

Detección de anticuerpos a *Neospora caninum* en perros de las zonas urbana, periurbana y rural del valle central de Costa Rica

Juan José Romero Zúñiga¹*, Gaby Dolz Wiedner², Ana Jiménez Rocha³, Paola Palavicini López⁴ y Warren Hidalgo Jara⁵

- 1 Programa de Investigación en Medicina Poblacional. Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional.
- 2 Programa de Investigación en Enfermedades Tropicales. Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional. E-mail: gdolz@medvet.una.ac.cr
- 3 Laboratorio de Parasitología. Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica. E-mail: anaj@medvet.una.ac.cr
- 4 Laboratorios Virbac Costa Rica S.A. E-mail: ppalavicini@virbac.com
- 5 Ministerio de Agricultura y Ganadería. Dirección de Salud Animal. Costa Rica. E-mail: whidalgo@proteconet.go.cr

ABSTRACT

To describe some traits of neosporosis in Costa Rican dogs, a cross sectional study was carried out to determine the presence/absence of *N. caninum* antibodies. Eighty nine dogs from dairy farms, 65 kennel dogs and 94 from veterinary clinics from urban, periurban and rural areas in the central valley region were sampled. The percentages of seropositivity were corrected by the characteristics of the cELISA used as diagnostic test. A total of 60 samples resulted positive, but after the correction the amount changed to 57. According to the provenance, the percentages of seropositivity of the sampled dogs were 13.6%, 23.2% and 29.9% from urban, peri urban and rural areas, respectively. Besides, 12.3%, 22.3% and 31.5% of sampled dogs from kennels, veterinary clinics and farms, respectively, tested positive. Dogs from rural areas, from farms, over 9 months old and those in contact with bovines had higher possibilities of testing seropositive. This study proves that neosporosis is a highly prevalent infection in dogs from urban, peri urban and rural areas of Costa Rica.

Keywords: *Dogs, neosporosis, urban area, rural area, dairy farm, Costa Rica.*

RESUMEN

Con el objetivo de describir algunos aspectos de la neosporosis en perros de Costa Rica, se realizó un estudio para determinar la presencia/ausencia de anticuerpos contra *N. caninum* en perros de las zonas urbana, periurbana y rural de la meseta central, procedentes de fincas lecheras (n=89), criaderos (n=65) y clínicas veterinarias (n=94). Los porcentajes de seropositividad obtenidos en el estudio fueron corregidos por las características del cELISA utilizado como prueba diagnóstica. Un total de 60 muestras resultaron positivas, que posterior a la corrección quedó en 57. Respecto a la procedencia, resultaron positivos el 13.6%, 23.2% y 29.9% de los perros muestreados en las zonas urbana, periurbana y rural, respectivamente. Asimismo, según el origen, fueron positivos, en su orden, el 12.3%, 22.3% y 31.5% de los perros de criaderos, clínicas y fincas. Los perros provenientes de la zona rural, los que viven en fincas, los mayores a 9 meses y los que tienen contacto con bovinos, presentaron mayor posibilidad de seropositividad. Este estudio demuestra que la neosporosis es una infección de alta prevalencia en perros de zonas urbana, periurbana y rural de Costa Rica.

Palabras claves: *Perros, neosporosis, área urbana, área rural, finca lechera, Costa Rica.*

Recibido: 21 de febrero del 2007

Aceptado: 03 de abril del 2008

* Autor para correspondencia: telefax: (506) 2260-2155. Apdo. postal: 304-3000 Heredia, Costa Rica. E-mail: jromero@medvet.una.ac.cr

INTRODUCCIÓN

La neosporosis es una infección parasitaria producida por el protozoo *Neospora caninum*, que afecta a una gran variedad de hospedadores intermedarios (Dubey, 1999), cuyos hospedadores definitivos son el perro y el coyote (McAllister *et al.*, 1998; Gondim *et al.*, 2004), aunque pueden actuar también como hospedadores intermedarios. Esta infección ocasiona, sobre todo, pérdidas fetales en bovinos, mientras que en perros se reporta el nacimiento de camadas débiles y cachorros con problemas neurológicos (Dubey, 1999).

El ciclo biológico de la neosporosis ha sido bien elucidado (McAllister *et al.*, 1998; Dubey, 1999); sin embargo, la importancia que tiene la infección por la vía horizontal, a partir de la ingestión de oocistos excretados en las heces por los perros, no ha sido determinada; más bien, existe cierta controversia debido a que hay pocos estudios que documenten la presencia de estas formas parasitarias en heces de perros infectados de forma natural (Basso *et al.*, 2001; Slapeta *et al.*, 2002; McGarry *et al.*, 2003), así como se desconocen la frecuencia con que ocurre la excreción de los oocistos y la dosis infectante para los bovinos.

