

Diagnóstico serológico de Neosporosis Bovina en fincas de la región de Tucacas, estado Falcón, Venezuela

Serological diagnosis of Bovine Neosporosis in farms from Tucacas, Falcon state, Venezuela

José G. Fernández Fernández ^{1*} y Francisco García ^{2†}

¹Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Unidad de Sanidad Animal, Laboratorio de Parasitología. Maracay, Aragua, Venezuela. *Correo electrónico: jgff1969@gmail.com

²Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias, Departamento de Parasitología. Maracay, Aragua, Venezuela.

RESUMEN

Neospora caninum es un protozooario considerado una de las principales causas de abortos bovinos a nivel mundial y un importante agente que induce mortalidad neonatal en bovinos, ovejas, cabras, venados y caballos en muchos países. La presencia de anticuerpos a *N. caninum* es indicativo de infección y pueden ser detectados en sangre bovina con pruebas serológicas tales como: inmufluorescencia indirecta, prueba de aglutinación y el inmunoensayo enzimático. El presente estudio se realizó para determinar la prevalencia de anticuerpos a *N. caninum* en ocho fincas de ganadería doble propósito ubicadas en la región de Tucacas, estado Falcón, Venezuela. La prevalencia usando la técnica de ELISA fue de 20,6%. Por tipo racial, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) entre los mestizos *Bos taurus* y *Bos taurus* x *Bos indicus*, con valores de seropositividad de 25,9% y 18,9%, respectivamente. Los animales seropositivos incluyen a 36 de 152 (23,7%) vacas adultas, 8 de 53 (15,1%) novillas y 0 de 8 (0,0%) becerras. No hubo diferencia significativa entre la seropositividad y la edad ($P > 0,05$). No se encontró reactividad cruzada entre los antígenos de *N. caninum* por la técnica de ELISA y los antígenos de *T. gondii* usando la técnica inhibición de la hemoaglutinación en los sueros de los bovinos infectados naturalmente.

Palabras claves: *Neospora caninum*, diagnóstico serológico, Venezuela.

ABSTRACT

Neospora caninum is a protozoan parasite which is a major cause of bovine abortions worldwide and an important agent that induces neonatal mortality in cattle, sheep, goats, deer and horses in many countries. *N. caninum* antibodies in bovine blood can be demonstrated by serological assays such as the indirect fluorescent antibody test (IFAT), direct agglutination test, or enzyme linked immunosorbent assay. The present study was done to determine the prevalence of antibodies to *N. caninum* in eight dual purpose cattle farms in Tucacas region, Falcon state, Venezuela. The prevalence of *N. caninum* in the ELISA was 20.6%. There was no significant differences ($P > 0.05$) by breed effect in *Bos taurus* (25.9%) and *Bos taurus* x *Bos indicus* crosses (18.9%). The seropositivity animals included 36 of 152 (23.7%) adult cows, 8 of 53 (15.1%) heifers, and 0 of 8 (0.0%) calves. The association between seropositivity and age was no significant differences ($P > 0.05$). No cross-reactivity was found between *N. caninum* antigens for the ELISA and *T. gondii* antigens for the hemagglutination inhibition test in sera of cattle with natural infection.

Key words: *Neospora caninum*, serological diagnosis, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

La neosporosis bovina es una enfermedad parasitaria causada por un protozooario Apicomplexa, de la subclase Coccidia denominado *Neospora caninum*. Hasta 1988, la enfermedad fue confundida con toxoplasmosis, debido a la estrecha relación que existe entre *Toxoplasma gondii* y *N. caninum*, desde el punto de vista morfológico y biológico (Dubey y Lindsay, 1996; Dubey *et al.*, 2007). Dubey *et al.* (1998) se pudo completar el ciclo de vida del parásito, identificando al perro (*Canis familiaris*) como su hospedador definitivo, reportándose por Gondim *et al.* (2004) que los zorros (*Canis latrans*) también son hospedadores definitivos del parásito. Como hospedadores intermediarios se han señalado a bovinos, ovinos, caprinos, equinos, venados, el mismo perro, otros mamíferos e inclusive las aves de corral (Costa *et al.*, 2008).

