

SEROPOSITIVIDAD A *Neospora caninum* EN PERROS DE ÁREAS RURALES Y URBANAS DEL ESTADO YARACUY, VENEZUELA

Seropositivity to Neospora caninum in Dogs of Rural and Urban Areas of Yaracuy State, Venezuela

Jorge J. Escalona^{*,1}, Ana C. Corro^{*}, Claribel E. Suárez^{**}, Thayira A. Castillo^{*}
y Yilber A. Pineda^{*}

Decanato de Ciencias Veterinarias. ^{*}Departamento de Medicina y Cirugía. ^{**}Departamento de Salud Pública. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado", Barquisimeto, estado Lara, Venezuela

Correo-E:jorgeescalona@ucla.edu.ve

Recibido: 15/01/13 - Aprobado: 11/07/13

RESUMEN

Se realizó un estudio de tipo exploratorio para determinar la seropositividad a *Neospora caninum* y su asociación con la procedencia y el sexo en perros de áreas rurales y urbanas del estado Yaracuy, Venezuela. Se evaluaron en total 232 perros, de los cuales 116 pertenecían a fincas de producción bovina del municipio Bolívar y 116 fueron muestreados al acudir a consultas en tres clínicas veterinarias privadas de la ciudad de San Felipe. La presencia de anticuerpos contra *N. caninum* fue determinada utilizando la técnica serológica de inmunofluorescencia indirecta, mientras que la asociación de la seropositividad al parásito con la procedencia y el sexo de los animales se determinó mediante la razón de productos cruzados (OR). Se obtuvo una positividad general de 12,93%, siendo de 20,69% para los caninos provenientes del área rural y 5,17% para los provenientes del área urbana. La seropositividad se encontró asociada significativamente ($P < 0,05$) al origen rural de los animales (OR=4,78), mientras que no se encontró asociación significativa ($P > 0,05$) con el sexo. Se encontraron evidencias de la importancia de los perros en la epidemiología de la neosporosis en la región estudiada.

(Palabras clave: *Neospora caninum*, perro, zonas rurales, zonas urbanas, epidemiología, Yaracuy)

ABSTRACT

An exploratory study was conducted to determine the *Neospora caninum* seropositivity and its association with the origin and sex in dogs from rural and urban areas of Yaracuy state, Venezuela. A total of 232 dogs were evaluated, 116 of which belonged to cattle production farms of Bolivar municipality and 116 were sampled to attend consultations in three private veterinary clinics in the city of San Felipe. The presence of antibodies against *N. caninum* was determined using indirect immunofluorescence serological technique, while the association of parasite seropositivity with origin and sex of the animals was determined by the odds ratio (OR). It was obtained a 12.93% overall positivity, being 20.69% for canines from rural areas and 5.17% for those from urban areas. Seropositivity was found significantly associated ($P < 0.05$) to rural animal origin (OR=4.78), whereas no significant association was found ($P > 0.05$) with sex. Evidences of the importance of dogs in the epidemiology of neosporosis in the study region were found.

(Key words: *Neospora caninum*, dogs, rural areas, urban areas, epidemiology, Yaracuy)

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (To whom correspondence should be addressed)

INTRODUCCIÓN

La neosporosis es una enfermedad parasitaria producida por *Neospora caninum*, un protozoo intracelular obligado, clasificado en el *phylum* *Apicomplexa* y familia *Sarcocystidae* (Ellis et al., 1994). Diversas especies de animales domésticos y silvestres han sido identificadas como hospederos intermediarios de *N. caninum*, mientras que los perros (*Canis familiaris*), coyotes (*Canis latrans*) y dingos australianos (*Canis lupus dingo*) son los hospederos definitivos identificados hasta el momento (McAllister et al., 1998; Gondim et al., 2004; King et al., 2010).

En los caninos, la neosporosis es una enfermedad neuromuscular usualmente caracterizada por parálisis ascendente en perros jóvenes, aunque los casos de enfermedad clínica son escasos, es posible que cause una amplia variedad de signos clínicos en animales de cualquier edad (Dubey, 2003). Desde el descubrimiento de *N. caninum* a fines de la década de los años ochenta, su importancia ha ido en aumento debido a los problemas de abortos que ocasiona en los bovinos (Dubey, 2003). En Venezuela se han hecho algunos estudios serológicos en rebaños ubicados en importantes zonas ganaderas, en los cuales se ha puesto en evidencia la exposición de los bovinos al parásito (Lista-Alves et al., 2006; Escalona et al., 2010; Obando et al., 2010; Suárez y Maldonado, 2012).

