

DETECCIÓN SEROLÓGICA DE *Neospora caninum* (APICOMPLEXA, SARCOCYSTIDAE) EN BÚFALAS (*Bubalus bubalis*) DEL MUNICIPIO COLÓN, ESTADO ZULIA, VENEZUELA

Serological Detection of *Neospora caninum* (APICOMPLEXA, SARCOCYSTIDAE) in Buffaloes (*Bubalus Bubalis*) from Colón Municipality, Zulia State, Venezuela

Roselyn Valbuena-Carson¹, Robert Valeris², Egar Sánchez², Adeldo Ramírez^{1,3}, Kelly Ochoa¹, David Uzcátegui^{1,4}, Everts Chacín¹, David Simoes¹, Roger Ramírez¹ y Francisco Angulo-Cubillán^{1*}

¹Unidad de Investigaciones Parasitológicas, Fac. Cs. Veterinarias, Universidad del Zulia. ²Unidad de Investigaciones Epidemiológicas, Fac. Cs. Veterinarias, Universidad del Zulia. ³Instituto Universitario de Tecnología de Maracaibo.

⁴Grupo de Investigación en Producción Animal, Universidad Experimental Sur del Lago.

*francisco.angulo@fcv.luz.edu.ve

RESUMEN

La Neosporosis es una enfermedad parasitaria causada por el protozooario *Neospora caninum*, que ocasiona pérdidas económicas por problemas reproductivos. El objetivo consistió en detectar anticuerpos frente a *N. caninum* en búfalos del municipio Colón del estado Zulia, Venezuela, determinando la seroprevalencia y analizando los factores de riesgo asociados a la enfermedad. Se procesaron 174 muestras de suero sanguíneo de animales adultos, utilizando la técnica de ELISA. Se detectaron anticuerpos contra *N. caninum* mostrando una seroprevalencia de 30,4%, el 100% de las fincas mostraron animales seropositivos y el análisis estadístico indicó que no existe asociación entre seropositividad respecto al tipo de alimentación de caninos, atención veterinaria, tipo de monta y manejo de desechos biológicos en la finca. Estos resultados indican una moderada exposición de los búfalos al protozooario en la zona estudiada.

Palabras clave: *Neospora caninum*, búfalos, seroprevalencia, ELISA.

ABSTRACT

Neosporosis is a parasitic disease caused by the protozoan *Neospora caninum*, which causes economic losses due to reproductive problems. In order to detection of antibodies against *N. caninum* in buffaloes from Colon Municipality in Zulia State,

Venezuela, determining the seroprevalence and analyzed the risk factors associated with this disease. One hundred seventy four samples of blood serum using ELISA test were processed. Detected antibodies against *N. caninum* showing a seroprevalence of 30.4%, 100% of farms were seropositive, animals and statistical analysis indicated that there had not association between seropositivity and the type of canine food, veterinary care, type of mounting and biological waste management on a farm. These results indicate a moderate exposure of water buffaloes to the protozoan in the studied area.

Key words: *Neospora caninum*, buffaloes, seroprevalence, ELISA.

INTRODUCCIÓN

Desde su aparición en Noruega [4], en una camada de perros (*Canis familiaris*) padeciendo encefalomiélitis y miositis, y su posterior descripción como especie, *Neospora caninum*, agente etiológico de la Neosporosis, ha sido reconocida como una seria enfermedad que afecta a los bovinos (*Bos taurus* y *B. indicus*) alrededor del mundo. La neosporosis clínica se ha reportado en bovinos, cabras (*Capra hircus*), ovejas (*Ovis aries*), venados (*Cervus elaphus*), entre otras especies y se han detectado anticuerpos en estos animales, además en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*), coyotes (*Canis latrans*), gatos (*Felis catus*), camellos (*Camelus dromedarius*), entre otros [11]. *N. caninum* es un protozooario del phylum Apicomplexa, familia Sarcocystidae, cuyo hospedador definitivo es el perro y otros cáni-

dos silvestres [19, 25], aunque estas especies pueden comportarse también como hospedadores intermediarios [26].