N. caninum es reconocido como una importante causa de abortos en vacas lecheras alrededor del mundo, ocurriendo estos desde los tres meses de gestación hasta el final de la misma, siendo la mayor incidencia entre los cinco y seis meses. El impacto económico de esta parasitosis en la industria láctea es sustancial y va a depender de los costos indirectos, tales como: la ayuda profesional y costos asociados con el establecimiento del diagnóstico, la recría, incremento en el tiempo de lactación, posibles pérdidas en la producción de leche y el costo del reemplazo si las vacas que abortan son eliminadas, así como el valor de los fetos perdidos (Thurmond y Hietala, 1996; Jenkins *et al.*, 2000; Dubey *et al.*, 2006; Dubey *et al.*, 2007).

La neosporosis ha sido reportada en Australia, Canadá, Dinamarca, Reino Unido, Irlanda, Israel, Japón, México, Los Países Bajos, Nueva Zelanda, Sur África, Suecia, Estados Unidos, Argentina, Bélgica, Alemania, Hungría, Italia, España y Zimbabue (Dubey y Lindsay, 1996). Los estudios seroepidemiológicos sobre esta parasitosis realizados a nivel mundial han indicado resultados muy variables (Dubey y Lindsay, 1996; Gondim *et al.*, 1999; Suteeraparp *et al.*, 1999; Atkinson *et al.*, 2000; Sanderson *et al.*, 2000; Corbellini *et al.*, 2002; Moore *et al.*, 2003).

En nuestro país son pocos los estudios seroepidemiológicos realizados sobre esta parasitosis, pudiéndose señalar para el momento de esta investigación, los reportes de García *et al.*, 2003; Lista, 2004; León *et al.*, 2007. Es por esto y debido al impacto económico de la enfermedad en la ganadería bovina y para lograr establecer pautas en la aplicación de estrategias de control adecuadas para evitar la infección y/o transmisión de *N. caninum* en los rebaños bovinos en nuestro país, es que se justifica la realización de esta investigación, en una zona ganadera del estado Falcón y de esta forma aportar más datos sobre la seropositividad de la neosporosis bovina en Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Para determinar la presencia de anticuerpos anti-*N. caninum*, se realizó un muestreo en ocho fincas de la región de Tucacas, sector Las Lapas, municipio José Laurencio Silva, ubicado geográficamente a 68°, 00' - 68°, 30' longitud oeste y 10°, 30' - 11°, 00' latitud norte y el mismo está delimitado al norte por el Golfo Triste; al noroeste con el municipio Monseñor Iturriza; al suroeste con el municipio Palma Sola, al sur con el estado Yaracuy y al este con el Mar Caribe. En cuanto a la región de Tucacas, ésta se encuentra a 10°, 45' latitud norte y 69°, 26' longitud oeste, donde predomina el bosque seco tropical, con un periodo de lluvia desde abril hasta diciembre, y otro de sequía desde enero hasta marzo (García, 2000). Una de las actividades económicas predominante en esta región es la ganadería vacuna, desarrollada en unidades de producción de tamaños variables. La producción de leche se realiza, principalmente, en fincas doble propósito no tecnificadas, conformadas por rebaños de pequeño tamaño, constituidos principalmente por un tipo de animal mosaico, producto de cruces no específicos entre *Bos taurus* y *Bos indicus* (Sandoval *et al.*, 1989).

Población muestral

Para determinar el tamaño de la muestra y estimar la seropositividad de neosporosis bovina en las ocho fincas de la región de Tucacas, se siguió la fórmula del muestreo aleatorio simple (OPS,

1979). En base a trabajos previos realizados en Venezuela (Lista, 2004; León *et al.*, 2007) con un promedio de prevalencia de 14%, una precisión absoluta del estimador del 5% a un nivel de confianza del 95%, se obtuvo un tamaño de muestra de 213 animales pertenecientes a hembras de tipo racial entre mestizas *B. taurus* y *B. taurus* acebuadas, distribuidas en ocho fincas doble propósito. Los animales fueron estratificados por edad conformándose tres grupos: becerras (hasta 5 meses), mautasnovillas (6 a 24 meses) y vacas (mayores de 24 meses), seleccionándose de forma aleatoria simple. Es importante señalar, que la ocurrencia o no de abortos no fue considerado como criterio limitante para la selección de las fincas y/o animales. Para esta investigación se consideró igual proporción de muestras por finca evaluada en función al total de su población.