En la transmisión de la enfermedad han sido identificados los perros como hospederos definitivos de *N. caninum* (McAllister et al., 1998). El parásito puede ser transmitido naturalmente a los bovinos de forma horizontal, mediante la ingestión de alimentos o agua contaminados con los ooquistes del protozoo expulsados en las heces de perros agudamente infectados (McAllister et al., 2000). Este aspecto tiene gran importancia desde el punto de vista epidemiológico en nuestro medio, ya que en la mayoría de las explotaciones ganaderas en Venezuela se consigue un número importante de perros, por lo tanto, es necesario hacer evaluaciones serológicas de los hospederos definitivos que lleven a confirmar la presencia de infección por el parásito, y en consecuencia determinar el rol de los perros en la transmisión de la enfermedad a los bovinos. Igualmente, al hacer evaluaciones serológicas en perros de zonas urbanas se comprenderá mejor la

epidemiología del parásito.

El objetivo del presente estudio fue determinar la seropositividad a *N. caninum* en perros provenientes de áreas rurales y urbanas del estado Yaracuy en Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en sectores rurales del municipio Bolívar y en el área metropolitana de la ciudad de San Felipe, Estado Yaracuy, Venezuela.

El municipio Bolívar está ubicado entre los 10° 16' 02" y 10° 39' 05" de latitud norte y los 68° 42' 39" y 69° 04' 39" de longitud oeste (FUDECO, 2004), en la zona de vida bosque seco tropical, presentando una temperatura media de 26 °C y una humedad relativa de 70 a 80%, con una precipitación promedio de 1.100 mm/año, distribuidos en un rango de cuatro a nueve meses (MPPARNR, Dirección Estatal Ambiental Yaracuy, datos no publicados).

El área metropolitana de la ciudad de San Felipe está integrada por los sectores urbanos de los municipios autónomos San Felipe, Independencia y Cocorote, ubicada entre los 10° 12' 29" y 10° 36' 48" de latitud norte y los 68° 36' 03" y 68° 49' 33" de longitud oeste (FUDECO, 2004); presentando temperaturas medias anuales de 24,8°C y precipitaciones medias anuales de 1.512 mm (MPPARNR, Dirección Estatal Ambiental Yaracuy, datos no publicados).

Población y muestra

Se realizó un estudio de tipo exploratorio. Debido a que no existen censos de la población canina de los municipios estudiados, se hizo un muestreo no probabilístico (Argimon y Jiménez, 2004).

Los animales seleccionados en el área rural provenían de 47 unidades de producción bovinas, las cuales se escogieron de forma aleatoria y sistemática, estableciéndose un máximo de tres perros a muestrear en cada finca seleccionada, muestreándose un total de 116 animales (78 machos y 38 hembras).

Para la escogencia de los animales del área urbana se utilizó la técnica del muestreo consecutivo (Argimon y Jiménez, 2004), para lo cual se seleccionaron los pacientes a medida que acudieron a la consulta en tres centros veterinarios privados de la ciudad de San Felipe durante el lapso de dos meses, estableciéndose como única condición que

procedieran del área urbana de cualquiera de los tres municipios que conforman la ciudad. Se muestrearon en total 116 caninos (74 machos y 42 hembras), de los cuales 43 provinieron del municipio San Felipe, 53 del municipio Independencia y 20 del municipio Cocorote.

Muestreo y recolección de datos

Las muestras de sangre fueron tomadas de la vena cefálica de cada animal, utilizando jeringas estériles desechables con agujas de medida 21G x 1 1/2", y fueron trasvasadas a tubos de ensayo sin anticoagulante, donde se mantuvieron en reposo durante 6 horas, luego de las cuales se centrifugaron para obtener el suero sanguíneo. Posteriormente, se procedió a separar el suero sanguíneo en viales de plástico de 1,5 ml de capacidad, para ser sometidas a congelación a -20°C y conservadas de esta manera hasta el momento de su procesamiento.