Existen dos vías de transmisión para esta enfermedad: la transmisión horizontal y la vertical. La primera ocurre mediante ingestión, por parte del hospedador intermediario, a partir de agua o alimentos contaminados conteniendo ooquistes esporulados del parásito [10]. Sin embargo, se considera que la principal vía de transmisión es la vertical o congénita; en este caso, el parásito atraviesa por vía sanguínea la placenta infectando al feto, pudiendo causar en algunos casos abortos y el nacimiento de una cría con signos neurológicos o clínicamente normal, pero congénitamente infectado. Esta última situación merece mayor atención, debido a que si la cría nace hembra, existe un alto riesgo de transmitir y mantener la enfermedad en el rebaño [7].

N. caninum ha sido aislado del búfalo de agua, confirmando su rol como hospedador intermediario, característica relevante debido a que el parásito puede enquistarse y permanecer latente durante toda la vida del animal [30, 31]. Son varios los estudios realizados en la especie bubalina, donde se han reportado seroprevalencias entre 0 y 70,9% a *N. caninum*, en países como China, Irán, Egipto, entre otros, así como en Argentina, Brazil y Perú, reportando seroprevalencias variables [6, 18, 20, 22, 24]. A pesar de que se ha aislado este microorganismo en búfalos de agua, no se han fundamentado hallazgos de neosporosis clínica en esta especie [13].

Este microorganismo es considerado una de las principales causas de aborto a nivel mundial, tanto en ganado de leche, como de carne [13]. La importancia económica para el sector ganadero que pudiese estar afectado por neosporosis, radica principalmente en las pérdidas productivas y reproductivas, relacionadas con los abortos, disminución de la producción láctea, pérdidas por eliminación de hembras de reemplazo, gastos médicos, entre otros [29].

En Venezuela, según el VII Censo Agrícola Nacional, llevado a cabo por el Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras [28], se reportó una población bufalina de 225.790 cabezas, distribuida en todo el territorio nacional y entre los Estados de mayor población se encuentra el Edo. Zulia, con 35.458 búfalos, destacándose como segundo en el país en explotación de búfalos. De igual modo se reporta que, en el municipio Colón del estado Zulia existen 6.408 búfalos, siendo éste, el tercer Municipio con mayor población de esta especie. Sin embargo, estos datos podrían estar subvalorados según lo indica Coirán [5] quien reportó 350.000 búfalos en el país.

En los últimos años, el interés por la cría de búfalos ha ido en aumento, debido a que esta especie ha demostrado una gran capacidad de adaptación, sobretudo en zonas donde los bovinos tienen dificultades para su rendimiento productivo, además de mantener una alta tasa de fertilidad. La industria del búfalo es económicamente importante en el país, sin embargo, el rol de *N. caninum* como agente causal de abortos y

problemas reproductivos en estos bóvidos, no ha sido muy investigado [3].

Diversos estudios han confirmado la presencia de este parásito en ganado vacuno de varios Estados venezolanos; actualmente no hay suficientes reportes sobre rebaños de búfalos [14, 27]. El objetivo de esta investigación consistió en la detección serológica de anticuerpos anti *N. caninum* en búfalas del municipio Colón del Edo. Zulia, como región ganadera de importancia para el país. Además, valorar la seroprevalencia y posibles factores de riesgo a la presencia de la enfermedad.

MATERIALES Y METODOS

Ubicación: El Municipio objeto de esta investigación se ubica en la zona sur del estado Zulia, ocupando una superficie de 3.506 Km², con una ubicación astronómica: 09°14'LN, 71°41'LO, 08°31'LN, 72°10'LO. La zona se caracteriza por tener un clima húmedo y cálido, con una temperatura media anual de 27°C. La precipitación anual se incrementa de norte a sur y de este a oeste en un promedio de 1.400 mm. Los valores de evaporación media anual fluctúan entre 1.400 y 1.500 mm. Se observa un balance entre precipitación y evaporación, siendo la sobresaturación de agua en el Municipio la causante de la humedad [16].