Obtención de las muestras

La extracción de sangre en los bovinos se realizó mediante punción de la vena yugular, recolectada en tubos al vacío, estériles y sin anticoagulante. Luego de la centrifugación, los sueros obtenidos se alicuotaron y congelaron a -20°C hasta su análisis. Se aplicó una encuesta a los propietarios de las fincas para obtener los datos relacionados con los animales (tipo racial y edad).

Procesamiento de las muestras

El análisis de las muestras séricas se realizó en el Laboratorio de Diagnóstico de la empresa C.A., Laboratorios Asociados. Se detectó la presencia de anticuerpos anti-*Neospora caninum* utilizando el estuche comercial de ELISA (HerdChek®: anti-*Neospora caninum* del Laboratorio IDEXX), basado en antígenos de taquizoitos sonicados de *N. caninum*, cepa NC-1. El procedimiento se llevó a cabo siguiendo las instrucciones del fabricante presentes en el manual del kit.

Para demostrar la posible reacción cruzada entre *N. caninum* y *T. gondii*, se evaluaron los sueros positivos a anticuerpos anti-*Neospora caninum* con un estuche comercial que detecta anticuerpos anti *T. gondii* por la técnica de inhibición de la hemoaglutinación (Toxotest-HAI ®: anti-*Toxoplasma gondii* de

Laboratorios Wiener). El procedimiento se llevó a cabo siguiendo las instrucciones del fabricante presentes en el manual del kit.

Análisis estadístico

El análisis descriptivo se llevó a cabo posterior a la tabulación de los datos, la elaboración de cuadros, gráficos y tablas de contingencia para determinar la seropositividad general, por tipo racial y por edad.

En el análisis inferencial, la seropositividad de la infección se correlacionó con la edad de los animales y tipos raciales, analizándose la significancia estadística de sus asociaciones o independencias por la prueba de ji-cuadrado (χ^2) con un 95% de confianza. Para el análisis de los datos, se utilizó el paquete estadístico Statistix 7 para Windows, versión 7.0 del año 2000.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Existen un gran número de patologías reproductivas o alteraciones de varios orígenes que interrumpen la preñez en la hembra bovina, lo cual se traduce en pérdidas económicas anuales relevantes para la finca. Las causas infecciosas constituyen una de las más importantes y dentro de ellas podemos citar a los agentes virales, bacteriales, micóticos y parasitarios (Bermúdez, 2001); y dentro de los agentes parasitarios ha emergido en los últimos años el protozoario *N. caninum* como un importante causal de abortos en grandes rumiantes en muchos países, considerándose actualmente como un significativo problema de producción a nivel mundial (Dubey y Lindsay, 1996).

En nuestro país, hasta un 5% de las preñeces bovinas pueden terminar anualmente en abortos. Para algunos hatos, la tasa puede alcanzar valores de 10% y la consideran aceptable debido al hecho de que en la finca coexisten varias enfermedades enzoóticas como son la leptospirosis, brucelosis, virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), virus de la diarrea viral bovina (BVD) y algunos hematozoarios (Bermúdez, 2001), por lo cual deben realizarse los respectivos diagnósticos.

Con respecto a la neosporosis y a pesar de su diseminación global, existe limitada información

disponible concerniente a la distribución y modo de transmisión de esta parasitosis en Centro y Sudamérica. La prevalencia en diversas razas bovinas depende del país, región y tipo de prueba serológica utilizada, llegándose a determinar en algunos rebaños de vacas lecheras sobre el 87% de seropositividad (Dubey y Lindsay, 1996; Dubey, 1999; Dubey, 2003).