A los propietarios de cada animal se les aplicó un cuestionario que permitió recolectar la información necesaria para el estudio.

Procesamiento de las muestras

El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio de Parasitología del Decanato de Ciencias Veterinarias de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Se detectó la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en suero sanguíneo mediante la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), para lo cual fue utilizado un estuche distribuido por la casa comercial *Veterinary Medical Research & Development* (VMRD, Inc.). Las muestras fueron procesadas a una dilución 1:80 siguiendo las indicaciones del laboratorio fabricante (VMRD, 2006).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calculó la proporción de positividad a *N. caninum* en los animales evaluados y según las distintas variables mediante estadística descriptiva. La asociación entre la positividad a *N. caninum* y las variables estudiadas fue determinada mediante la razón de productos cruzados (*odds ratio* – OR) con su respectivo intervalo de confianza (IC95%) y una prueba de chi cuadrado (χ^2) a un nivel de confianza (P) de 95%, dichos parámetros fueron obtenidos utilizando el software estadístico de dominio público Epi-Info 3.3.2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se encontró una proporción general de caninos positivos a *N. caninum* de 12,93%, estos resultados son semejantes a los obtenidos por Nogueira *et al.* (2013) y Fernandes *et al.* (2004) en Brasil y Vega *et al.* (2010) en Perú, quienes señalan 11,4%, 14% y 14,8% de prevalencia general en sus estudios, respectivamente. Asimismo, son inferiores a los valores reportados por Basso *et al.* (2001) en Argentina (38%), Patitucci *et al.* (2001) en Chile (18%), Ghalmi *et al.* (2009) en Argelia (22%), Regidor-Cerrillo *et al.* (2010) en España (44%), así como Gavrea *et al.* (2012) y Mitrea *et al.* (2013) quienes obtuvieron 33% y 20% respectivamente en Rumania.

La seropositividad encontrada en este estudio sugiere un nivel importante de infección con *N. caninum* en perros del área geográfica estudiada, por lo que se considera necesario incluir a la neosporosis como diagnóstico diferencial al momento de evaluarse pacientes caninos con alteraciones de tipo neuromuscular, pese a que ninguno de los animales incluidos en el estudio presentaba signos de enfermedad neuromuscular para el momento de practicarse la toma de la muestra.

Al evaluarse la positividad de los animales de acuerdo al área de origen, se hallaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en cuanto a la procedencia de los animales. Estas diferencias indican una alta frecuencia de exposición al parásito en los perros del medio rural, encontrándose que los mismos tienen 4,78 veces más probabilidad de estar infectados con *N. caninum* que los provenientes de las zonas urbanas (Tabla 1).

Estos resultados están en concordancia con reportes provenientes de diferentes países, donde los valores de seropositividad son mayores en perros de áreas rurales que en los de áreas urbanas, tal como lo refieren los estudios realizados por Wouda *et al.* (1999) en Holanda, Basso *et al.* (2001) en Argentina, Patitucci *et al.* (2001) en Chile, Kim *et al.* (2003) en Corea, Sánchez *et al.* (2003) en México y Mitrea *et al.* (2013) en Rumania. Por otra parte, los resultados obtenidos por Regidor-Cerrillo *et al.* (2010) en España y por Gavrea *et al.* (2012) en Rumania difieren de los del presente estudio, ya que en ambos casos la seroprevalencia encontrada en perros tanto de fincas como de áreas

Tabla 1. Seropositividad a *N. caninum* en perros de acuerdo al área de origen

Área	Nº de animales muestreados	Positividad		Asociación		
		n	%	OR	IC95%	P (95%)
Rural	116	24	20,69	4,78	1,76-13,69	0,000
Urbana	116	6	5,17			
Total	232	30	12,93			

OR = odds-ratio

urbanas superó el 30%, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre ambas, aunque en el estudio español hallaron que los perros de las fincas presentaban títulos de anticuerpos más altos que los de la ciudad.

