específicas<sup>1,2,5,6,17,18</sup>. En el sistema nervioso central las lesiones fueron dispersas, sin una localización particular, aunque en dos fetos fueron más numerosas en regiones basales del encéfalo. Otros trabajos informan encefalitis con lesiones dispersas sin una localización preferencial<sup>5,18</sup>, mientras que otros observaron lesiones dispersas con predominio de frecuencia en la corteza cerebral<sup>9,17</sup>. Estas diferencias en la frecuencia de distribución puede deberse a múltiples factores. La edad del feto, el tipo de producción (lechero o carnívero), el estado serológico de la madre y el patrón de abortos (epidémico o endémico) influyen el número y distribución de las lesiones. Las lesiones son más severas, ampliamente distribuidas y numerosas en fetos de ganado lechero que en ganado de carne, durante el primero y segundo tercio de gestación y en fetos de abortos epidémicos<sup>4,5,18</sup>. Debido a la dispersión de las lesiones en el sistema nervioso central, creemos conveniente el muestreo de diferentes regiones del encéfalo que abarque corteza cerebral, cerebelo y estructuras basales, particularmente tálamo, tubérculo cuadrigéminos anterior y posterior. Además, el encéfalo es indispensable para la detección de *N. caninum*, ya que la inmunolocalización del parásito en nuestro estudio se restringió al sistema nervioso central. Trabajos previos determinaron que la mayor carga parasitaria en el feto se encuentra en el encéfalo

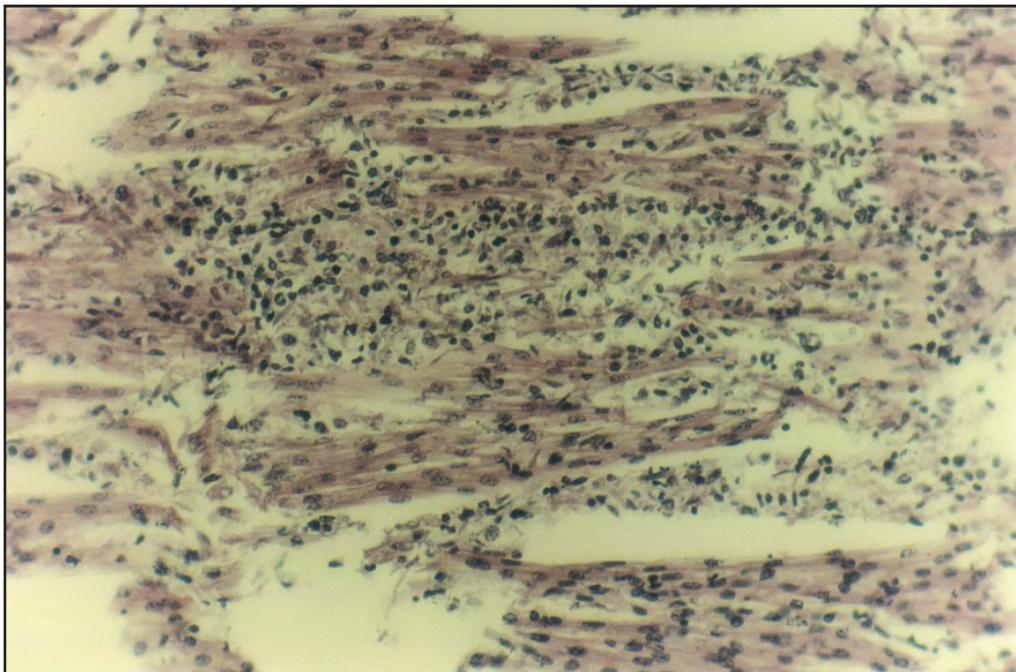
Tabla 2. Detección inmunohistoquímica de *N. caninum* y asociación con lesiones histopatológicas en cuatro fetos con lesiones compatibles con neosporosis.