Población y tamaño de la muestra: El estudio serológico se realizó en animales adultos, por pertenecer éstos al grupo etario sensible a sufrir problemas reproductivos causados por el protozoo y no vacunados frente al mismo, en cuatro unidades de producción doble propósito, dedicadas exclusivamente a la explotación de búfalos. Partiendo de una población total de hembras bufalinas adultas de 667 animales, se calculó el tamaño de la muestra para la determinación de la seroprevalencia, a través del programa Win episcopy 2.0, utilizando un error de 4%, nivel de confianza de 95% y una seroprevalencia esperada del 11% [27], por lo que el resultado arrojó 174 muestras.

Recolección de datos epidemiológicos: Mediante una encuesta de tipo epidemiológica, documento en el cual se registró la información de la finca y los hallazgos epidemiológicos más importantes relacionados con la enfermedad, tomando en cuenta las condiciones del medio, con el fin de ser tabulados, analizados e interpretados.

Obtención de la muestra de suero sanguíneo: Las muestras de sangre se obtuvieron mediante punción de la vena yugular, con aguja de calibre 20 G en tubos vacutainer® sin anticoagulante. Los tubos con las muestras de sangre completa se dejaron reposar a temperatura ambiente hasta la formación del coágulo para posteriormente separar el suero mediante centrifugación a 252 g, durante 20 minutos. El suero se colocó en viales plásticos estériles para su congelación (Samsung, Serie Twin RZ80FHIS, Korea) a -20°C, luego de ser transportado en cava refrigerada hasta el laboratorio de Enfermedades Parasitarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Uni-

versidad del Zulia. Las muestras fueron debidamente identificadas al momento de su obtención.

Procesamiento de las muestras con la técnica de ELISA: Para la detección de anticuerpos contra *N. caninum* se utilizó un kit comercial de ELISA, perteneciente a laboratorios IDEXX, HerdChek anti-Neospora; inmunoanálisis enzimático diseñado para detectar la presencia de anticuerpos contra Neospora, siguiendo las instrucciones del fabricante [27].

Análisis estadístico de los datos: Para determinar la significancia estadística de los factores de riesgo se realizó la prueba de Ji-cuadrado (χ^2), a través de la herramienta estadística SPSS 17.0 [33], con la finalidad de establecer asociaciones entre la seroprevalencia de la enfermedad y las variables independientes analizadas: tipo de alimentación de los perros presentes en las fincas estudiadas, tipo de monta (natural controlada o inseminación artificial), presencia de atención veterinaria (semanal, quincenal o permanente) y el manejo de desechos biológicos en la finca.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Detección serológica de *Neospora caninum*

En la TABLA I se reflejan los resultados obtenidos de búfalos con anticuerpos séricos positivos a *N. caninum* en cuatro fincas dedicadas exclusivamente a la explotación de búfalos en el municipio Colón del estado Zulia. Los anticuerpos anti *N. caninum* fueron detectados en 53 (30,4%) de las 174 búfalos bajo estudio. De los cuatro rebaños estudiados, el 100% presentó animales positivos al parásito, correspondiendo el mayor porcentaje (36,6%) a la finca D y el menor (19,5%) a la B. Al realizar el análisis estadístico (χ^2) no hubo diferencia entre las fincas estudiadas ($P > 0,05$).