En este trabajo, la seropositividad general de neosporosis bovina fue de 20,66%, detectándose animales seropositivos en todas las fincas (Figura). Datos similares se han reportado en cinco estados al noroeste de los Estados Unidos, donde de un total de 2.585 vacas provenientes de 55 rebaños se obtuvo un 23% de seropositividad, aplicando la técnica de ELISA competitiva (Sanderson *et al.*, 2000). Gondim *et al.* (1999), en el estado de Bahia, Brasil reportaron un 14,09% de animales seropositivos, provenientes de 447 bovinos de 14 fincas lecheras, usando la técnica de IFI. Igualmente, en Río Grande del Sur, Brasil, Corbellini *et al.* (2002) reportaron una prevalencia de 23,3% en vacas Holstein con antecedentes de abortos y un 8,3% en aquellas sin historia de abortos.

En Paraguay, Osawa *et al.* (2002), reportaron un 29,8% de bovinos seropositivos a *N. caninum* por la técnica de ELISA, observándose que la mayor proporción de animales positivos fueron aquellos que habían abortado. En Argentina, Moore *et al.* (2003), obtuvieron valores de prevalencia de neosporosis en ganadería de carne y leche por IFI, cuyos animales tenían o no antecedentes de enfermedad reproductiva. Los valores obtenidos por estos autores fueron de 16,6% y 4,7%, correspondiente a animales

asintomáticos de fincas lecheras y de carne respectivamente, mientras que en animales con antecedentes de abortos fue de 43,1% y 18,9% en el mismo orden. Así mismo, en un trabajo realizado en vacas lecheras que abortaron, se estableció por la técnica de IFI una positividad de 64,5%.

En México, García-Vázquez *et al.* (2005), reportaron valores de seroprevalencia de 59% por la técnica de ELISA. De igual forma, Morales *et al.* (2001) determinaron una seroprevalencia de 72% en vacas pertenecientes a hatos con tasa anuales de abortos entre 13% y 30% (abortos epizooticos) y 36% en vacas pertenecientes a hatos con tasas de aborto hasta de 12% anual (aborto enzoótico). En el sur de California, en un rebaño de 240 vacas productoras de leche se determinó a través de ELISA, un 80% de seroprevalencia, de los cuales 40% abortaron desde el cuarto mes de gestación (Jenkins *et al.*, 2000).

En Centroamérica, específicamente en Costa Rica, un estudio realizado por Romero y Frankena (2003) en 20 fincas lecheras con antecedentes epidemiológicos de seropositividad a *N. caninum*, la seroprevalencia intra-rebaño osciló entre 25% y 70,5%.

Entre los estudios seroepidemiológicos de neosporosis bovina hechos en nuestro país destaca el realizado por Suárez y Maldonado (2012), donde reportan una seropositividad general de 17,23% de 2.542 bovinos doble propósito estudiados, ubicados en cinco municipios del estado Lara; de igual forma señalaron que, no existían diferencias significativas entre grupos etarios ni sexo de

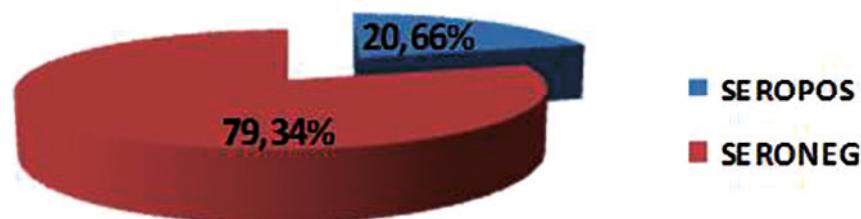


Figura. Seropositividad general de neosporosis bovina, Tucacas, estado Falcón, Venezuela.

los animales; al mismo tiempo sugieren, que la transmisión de *N. caninum* en los rebaños analizados son predominantemente por vía transplacentaria. Obando *et al.* (2010), realizaron un trabajo en un rebaño bovino en el que reportaban abortos endémicos de un 11% en vacas y 20% en novillas, con 4,5 meses de edad de gestación en promedio, analizando en total 169 vacas, de las cuales 87 tenían registros de abortos, y 82 no presentaban tal signo.

En el primer grupo se encontró que el 54% presentaban anticuerpos específicos contra el protozooario, mientras que el otro grupo reveló un 34% de infección. Ellos concluyeron que había una asociación importante entre la condición de infección y la ocurrencia de los abortos. El mismo año, Escalona *et al.* (2010), evaluaron 408 vacas y 142 novillas de 51 fincas ubicadas en el municipio Bolívar del estado Yaracuy y obtuvieron un 17,09% de seropositividad por animal y una frecuencia de infección por fincas de 74,51%; concluyeron igual que el grupo de Suárez y Maldonado (2012), que la transmisión vertical del parásito predomina en la región estudiada, y que por otra parte, la prevalencia del microorganismo está influenciada por el sistema de producción.