	Feto nº 2		Feto nº 12		Feto nº 13		Feto nº 23	
	Histopatología	IHQ	Histopatología	IHQ	Histopatología	IHQ	Histopatología	IHQ
<b>Cerebro frontal</b>	1 Foco de necrosis y/o gliosis	+	ND	ND	2 Focos de necrosis y/o gliosis	-	SLA	-
<b>Cerebro parietal</b>	1 Foco de necrosis y/o gliosis	-	ND	ND	1 Foco de necrosis y/o gliosis	-	1 Foco de necrosis y/o gliosis	-
<b>Cerebro occipital</b>	ND	ND	ND	ND	1 Foco de necrosis y/o gliosis	-	4 Focos de necrosis y/o gliosis	+
<b>Cerebelo</b>	1 Foco de necrosis y/o gliosis	-	ND	ND	3 Focos de necrosis y/o gliosis	-	1 Foco de necrosis y/o gliosis	-
<b>Tálamo</b>	8 Focos de necrosis y/o gliosis	+	ND	ND	15 Focos de necrosis y/o gliosis	-	ND	ND
<b>TCA</b>	7 Focos de necrosis y/o gliosis	+	ND	ND	11 Focos de necrosis y/o gliosis	+	1 Foco de necrosis y/o gliosis	-
<b>TCP</b>	5 Focos de necrosis y/o gliosis	-	ND	ND	8 Focos de necrosis y/o gliosis	-	ND	ND
<b>Puente</b>	4 Focos de necrosis y/o gliosis	+	ND	ND	ND	ND	2 Focos de necrosis y/o gliosis	+
<b>Obex</b>	6 Focos de necrosis y/o gliosis	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<b>Miocardio</b>	MNM	-	MNM	-	MNM	-	MNM	-
<b>Hígado</b>	HNM	-	HNM	-	HND	-	HNM	-
<b>Pulmón</b>	NINM	-	ND	ND	SLA	-	SLA	-
<b>Músculo</b>	ND	ND	MioNM	-	MioNM	-	SLA	-
<b>Riñón</b>	NeNM	-	SLA	-	SLA	-	SLA	-
<b>Bazo</b>	SLA	-	SLA	-	SLA	-	SLA	-
<b>Timo</b>	SLA	-	Timitis mixta intersticial	-	SLA	-	ND	ND

IHQ: Detección inmunohistoquímica de *N. caninum*. ND: No disponible. MNM: Miocarditis no purulenta multifocal. HND: Hepatitis no purulenta difusa. HNM: Hepatitis no purulenta multifocal. NINM: Neumonía intersticial no purulenta multifocal. NeNM: Nefritis intersticial no purulenta multifocal. SLA: Sin lesiones aparentes. TCA: Tubérculos cuadrigéminos anterior. TCP: Tubérculos cuadrigéminos posterior. MioNM: Miositis no purulenta multifocal. +: Positivo. -: negativo.