Existen varias publicaciones, en las cuales se muestran diversas prevalencias de *N. caninum* en búfalos. Las mismas son muy variables, oscilando entre 0 y 70,9% [18,24]. La enfermedad se encuentra ampliamente distribuida a escala mundial [11]. En Venezuela no existen informes previos publicados sobre detección de anticuerpos anti neospora en esta especie, pero los resultados obtenidos en el presente estudio permiten demostrar que existe evidencia serológica para *N. caninum* en las fincas muestreadas en el municipio Colón del Edo. Zulia. En un estudio realizado en Irán, Hajikolaie y col. [22], a través de la técnica de ELISA valoraron 181 animales reportando una

seroprevalencia de 37% así como en Italia de 34,6% en 1377 animales mediante la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta [20], los resultados obtenidos por Guarino y col. [20] son concordantes con los presentados en esta investigación. Por otra parte, Fujii y col. [17] al analizar sueros de 222 búfalos, reportan una seroprevalencia de 64% en la región sudeste de Brasil, igualmente que en Argentina, al evaluar 1024 búfalos se obtuvo una prevalencia de 64,9% en las provincias estudiadas [6]. Llama la atención que Gennari y col. [18], encontraron prevalencias más altas (70,9%) en 196 hembras bufalinas al norte del país, destacando el rol de este protozooario como posible agente causante de abortos en las regiones estudiadas. Las diferencias de seroprevalencias entre países, e incluso, entre regiones de los mismos países, pueden deberse a las distintas técnicas serológicas usadas, tamaño de muestra, diseños utilizados en el estudio, tipo de explotación de la finca, entre otras variables [13].

Estos hallazgos indican que las búfalos del municipio Colón del Edo. Zulia han estado expuestas al protozooario, ya sea por transmisión vertical u horizontal. En el primer caso, a pesar de ser la de mayor frecuencia en el ganado bovino, no está definido si es la ruta de transmisión más importante en búfalos, sin embargo hay estudios que sugieren una alta tasa de transmisión neonatal en esta especie [30]. En el caso de la vía horizontal, hasta ahora se ha demostrado que la ingestión de ooquistes esporulados presentes en el medio ambiente, es el único modo de infección natural en los bovinos después del nacimiento [8], además diversos estudios realizados en búfalos de agua, sugieren que la ingestión de ooquistes juega un papel importante en el mantenimiento de la infección en el rebaño [20]. También se ha demostrado experimentalmente la presencia del ADN del parásito en semen, leche y calostro [12]. En todas las fincas de este estudio se evidenció la presencia de perros, que pudiese ser un factor a considerar en la presencia de la enfermedad.

Asociación de la seroprevalencia con factores de riesgo

En relación al tipo de insumos de los perros alimentados con comida casera, casera más concentrado y desechos biológicos (restos de membranas fetales, placentas, fetos abortados, entre otros), se encontró que no hay una asociación estadística significativa ante la presencia de anticuerpos anti *N. caninum* y el tipo de alimentación de los cánidos de las fincas muestreadas.

TABLA I
SEROPREVALENCIA DE BÚFALAS A *N. caninum* SEGÚN LA FINCA ESTUDIADA

Finca	Muestras	Positivas	Negativas	Seroprevalencia %	Ji ²
A	68	22	46	32.3	P>0,05
B	41	8	33	19.5	
C	35	12	23	34.2	
D	30	11	19	36.6	
Total	174	53	121	30,4	

TABLA II
ASOCIACIÓN DEL TIPO DE ALIMENTACIÓN DE LOS PERROS (HOSPEDADORES DEFINITIVOS) Y LA SEROPREVALENCIA OBSERVADA

<i>Neospora Caninum</i>	Casero	Casero+ desechos biológicos	Casero + concentrado	Total	Ji ²
Positivos	22	20	11	53	P>0.05
Negativos	46	56	19	121	
Total	68	76	30	174	

TABLA III
ASOCIACIÓN DEL TIPO DE MONTA CON LA SEROPREVALENCIA OBSERVADA

<i>Neospora Caninum</i>	Natural controlada / I.A.	Natural no controlada con I.A.	Natural no controlada	Total	Ji ²
Positivos	30	11	12	53	P>0.05
Negativos	79	19	23	121	
Total	109	30	35	174	