León *et al.* (2007), reportaron una prevalencia de 13% en el municipio San José de Guaribe del estado Guárico y 17% en el Sur de Aragua, trabajando con animales doble propósito; si bien, se detectaron animales seropositivos a *N. caninum* en ambas regiones, los productores de estas fincas no reportaron problemas reproductivos, ni historia de abortos. Lista

(2004), reportó una seropositividad general de 11,32% en 15 fincas, ubicadas en ocho estados del país. Otro estudio hecho por García *et al.* (2003), evidenció uno de los primeros hallazgos serológicos en Venezuela, reportando que cinco de diez vacas con antecedentes de abortos resultaron seropositivas al parásito, dichos animales se encontraban ubicados en una finca del municipio Morán del estado Lara.

Con relación a la edad, la seropositividad aumentó proporcionalmente con la longevidad del animal, no existiendo diferencias estadísticamente significativas ($P>0,05$) entre esta variable y la presencia de anticuerpos (Cuadro 1); estos datos coinciden por los presentados por Locatelli-Dittrich *et al.* (2001), los cuales señalan que un 37% de vacas adultas, 25,5% de novillas y dos muestras precalostrales fueron seropositivas al parásito. Otro resultado similar presentó Kashiwazaki *et al.* (2004), reportando mayor seropositividad en vacas (60%) que en becerros (20%).

De igual forma, Bartels *et al.*, (2006), encontraron que el riesgo de ser seropositivo incrementa con la edad. Esto puede deberse a la exposición postnatal de los bovinos con fuentes contaminadas con ooquistes esporulados del parásito. En cuanto a la raza del animal, los grupos *B. taurus* y *B. taurus* acebuado presentaron valores de seropositividad de 25,93% y 18,87% respectivamente, no encontrando diferencias estadísticamente significativas ($P>0,05$) entre esta variable y la infección por *N. caninum* (Cuadro 1).

Cuadro 1. Seropositividad a *Neospora caninum* según tipo racial y grupo de edad.

TIPO RACIAL	Nº animales muestreados	Nº animales seropositivos	%
mestizos <i>Bos taurus</i>	54	14	25,9
mestizos <i>Bos taurus</i> acebuados	159	30	18,9
GRUPOS DE EDAD			
0 a 5 meses	8	0	0,0
6 a 24 meses	53	8	15,1
> 24 meses	152	36	23,7

Este resultado coincide con el de Osawa *et al.* (2002) en Paraguay, quienes trabajaron con ganadería de carne y leche encontrando que la infección está presente en animales de ambos propósitos. Así mismo, Moore *et al.* (2003), encontraron una distribución similar entre los seroreaccionantes del grupo *B. taurus* y *B. indicus*, en la provincia de Corrientes, Argentina. Por último, del total de los 44 animales seropositivos a *N.caninum*, se obtuvo un 100% de seronegatividad a *T.gondii*, por la técnica de inhibición de la hemoaglutinación; estos datos se correlacionan con los de Dubey *et al.* (1998), quienes reportan que de 63 sueros positivos a *N.caninum*, solo tres reaccionaron a *T. gondii*; y en Tailandia, Suteeraparp *et al.* (1999), no encontraron reacción cruzada entre los antígenos de ambos parásitos en sueros de bovinos con infección natural a *Neospora* (Cuadro 2).

CONCLUSIONES

El valor de seropositividad general de anticuerpos anti-*Neospora caninum* en las ocho fincas doble propósito examinadas en la región de Tucacas, estado Falcón correspondió a 20,66% en animales de rebaños semiestabulados con distintos grados de cruce *B. taurus* y *B. taurus* acebuados, con valores en ambos grupos de 25,93% y 18,87% respectivamente. En cuanto a la variable edad, la seropositividad fue aumentando proporcionalmente con la longevidad del animal. Con relación a la reactividad cruzada entre los antígenos de *N. caninum* y *T.gondii*, se determinó que ninguno de los animales seropositivos al primero, reaccionaron específicamente con los determinantes antigénicos del segundo. Se detectaron animales seropositivos a *N.caninum* en todas las fincas que se muestrearon.