**Figura 1.** Encefalitis no purulenta. Tálamo con amplio foco de necrosis delimitado por microgliosis (H y E, 10x).



**Figura 2.** Miocarditis no purulenta. Necrosis e infiltrado de células mononucleares en miocardio (H y E, 20x).

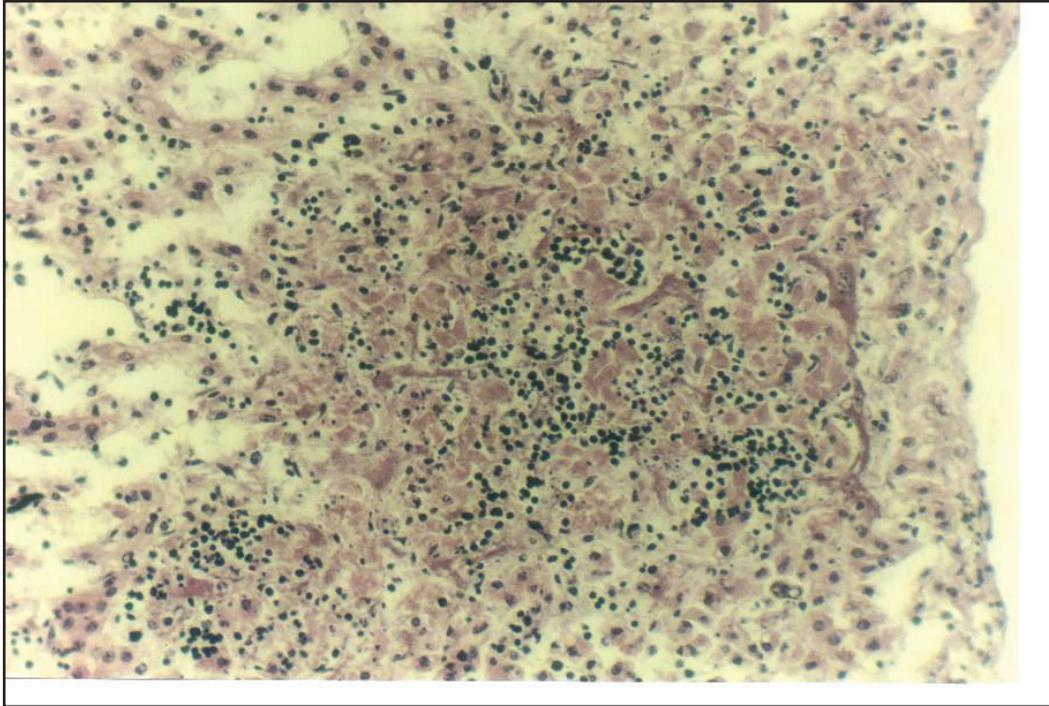


Figura 3. Hepatitis difusa no purulenta. Infiltrado difuso de células mononucleares en sinusoides y foco de necrosis en hepatocitos (H y E, 20x).

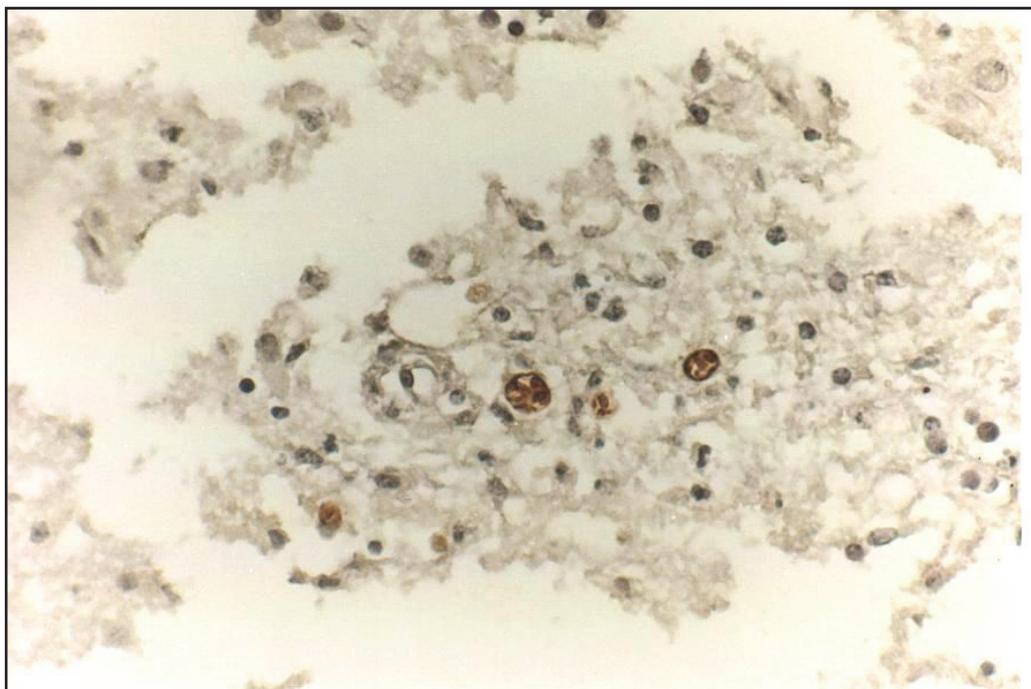


Figura 4. Corteza cerebral. Inmunomarcación de *Neospora caninum* en área de gliosis y en la periferia de un pequeño vaso sanguíneo. Anticuerpo policlonal anti-*Neospora caninum*, sistema inmunoenzimático LSAB+System-HRP, cromógeno diaminobenzidina (40x).

y, por lo tanto, la identificación de *N. caninum* es más exitosa en éste órgano<sup>4, 5, 18</sup>. La edad gestacional de los fetos positivos a *N. caninum* (4º y 5º mes) concuerda con otros reportes; que informan una edad gestacional promedio de 5.9 meses con un rango de 4 a 9 meses para los abortos ocasionados por *N. caninum*<sup>2, 3, 10</sup>.

No se reportan pérdidas neonatales por *N. caninum*<sup>7, 16</sup>, al igual que en este trabajo. Las principales pérdidas neonatales registradas en Argentina son infecciones bacterianas septicémicas, siendo los agentes más frecuentemente aislados *Escherichia coli*, *Brucella abortus*, *Arcanobacterium pyogenes* y *Salmonella spp.* Las anomalías congénitas son la causa no infecciosa más común de mortalidad neonatal<sup>7, 16</sup>.

En conclusión, este estudio confirma la presencia de *N. caninum* en fetos de abortos espontáneos en bovinos de carne y leche del nordeste argentino.