TABLA IV
ASOCIACIÓN DE LA ATENCIÓN VETERINARIA CON LA SEROPREVALENCIA OBSERVADA

<i>Neospora Caninum</i>	Semanal	Quincenal	Permanente	Total	Ji ²
Positivos	12	8	33	53	P>0.05
Negativos	23	33	65	121	
Total	35	41	98	174	

TABLA V
ASOCIACIÓN DEL MANEJO DE DESECHOS BIOLÓGICOS CON LA SEROPREVALENCIA OBSERVADA

<i>Neospora Caninum</i>	Incineración	Enterrados	Desechados	Incinerados/ enterrados	Total	Ji ²
Positivos	22	8	12	11	53	P>0.05
Negativos	46	33	23	19	121	
Total	68	41	35	30	174	

Diferentes fueron los resultados de un estudio realizado en Canadá, en donde al analizar la variable “perros alimentados con placenta y fetos”, hallaron que existe un riesgo (OR= 2,75) de adquirir la infección al consumir estos desechos biológicos [34]. Esto se explica por el hecho de que si los perros, como hospedadores definitivos, ingieren formas infectivas en desechos biológicos, pueden adquirir la infección desarrollándose en ellos la fase de reproducción sexual del parásito y la posterior eliminación de ooquistes en sus heces [1].

Cuando los perros se encuentran excretando ooquistes esporulados en las heces, su presencia en las explotaciones bufalinas y bovinas pudiesen constituir un factor de riesgo, ya que actúan como fuente de infección para la transmisión horizontal de la neosporosis. En el año 2002, Dijkstra y col. [9] señalaron que, la defecación de los perros en silos, pasto, comederos y bebederos fue el factor que más se reportó en unidades de producción que mostraron infecciones postnatales en Estados Unidos. Aunque la transmisión venérea no se descartó,

y el ADN de *N. caninum* se ha encontrado en semen de toros naturalmente expuestos, al analizar el posible riesgo de infección de este microorganismo a través de monta natural o inseminación artificial, se encontró que no hubo asociación significativa. Microorganismos viables, a pesar de estar presentes en el semen, son pocos y en diversos estudios no se ha podido demostrar la transmisión por esta vía [15, 32].

Similar a los resultados de este estudio, se realizó uno en ganado vacuno productor de carne en Uruguay donde se determinó una seroprevalencia a *N. caninum* de 13,9% y al analizar la variable atención veterinaria (ausente, cuando se requiriera o permanente), no encontraron asociación entre la infección con el factor [2]. Tomando en cuenta que las funciones de la atención veterinaria a nivel de fincas consisten en mantener a los animales en buen estado de salud, a través de la acción directa y/o de campañas sanitarias y, mantener a través de sus recomendaciones un ambiente que propicie un buen control sanitario de los animales en su medio se estudió

esta variable con la finalidad de conocer si este factor influye en la presencia de anticuerpos a *N. caninum*, cuando su presentación en las fincas estudiadas era permanente o alternada, no encontrándose asociación entre la presencia o ausencia de atención veterinaria y la infección [23]. La responsabilidad del médico veterinario ha aumentado en la época actual dada la complejidad de las explotaciones pecuarias, sin embargo, aunque su presencia es importante para la salud y manejo en las mismas, parece no influir en la enfermedad [2].

Finalmente se determinó que tampoco existe una asociación entre el manejo de desechos biológicos y la seropositividad al parásito, hecho igualmente referido en una investigación realizada en México, en la cual, al analizar las fincas que no contaban con un programa para el manejo y disposición sanitaria de fetos abortados y desechos placentarios de otras que si lo aplicaban, no se observaron diferencias en ambos grupos [21]. Sin embargo, a pesar de que no fue posible asociar este tipo de práctica con la seroprevalencia en este estudio, no es concluyente el hecho de que la ausencia de un programa de manejo de desechos biológicos en la finca favorezca la ausencia de seropositividad al parásito. Los resultados de esta investigación no dan indicios de infección postnatal a *N. caninum* en los rebaños estudiados, si bien es de señalar que los perros que consumen desechos biológicos como placentas, fetos, entre otros con quistes del parásito, son capaces de infectarse y eliminar ooquistes esporulados en sus heces y a su vez, contaminar el medio ambiente [1], en este caso parece no haber influido en la transmisión del protozoario a pesar de que las cuatro fincas tenían presencia de hospedadores definitivos con acceso libre a los establos.