Algunos estudios epidemiológicos han señalado que la sola presencia de perros en las explotaciones bovinas no es un factor de riesgo suficiente para la transmisión de la neosporosis a los bovinos (Romero et al., 2002; Ogawa et al., 2005; Bañales et al., 2006). Así, en un estudio sobre neosporosis bovina realizado en la misma zona geográfica donde se llevó a cabo el presente estudio, se obtuvo un 17,09% de prevalencia a la infección en vacas y novillas, con animales positivos en el 74,51% de las fincas evaluadas, no encontrándose en esa oportunidad asociación entre la positividad de los bovinos y la presencia de perros en las fincas (Escalona et al., 2010). Sin embargo, los resultados del presente trabajo muestran que los caninos provenientes del área rural tuvieron más riesgo de infección con *N. caninum* que los del área urbana, esta observación puede indicar que la infección es transmitida de una especie a la otra y que el bovino puede comportarse como un reservorio de infección para los perros (Wouda et al., 1999; Regidor-Cerrillo et al., 2010), tomando en cuenta que la totalidad de los caninos estudiados en el área rural provenían de explotaciones ganaderas.

El hecho de que la seropositividad encontrada en los perros del área rural sea significativamente superior que en los del área urbana, puede estar relacionada al mayor acceso que tienen los primeros a tejidos infectados provenientes de bovinos u otros hospederos intermediarios, ya que los perros pueden infectarse por el consumo de tejidos que contengan quistes tisulares del protozoo, tales como carcasas de bovinos, fetos abortados y membranas fetales (Dijkstra et al., 2002; Cavalcante et al., 2011). Además, es sabido que *N. caninum* puede persistir por generaciones en rebaños

bovinos por vía de la transmisión vertical (Schares et al., 1998; Frössling et al., 2005).

Por otra parte, se ha reportado la asociación entre la neosporosis bovina y la presencia de perros en las fincas (Sánchez et al., 2003; Guimarães et al., 2004; Regidor-Cerrillo et al., 2010), en tal sentido, el porcentaje de infección encontrado en los perros de la zona rural estudiada aporta evidencias sobre el papel que pueden jugar los mismos en la epidemiología de la enfermedad en esa región del país. Además, con el hallazgo de perros seropositivos a *N. caninum* provenientes de las fincas de la zona, se confirma la posibilidad de transmisión horizontal de la neosporosis a los bovinos a través del consumo de alimentos o agua contaminados con ooquistes del parásito, que pueden estar siendo expulsados en las heces de los perros infectados.

La seropositividad encontrada en este estudio fue de 13,75% en las hembras y 12,50% en los machos, sin que exista diferencia significativa entre ambos sexos (Tabla 2). Otros trabajos llevados a cabo en América Latina señalan que el sexo no representa un factor de riesgo para la adquisición de la infección, tal como lo señalan Patitucci et al. (2001) en Chile, Sánchez et al. (2003) en México, Fernandes et al. (2004) en Brasil, Vega et al. (2010) en Perú y De Sousa et al. (2012) en Brasil, estos autores coinciden en que las hembras tienen menores porcentajes de positividad que los machos para *N. caninum*, sin conseguir diferencias significativas. Por el contrario, Wouda et al. (1999) encontraron significancia para esta variable en un estudio en el cual la prevalencia fue más alta en hembras (14%) que en machos (6,8%), señalando que el hallazgo de que relativamente más hembras que machos sean seropositivos a *N. caninum*, puede sugerir la reagudización de una infección y un subsecuente aumento de anticuerpos en las hembras, tal como ocurre en las vacas durante la gestación pudiendo estar relacionado a cambios hormonales.

Tabla 2. Proporción de perros seropositivos a *N. caninum* en relación a la procedencia y el sexo

Procedencia	Machos	Hembras	Totalidad
Área rural	16/78 (20,51%)	8/38 (21,05%)	24/116 (20,69%)
Área urbana	3/74 (4,05%)	3/42 (7,14%)	6/116 (5,17%)
Total	19/152 (12,50%)	11/80 (13,75%)	30/232 (12,93%)

(OR=0,9) (IC95%=0,38-2,14) (P=0,787)

CONCLUSIONES

En el presente estudio se pone en evidencia el contacto de caninos tanto de zonas urbanas como rurales de Venezuela con el protozoo *N. caninum*, siendo significativamente mayor el riesgo de exposición en las áreas rurales, lo que a su vez muestra indicios de que los perros juegan un papel importante en la epidemiología de la neosporosis bovina en el área estudiada.