## Agradecimiento

Al Dr. Carlos M. Campero del Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado del INTA Balcarce, Buenos Aires, quien gentilmente donó el anticuerpo primario y los controles positivos.

## Bibliografía

1. Anderson, M.L.; Andrianarivo, A.G.; Conrad, P.A. Neosporosis in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 2000; 60/61:417-431.
2. Campero, C.M.; Anderson, M.L.; Conosciuto, G.; Odriozola, H.; Bretschneider, G.; Poso, M.A. Neospora caninum associated abortion in a dairy herd in Argentina. *Vet. Rec.* 1998 ; 143:228-229.
3. Campero, C.M. ; Moore, D.P.; Odeón, A.L.; Cipolla, A.L. ; Odriozola E. Aetiology of bovine abortion in Argentina. *Vet. Res. Comm.* 2003; 27:359-369.
4. Collantes-Fernández, E.; Arnáiz-Seco, I.; Moreno Burgos, B.; et al. Comparison of Neospora caninum distribution, parasite loads and lesions between epidemic and endemic bovine abortion cases. *Vet. Parasitol.* 2006; 142:187-191.
5. De Meerschman, F.; Speybroeck, N.; Berkvens, D.; et al. Fetal infection with Neospora caninum in dairy and beef cattle in Belgium. *Theriogenology* 2002; 58:933-945.
6. Dubey, J.P.; Schares, G. Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet. Parasitol.* 2006; 140:1-34.
7. Fernandez, M.E.; Campero, C.M.; Morrell, E.; et al. Pérdidas reproductivas en bovinos causadas por abortos, muertes prematuras, natimortos y neonatos: casuística del período 2006-2007. *Rev. Med. Vet.* 2007; 88:246-254.
8. Haines, D.M.; Chelack B.J. 1991. Technical considerations for developing enzyme immunohistochemical staining procedures on formalin-fixed paraffin embedded tissues for diagnostic pathology. *J. Vet. Diagn. Invest.* 3:101-112.
9. Helman, R.G.; Stair, E.L.; Lehenbauer, T.W.; Rodgers, S.; Saliki, J.T. Neosporal abortion in Oklahoma cattle with emphasis on the distribution of brain lesions in aborted fetuses. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1998; 10:292-295.
10. Moore, D.P.; Campero, C.M.; Odeón, A.C.; Chayer, R.; Bianco, M.A. Reproductive losses due to Neospora caninum in a beef herd in Argentina. *J. Vet. Med. B* 2003; 50:304-308.
11. Moore, D.P.; Draghi, M.G.; Campero, C.M.; et al. Serological evidence of Neospora caninum infections in beef bulls in six counties of the Corrientes province, Argentina. *Vet. Parasitol.* 2003; 114:247-252.
12. Moore, D.P.; Odeón, A.C.; Venturini, M.C.; et al. Seroprevalencia a Neospora caninum en terneros de cría del sur de Corrientes. [Memorias pág. 441]: *III Congreso Argentino de Parasitología*. 1 a 4 de noviembre, 2000. Mar del Plata, Argentina.
13. Moore, D.P. Neosporosis in South America. *Vet. Parasitol.* 2005; 127:87-97.
14. Moore, D.P.; Regidor-Cerrillo, J.; Morrell, E.; et al. The role of Neospora caninum and Toxoplasma gondii in spontaneous bovine abortion in Argentina. *Vet. Parasitol.* 2008; 156:163-167.
15. Moore, D.P.; Pérez, A.; Agliano, S.; et al. Risk factors associated with Neospora caninum infections in cattle in Argentina. *Vet. Parasitol.* 2009; 161:122-125.

16. Morrell, E.L.; Moore, D.P.; Odeon, A.C.; et al. Retrospective study of bovine neonatal mortality: cases reported from INTA Balcarce, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* 2008; 40:151-157.
17. Morales, E.; Trigo, F.J.; Ibarra, F.; Puente, E.; Santacruz, M. Neosporosis in mexican dairy herds: lesions and immunohistochemical detection of *Neospora caninum* in fetuses. *J. Comp. Path.* 2001; 125:58-63.
18. Wouda, W.; Moen, A.R.; Visser, I.J.R.; van Knapen, F. Bovine fetal neosporosis: a comparison of epizootic and sporadic abortion cases and different age classes with regard to lesion severity and immunohistochemical identification of organisms in brain, heart and liver. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1997; 9:180-185.
19. Wouda, W. Diagnosis and epidemiology of bovine neosporosis: a review. *Vet. Quart.* 2000; 22:71-74.