La presencia de anticuerpos anti *N. caninum* en las búfalas de este estudio pudiese estar influenciada por la transmisión vertical o congénita, como lo reporta Rodríguez y col. [30] donde manifiestan que la vía transplacentaria fue una importante vía de transmisión en esta especie, en un estudio realizado en búfalos de agua de diferentes edades, infectados natural y experimentalmente, en el que se midió la respuesta serológica a este protozoario.

Con ninguno de estos cuatro factores fue posible identificar asociación con la seroprevalencia a *N. caninum*. Es relevante detallar que no existen en la actualidad estudios sobre estos factores de manejo asociados a la prevalencia de infección por este parásito en búfalos, sin embargo, en otros rumiantes si se han reportado estudios, donde se hallaron asociaciones variables.

CONCLUSIONES

Se logró demostrar la detección serológica de anticuerpos anti *Neospora caninum* en búfalas del municipio Colón del estado Zulia a través de la técnica de ELISA. La seroprevalencia a la infección por *N. caninum* determinada en este trabajo fue moderada, donde las cuatro fincas evaluadas presentaron

animales seropositivos, lo cual indica que la enfermedad se encuentra ampliamente distribuida en las búfalas de la zona estudiada. No se encontró relación significativa entre la seropositividad al protozoario y las variables de manejo analizadas.

RECOMENDACIONES

Los hallazgos de esta investigación permiten recomendar la inclusión del descarte de *N. caninum* en los protocolos de diagnóstico diferencial de enfermedades abortivas de ganado bufalino. Se sugiere un control serológico de las hembras bufalinas para reposición, nacidas dentro de la finca o adquiridas y dejar para reemplazo solo búfalas seronegativas. Eliminar hembras seropositivas con repetición de abortos. Hay que destacar que la información respecto a esta enfermedad es escasa a nivel nacional en la especie estudiada (*Bubalus bubalis*), por lo que la implicación de este parásito en los problemas reproductivos que afectan estos rebaños ha sido poco estudiada. Los datos aquí presentados reflejan una parte muy discreta de la información requerida para el entendimiento completo de la participación de *N. caninum* en los problemas reproductivos de los búfalos del país, por lo que se requieren y recomiendan más estudios específicos a este respecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ANGULO, F.J. Principales endoparasitosis que afectan el desarrollo de hembras bovinas de reemplazo. En: **Manejo y cría de las novillas de reemplazo**. García Bracho D, González Stagnaro C. (Eds). Fundación Girarz. Ediciones Astro Data S.A. Maracaibo, Venezuela. Cuadernos Científicos Girarz 6. Pp 141-149. 2009.
- [2] BAÑALES, P.; FERNANDEZ, L.; REPISO, M.V.; GIL, A.; DARGATZ, D.A.; OSAWA, T. A nation wide survey on seroprevalence of *Neospora caninum* infection in beef cattle in Uruguay. **Vet. Parasitol.** 139: 15-20. 2006.
- [3] BERMÚDEZ, V.; CORDERO, F.; PÉREZ, G.; APARICIO, J.; PÉREZ, G. R.; MOSCARDI, A.; MORENO, J.; MORALES, A. Reporte de lesiones reproductivas, respiratorias y mastitis en búfalos venezolanos. **IV Simposio de Búfalos de las Américas**. Mérida, 10/22. Venezuela. Pp 363-366. 2008.
- [4] BJERKAS, I.; MOHN, S.F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Z. Parasitenkd.** 70: 271-274. 1984.
- [5] COIRÁN, D. El búfalo en Venezuela. **IV Simposio de Búfalos de las Américas**. Mérida, 10/22. Venezuela. Pp 09-10. 2008.
- [6] CRUDELY, G.; CAMPERO, C.M.; MOORE, D.P.; BENÍTEZ, D.; DRAGHI, G.; POLICH, D.; KONRAD, J.; CANO, D.; LEUNDA, M.R.; ARZENO, M.; ODEÓN, A. High prevalence of *Neospora caninum* antibodies in water buffa-