LITERATURA CITADA

- Atkinson, R., R. Cook, L. Reddaclif, J. Rothwell, K. Broady, P. Harper and J. Ellis. 2000. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection following an abortion outbreak in a dairy cattle herd. *Aust. J.* 78: 262-266.
- Bartels, C., J. Arnaiz, A. Ruiz, C. Björkman, J. Frössling, D. von Blumröder, F. Conraths, G. Schares, C. van Maanen, W. Wouda and L. Ortega. 2006. Supranational comparison of *Neospora caninum* seroprevalences in cattle in Germany, the Netherlands, Spain and Sweden. *Vet. Parasitol.* 137: 17-27.
- Bermúdez, V. 2001. Patología de la reproducción en la vaca. **En:** González-Stagnaro C. (Ed.). Reproducción Bovina. Fundación Girarz. Maracaibo, Venezuela. pp. 149-169.
- Corbellini, L., D. Driemeier, C. Cruz, L. Gondim and V. Wald. 2002. Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Vet.Parasitol.* 103: 195-202.
- Costa, K., S. Santos, R. Uzeda, A. Pinheiro, M. Almeida, F. Araújo, M. McAllister and L. Gondim. 2008. Chickens (*Gallus domesticus*) are natural intermediate hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 38: 157-159.
- Dubey, J. and D. Lindsay. 1996. A review of *Neospora caninum* and Neosporosis. *Vet. Parasitol.* 67: 1-59.
- Dubey, J., D. Lindsay, W. Jolley, R. Wills and A. McGuire. 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 28: 1473-1478.

Cuadro 2. Determinación de reacción cruzada entre los antígenos de *Neospora caninum* y *Toxoplasma gondii*.

Nº Animales positivos a <i>N. caninum</i>	Hemoaglutinación Indirecta anti- <i>Toxoplasma gondii</i>	
	animales seropositivos	animales seronegativos
44	0	44

- .Dubey, J., S. Romand, M. Hilali, O. Kwok and P. Thulliez. 1998. Sero-prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Egypt. *Int. J. Parasitol.* 28: 527-529.
- Dubey, J. 1999. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet. Parasitol.*, 84: 349-367.
- Dubey, J. 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J. Parasitol.*, 41(1): 1-16.
- Dubey, J., D. Buxton and W. Wouda. 2006. Pathogenesis of bovine Neosporosis. *J. Comp. Pathol.* 134: 267-289.
- Dubey, J., G. Schares and L. Ortega-Mora. 2007. Epidemiology and control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin. Microbiol. Rev.* 20: 323-367.
- Escalona, J., F. García, O. Mosquera, F. Vargas y A. Corro. 2010. Factores de riesgo asociados a la prevalencia de Neosporosis Bovina en el municipio Bolívar del estado Yaracuy, Venezuela. *Zootecnia Trop.* 28(2): 201-211.
- García, F. 2000. Programa de Asistencia Técnica para el Diagnóstico y Control de Enfermedades Parasitarias de la Región Ganadera de Tucacas, estado Falcón. FCV-UCV. Mimeo.
- García, F., J. Escalona, J. Fernández y C. Suárez. 2003. Seropositividad a *Neospora caninum* en vacas lecheras con casuística de abortos en una finca del municipio Morán del estado Lara, Venezuela. VI Jornadas de Investigación. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA). Decanato de Ciencias Veterinarias. Barquisimeto estado Lara.
- García-Vazquez, Z., R. Rosario-Cruz, A. Ramos-Aragon, C. Cruz-Vazquez and G. Mapes-Sánchez. 2005. *Neospora caninum* seropositivity and association with abortions in dairy cows in Mexico. *Vet. Parasitol.*, 134: 61-65.
- Gondim, L., I. Sartor, M. Hasegawa and I. Yamane. 1999. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. *Vet. Parasitol.* 86: 71-75.
- Gondim, L., M. McAllister, W. Pitt and D. Zemlicka. 2004. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 34: 159-161. McAllister, M.;
- Jenkins, M., J. Caver, C. Björkman, C. Anderson, S. Romand, B. Vinyard, A. Uggla P. Thulliez and J. Dubey. 2000. Serological investigation of an outbreak of *Neospora caninum* associated abortion in a dairy herd in southeastern United States. *Vet. Parasitol.* 94: 17-26.
- Kashiwazaki, Y., R. Giannechini, M. Lust and J. Gil. 2004. Seroepidemiology of Neosporosis in dairy cattle in Uruguay. *Vet. Parasitol.* 120: 139-144.
- León, E., A. Gullén, W. Aragort, F. García, G. Morales, L. Pino, E. Sandoval y C. Balestrini. 2007. Limitantes parasicológicas en rebaños doble propósito del Municipio San José de Guaribe (estado Guárico) y sur del estado Aragua. **En:** Espinoza, F. y Domínguez, C. (Eds.). I Simposio Tecnologías Apropriadas para la Ganadería de los Llanos de Venezuela. Valle de la pascua, Venezuela. pp. 177-194.
- Lista, D. 2004. Evidencia serológica de *Neospora caninum* en algunos rebaños bovinos de Venezuela. Trabajo de Grado para optar al título de Especialista en Reproducción Bovina. Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracaibo-estado Zulia.
- Locatelli-Dittrich, R., V. Soccol, R. Richartz, M. Gasino-Joineau, R. Vinnes and R. Pinckney. 2001. Serological diagnosis of Neosporosis in a herd of dairy cattle in Southern Brazil. *J. Parasitol.* 87: 1493-1494.
- Moore, D., M. Draghi, C. Campero, C. Cetrá, A. Odeón, E. Alcaraz and E. Späth. 2003. Serological evidence of *Neospora caninum* infections in beef bulls in six countries of the Corrientes province, Argentina. *Vet. Parasitol.* 114: 247-252.