Los resultados de la investigación justifican la necesidad de considerar a la neosporosis como diagnóstico diferencial en caninos con signos clínicos de afección neuromuscular.

AGRADECIMIENTOS

A los propietarios de los animales participantes en la investigación. A los Médicos Veterinarios Jacqueline Oliveros, Rosa Puma, Olga Sosa e Indira Navea por la colaboración prestada para la realización del muestreo. Al CDCHT de la UCLA por el financiamiento del proyecto número 004-VE-2008.

REFERENCIAS

Argimon, J. M.; Jiménez, J. 2004. Métodos de investigación clínica y epidemiológica. 3ra ed., ELSEVIER, Madrid, España.

Bañales, P.; Fernandez, M.; Repiso, V.; Gil, A.; Dargatz, D.; Osawa, T. 2006. A nationwide survey on seroprevalence of *Neospora caninum* infection in beef cattle in Uruguay. *Vet. Parasitol.*, 139:15-20.

Basso, W.; Venturini, L.; Venturini, M.C.; Moore, P.; Rambeau, M.; Unzaga, J.M.; Campero, C.; Bacigalupe, D.; Dubey, J.P. 2001. Prevalence of *Neospora caninum* infection in dogs from beef-cattle farms, dairy farms, and from urban areas of Argentina. *J. Parasitol.*, 87:906-907.

Cavalcante, G.T.; Monteiro, R.M.; Soares, R.M.; Nishi, S.M.; Alves Neto, A.F.; Esmerini, P. de O.; Sercundes, M.K.; Martins, J.; Gennari, S.M. 2011. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed different tissues from naturally infected cattle. *Vet. Parasitol.*, 179:220-223.

De Sousa, M.E.; Nascimento, W.J.; Feitosa, P.P.; De Souza, O.L.; Pinheiro, J.W.; Mota, R.A. 2012. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs in the state of Alagoas, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 21:287-290.

Dijkstra, T.; Barkema, H.W.; Eysker, M.; Hesselink, J.W.; Wouda, W. 2002. Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farm dogs and cattle. *Vet. Parasitol.*, 105:99-104.

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

Ellis, J.; Luton, K.; Baverstock, P.R.; Brindley, P.J.; Nimmo, K.A.; Johnson, A.M. 1994. The phylogeny of *Neospora caninum*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 64:303-311.

Escalona, J.; García, F.; Mosquera, O.; Vargas, F.; Corro, A. 2010. Factores de riesgo asociados a la prevalencia de neosporosis bovina en el municipio Bolívar del estado Yaracuy, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 28:201-2011.

Fernandes, B.; Gennari, S.; Souza, S.; Carvalho, J.; Oliveira, W.; Cury, M. 2004. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs from urban, periurban and rural areas of the city of Uberlândia, Minas Gerais - Brazil. *Vet. Parasitol.*, 123:33-40.

Frössling, J.; Uggla, A.; Björkman, C. 2005. Prevalence and transmission of *Neospora caninum* within infected Swedish dairy herds. *Vet. Parasitol.*, 128:209-218.

Fundación para el Desarrollo de la Región Centro Occidental de Venezuela. 2004. Dossier Estado Yaracuy y sus Municipios. FUDECO, Barquisimeto, p. 35.

Gavrea, R.; Mircean, V.; Pastiu, A.; Cozma, V. 2012. Epidemiological survey of *Neospora caninum* infection in dogs from Romania. *Vet. Parasitol.*, 188:382-385.