- loes (*Bubalus bubalis*) in ranches of Corrientes, Chaco and Formosa provinces, Argentina. **Ital. J. Anim. Sci.** 6: 945-947. 2007.
- [7] DAVISON, H.C.; OTTER, A.; TREES, A.J. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. **Int. J. Parasitol.** 29: 1683-1689. 1999.
- [8] DE MAREZ, T.; LIDDELL, S.; DUBEY, J.P.; JENKINS, M.C.; GASBARRE, L. Oral infections of calves with *Neospora caninum* oocyst from dogs: humoral and cellular immune responses. **Int. J. Parasitol.** 29: 1647-1657. 1999.
- [9] DIJKSTRA, T.; BRKEMA, J.W.; EYSKER, M.; HESSELINK, J.W.; WOUDA, W. Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farms dogs and cattle. **Vet. Parasitol.** 105 (2): 99-104. 2002.
- [10] DUBEY, J.P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Vet. Parasitol.** 84: 349-367. 1999.
- [11] DUBEY, J.P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **Korean J. Parasitol.** 41(1):1-16. 2003.
- [12] DUBEY, J.P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L.M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. **Clin. Microbiol.** 180: 90-108. 2007.
- [13] DUBEY, J.P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals-The last five years. **Vet. Parasitol.** 180:90-108. 2011.
- [14] ESCALONA, J.; GARCÍA, F.; MOSQUERA, O.; VARGAS, F.; CORRO, A. Factores de riesgo asociados a la prevalencia de Neosporosis bovina en el Municipio Bolívar del estado Yaracuy, Venezuela. **Zoot. Trop.** 28(2):201-211. 2010.
- [15] FERRE, I.; ADURIZ, G.; DEL POZO, I.; REGIDOR-CERRILLO, J.; ATXAERANDIO, R.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; HURTADO, A.; UGARTE-GARAGALZA, C.; ORTEGA-MORA, L.M. Detection of *Neospora caninum* in the semen and blood of naturally infected bulls. **Theriogenol.** 63:1504-1518. 2005.
- [16] FUENMAYOR, W. Atlas Estado Zulia. Síntesis socio histórico, cultural y geográfico. 5ta. Ed. Editorial Splanos C.A. Pp 110-113. 2005.
- [17] FUJII, T.U.; KASAI, N.; NISHI, S. M.; DUBEY, J.P.; GENNARI, S.M. Seroprevalence of *N. caninum* in female water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the south eastern region of Brazil. **Vet. Parasitol.** 99:331-334. 2001.
- [18] GENNARI, M.S.; RODRÍGUEZ, A.; VIANA, B.R.; CARDOSO, C.C. Occurrence of anti *Neospora caninum* antibodies in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the northern región of Brazil. **Vet. Parasitol.** 134:169-171. 2005.
- [19] GONDIM, L.F.P.; MC ALLISTER, M.; PITT, C.W.; ZEMLIČKA, E.D. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive host of *N. caninum*. **Vet. Parasitol.** 34:159-161. 2004.
- [20] GUARINO, A.; FUSCO, G.; SAVINI, G.; DI FRANCESCO, G.; CRINGOLI, G. Neosporosis in water buffalo (*Bubalus bubalis*) in southern Italy. **Vet. Parasitol.** 91(1-2): 12-21. 2000.