- Morales, E., F. Trigo, F. Ibarra, E. Puente and M. Santacruz. 2001. Seroprevalence study of bovine neosporosis in Mexico. *J. Vet. Diagn. Invest.* 13: 413-415.
- Obando, C., M. Bracamonte, A. Montoya y V. Cadenas. 2010. *Neospora caninum* en un rebaño lechero y su asociación con el aborto. *Revista Científica, FCV-LUZ.* 20(3): 235-239.
- Osawa, T. J. Wastling, L. Acosta, C. Ortellado, J. Ibarra and E. Innes. 2002. Seroprevalence of *Neospora caninum* infections in dairy and beef cattle in Paraguay. *Vet. Parasitol.* 110: 17-23.
- OPS. Organización Panamericana de la Salud. 1979. Nota Técnica No. 18. procedimientos para estudios de prevalencia en enfermedades crónicas por muestreo. Buenos Aires. 35 p.
- Romero, J. and K. Frankena. 2003. The effect of the dam-calf relationship on serostatus to *Neospora caninum* on 20 Costa Rican dairy farms. *Vet. Parasitol.*, 114: 159-171.
- Sanderson, M., J. Gay and T. Bazzler. 2000. *Neospora caninum* Seroprevalence and risk factors in beef cattle in the northwestern United States. *Vet. Parasitol.* 90: 15-24.
- Sandoval, S., R. Medina y S. Alfonso. 1989. Diagnóstico Sanitario de Rebaños de Doble Propósito en el Área: Bajo Tocuyo, estado Falcón. *Jornadas Técnicas. Serie Generalidades N° 89-1.* FONAIAP, Coro-Venezuela.
- Suárez, C. y J. Maldonado. (2012). Seropositividad a *Neospora caninum* en unidades de producción bovina del estado Lara, Venezuela. *Zootecnia Trop.* 30(1): 35-41.
- Suteeraparp, P., S. Pholpark, M. Pholpark, A. Charoenchai, T. Chompoochan, I. Yamane and Y. Kashiwazaki. 1999. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* and associated abortion in dairy cattle from central Thailand. *Vet. Parasitol.* 86: 49-57.
- Thurmond, M. and S. Hietala. 1996. Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* 11: 1559-1562.