- Ghalmi, F.; China, B.; Kaidi, R.; Losson, B. 2009. First epidemiological study on exposure to *Neospora caninum* in different canine populations in the Algiers District (Algeria). *Parasitol. Int.*, 58:444-450.
- Gondim, L.F.P.; McAllister, M.M.; Pitt, W.C.; Zemlicka, D.E. 2004. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, 34:159-161.
- Guimarães, J.S.; Souza, S.L.P.; Bergamaschi, D.P.; Gennari, S.M. 2004. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. *Vet. Parasitol.*, 124:1-8.
- Kim, J.H.; Kang, M.S.; Lee, B.C.; Hwang, W.S.; Lee, C.W.; So, B.J.; Dubey, J.P.; Kim, D.Y. 2003. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs and raccoon dogs in Korea. *Korean J. Parasitol.*, 41:243-245.
- King, J.S.; Slapeta, J.; Jenkins, D.J.; Al-Qassab, S.E.; Ellis, J.T.; Windsor, P.A. 2010. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, 40:945-950.
- Lista-Alves, D.; Palomares-Naveda, R.; García, F.; Obando, C.; Arrieta, D.; Hoet, A.E. 2006. Serological evidence of *Neospora caninum* in dual-purpose cattle herds in Venezuela. *Vet. Parasitol.*, 136:347-349.
- McAllister, M.M.; Dubey, J.P.; Lindsay, D.S.; Jolley, W.R.; Wills, R.A.; McGuire, A.M. 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, 28:1473-1478.
- McAllister, M.M.; Björkman, C.; Anderson-Sprecher, R.; Rogers, D.G. 2000. Evidence of point-source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows. *JAVMA*, 217:881-887.
- Mitreá, I.L.; Enachescu, V.; Ionita, M. 2013. *Neospora caninum* infection in dogs from southern Romania: Copro-parasitological study and serological follow-up. *J. Parasitol.*, 99:365-367.
- Nogueira, C.I.; Mesquita, L.P.; Abreu, C.C.; Nakagaki, K.Y.; Seixas, J.N.; Bezerra, P.S.; Rocha, C.M.; Guimaraes, A.M.; Peconick, A.P.; Varaschin, M.S. 2013. Risk factors associated with seroprevalence of *Neospora caninum* in dogs from urban and rural areas of milk and coffee production in Minas Gerais state, Brazil. *Epidemiol. Infect.*, 18:1-8.
- Obando, C.; Bracamonte, M.; Montoya, A.; Cadenas, V. 2010. *Neospora caninum* en un rebaño lechero y sus asociación con el aborto. *Rev. Cientif. FCV-LUZ*, XX:235-239.
- Ogawa, L.; Freire, O.; Vidotto, C.; Gondim, L.; Navarro, I. 2005. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dairy cattle from the northern region of the Paraná State, Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 57:312-316.
- Patitucci, A.N.; Pérez, M.J.; Rozas, M.A.; Israel, K.F. 2001. Neosporosis canina: presencia de anticuerpos séricos en poblaciones caninas rurales y urbanas de Chile. *Arch. Med. Vet.*, 33:227-232.
- Regidor-Cerrillo, J.; Pedraza-Díaz, S.; Rojo-Montejo, S.; Vázquez-Moreno, E.; Arnaiz, I.; Gómez-Bautista, M.; Jiménez-Palacios, S.; Ortega-Mora, L.M.; Collantes-Fernández, E. 2010. *Neospora caninum* infection in stray and farm dogs: seroepidemiological study and oocyst shedding. *Vet. Parasitol.*, 174:332-335.
- Romero, J.; Pérez, E.; Dolz, G.; Frankena, K. 2002. Factors associated with *Neospora caninum* serostatus in cattle of 20 specialised Costa Rican dairy herds. *Prev. Vet. Med.*, 53:263-273.
- Sánchez, G.F.; Morales, S.E.; Martínez, M.J.; Trigo, J.F. 2003. Determination and correlation of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs and cattle from Mexico. *Can. J. Vet. Res.*, 67:142-145.
- Schares, G.; Peters, M.; Wurm, R.; Bärwald, A.; Conraths, F.J. 1998. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. *Vet. Parasitol.*, 80:87-98.
- Suárez, C.; Maldonado, J. 2012. Seropositividad a *Neospora caninum* en unidades de producción bovina del estado Lara, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 30:35-41.
- Vega, L.; Chávez, A.; Falcón, N.; Casas, E.; Puray, N. 2010. Prevalencia de *Neospora caninum* en perros pastores de una empresa ganadera de la sierra sur del Perú. *Rev. Invest. Vet.*, 21:80-86.
- VMRW. 2006. Veterinary diagnostic test kits & reagents. 46 p.
- Wouda, W.; Bartels, C.J.M.; Moen, A.R. 1999. Characteristics of *Neospora caninum* associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995-1997). *Theriogenology*, 52:233-245.