- [21] GUTIÉRREZ, J.J.; CRUZ-VÁZQUEZ, C.; MEDINA, L.; VALDIVIA, A.; ISLAS, O. E.; GARCÍA, Z. Factores de manejo asociados con la seroprevalencia a la infección por *Neospora caninum*, en ganado lechero de Aguascalientes, México. **Vet. Méx.** 38(003): 261-270. 2007.
- [22] HAJIKOLAEI, M.R.H.; GORANINEJAD, S.; HAMIDINEJAT, H.; GHORBANPOUR, M.; PARYAB, R. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the south-western región of Irán. **Bull. Vet. Inst. Pulawy.** 51:233-235. 2007.
- [23] HOOPER, B. Exploring the foundations of population health and preventive medicine as essential elements for veterinary education. **Prev. Vet. Med.** 86 (3-4):179-187. 2008.
- [24] JARA, J.V.; CHÁVEZ, A.V.; CASAS, E.A.; SÁNCHEZ, N.P.; MORENO-LÓPEZ, J.; MALIK, M. Determinación de anticuerpos contra *Neospora caninum* en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) en la Amazonía Peruana. **Rev. Inv.** 22 (1):61-65. 2011.
- [25] KING, J.S.; SLAPETA, J.; JENKINS, D.J.; AL-QASSAB, S.E.; ELLIS, J.T.; WINDSOR, P.A. Australian dingoes are definitive host of *Neospora caninum*. **Int. J. Parasitol.** 40: 945-950. 2010.
- [26] LINDSAY, D.; DUBEY, J.P.; DUNCAN, R. Confirmation that the dog is a definitive host for *N. caninum*. **Vet. Parasitol.** 82:327-333. 1999.
- [27] LISTA, A.D.; PALOMARES, N. R.; GARCÍA, F. O.; ARRIETA, D.; HOET, A. Serological evidence of *Neospora caninum* in dual purpose cattle herds in Venezuela. **Vet. Parasitol.** 136:3-4:347-349. 2006.
- [28] MINISTERIO DEL PODER POPULAR PARA LA AGRICULTURA Y TIERRAS. VII Censo Agrícola. 2007. En Línea: <http://www.censoagropecuario.cl/informe.pdf>. 03/11/2007.
- [29] MOORE, D.P.; ODEÓN, A.C.; CAMPERO, C.M. Neosporosis bovina: una actualización. **Rev. Vet. Argentina.** 18(180):752-775. 2001.
- [30] RODRIGUES, A.; GENNARI, S.M.; AGUIAR, D.M.; SCREEKUMAR, C.; HILL, D.E.; MISKA, K.B.; VIANNA, M.C.B.; DUBEY, J.P. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed tissues from naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Brazil. **Vet. Parasitol.** 124:139-150. 2004.
- [31] SCHARES, G.; PETERS, M.; WURM, R.; BÄRWALD, A.; CONRATHS, F. J. The efficiency of vertical transmission

- of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. **Vet. Parasitol.** 80:87-98. 1998.
- [32] SERRANO, E.; FERRE, I.; OSORO, K.; ADURIZ, G.; MOTA, R.; MARTÍNEZ, A.; DEL POZO, I.; HIDALGO, C.; ORTEGA-MORA, L. Intrauterine *Neospora caninum* inoculation of heifers and cows using contaminated semen with different numbers of tachyzoites. **Theriogenol.** 67:729-737. 2007.
- [33] SPSS PARA WINDOWS. Version 9.0. Chicago, Illinois. 2005.
- [34] VANLEEUWEN, J.A.; HADDAD, J.P.; DOHOO, I.R.; KEEFE, G.P.; TIWARI, A.; SCOTT, H.M. Risk factors associated with *Neospora caninum* seropositivity in randomly sampled Canadian dairy cows and herds. **Prev. Vet. Med.** 93:129-138. 2010.