Varios estudios serológicos realizados en perros, alrededor del mundo, han reportado neosporosis en animales de zonas urbanas, periurbanas y rurales, siendo en estas últimas en las que se observó la mayor seroprevalencia (Basso *et*

al., 2001; Antony & Williamson, 2003; Kim *et al.*, 2003; Fernandes *et al.*, 2004; Wanha *et al.*, 2005; Aguiar *et al.*, 2006; Hornok *et al.*, 2006). En Costa Rica se ha documentado la presencia de *N. caninum* en bovinos de fincas especializadas de las principales áreas lecheras (Pérez *et al.*, 1998), reportándose altas seroprevalencias tanto en el hato como en forma individual (Romero *et al.*, 2002, 2005). Como parte de ese mismo estudio, se reportó la presencia de entre 2 y 14 perros por finca, existiendo tendencia a mayor seropositividad del hato en fincas con la mayor cantidad de perros; sin embargo, el estatus serológico de los perros no fue determinado en ese momento. Posteriormente, Palavicini *et al.* (2007) determinaron la presencia de anticuerpos anti-*N. caninum* en 15 de 31 perros analizados en las mismas fincas del estudio de Romero *et al.* (2002). Asimismo, mediante la técnica de PCR, detectaron ADN de *N. caninum* en 4 de 256 muestras fecales correspondientes a esos 31 perros.

Este estudio tiene por objetivo establecer la presencia/ausencia de anticuerpos anti-*Neospora caninum*, en perros de las zonas urbana, periurbana y rural de Costa Rica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio, tamaño y origen de la muestra

Para determinar la presencia/ausencia de anticuerpos contra *N. caninum*, se

tomaron muestras a perros de zonas urbana, periurbana y rural de la zona central de Costa Rica. Los perros fueron clasificados, según su origen, en: que fue tomada la muestra como procedentes de fincas veterinarias o criaderos.

Se usó un banco de muestras de perros, seleccionados con el fin de determinar la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* y *B. canis* (Hidalgo *et al.*, 2007) trabajó con muestras de 31 perros procedentes de 20 fincas de la zona rural de Cartago. Sin embargo, 65 pertenecientes a 10 fincas de las mismas áreas y 94 que eran de la zona urbana del área metropolitana de San José. Los perros de las fincas eran utilizados para el control de salud y los de las zonas urbanas eran utilizados para el control de salud y los de las zonas urbanas eran utilizados para el control de salud.

El tamaño de la muestra de perros fue de 156, dividido en tres grupos de procedencia: 31 por grupo de procedencia, 31 por grupo de procedencia y 94 por grupo de procedencia. Este estudio se realizó en el año 2005 y se utilizó un método de diagnóstico serológico para determinar la presencia/ausencia de anticuerpos anti-*Neospora caninum*, sobre una muestra de un 5% y un 10% de los perros. Sin embargo, no fue suficiente para determinar la seroprevalencia, por lo que se realizó un estudio de diagnóstico serológico para determinar la presencia/ausencia de anticuerpos anti-*Neospora caninum*.

Tamaño y manipulación de las muestras.

Las muestras de sangre de los perros fueron almacenadas a 4°C hasta su uso.

tomaron muestras a perros de las zonas urbana, periurbana y rural de la meseta central de Costa Rica. Los perros fueron clasificados, según el lugar en que fue tomada la muestra de sangre, como procedentes de fincas, clínicas veterinarias o criaderos.

Se usó un banco de sueros caninos colectados con el fin de determinar la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* y *B. canis* (Hidalgo, 2004). Se trabajó con muestras de 248 perros: 89 procedentes de 20 fincas de las zonas norte de Cartago, San José y Heredia; 65 pertenecientes a 10 criaderos de estas mismas áreas y 94 que eran llevados, para el control de salud, a 10 clínicas veterinarias del área metropolitana. Todos los perros de los criaderos eran de raza pura, nacieron en el mismo establecimiento y eran utilizados para la reproducción.

El tamaño de la muestra utilizado en el estudio de brucelosis (mínimo 45 perros por grupo de procedencia) resultó ser suficiente para determinar la presencia/ausencia de anticuerpos anti-*Neospora caninum*, sobre una prevalencia esperada de un 5% y un 95% de confianza; sin embargo, no fue suficiente para determinar la seroprevalencia, por lo tanto, en este estudio se discutirá en términos de porcentajes de animales seropositivos y no de seroprevalencia.

Toma y manipulación de la muestra

Las muestras de sangre fueron tomadas de la vena cefálica utilizando agujas

estériles #22 x 1.5" y tubos al vacío de 10cc sin anticoagulante (Vacutainer®). Las muestras fueron trasladadas en hieleras desde el lugar de la toma hasta el laboratorio, a una temperatura entre 4 y 7 °C dentro de las 8 horas posteriores a la toma y centrifugadas a 4000 r.p.m. durante 8 minutos, para luego separar los sueros y almacenarlos a -20 °C hasta su análisis. Las muestras fueron descongeladas a temperatura controlada en ambiente de laboratorio solo antes de ser procesadas. Este proceso se realizó en los laboratorios de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (EMV-UNA), donde también se realizó la prueba de diagnóstico.

Diagnóstico

La presencia de anticuerpos contra *N. caninum* se realizó mediante un ensayo inmunoenzimático de tipo competitivo (cELISA) de la casa VMRD®. El uso de esta prueba fue extraetiqueta, pues no ha sido validada para su uso en sueros de canino; sin embargo, Cappelli *et al.* (2006) evaluaron la prueba en sueros de perros, estableciendo valores de sensibilidad y especificidad de 72.0% y 89.3%, respectivamente.

El valor umbral para el cELISA fue un porcentaje de inhibición del 30%, tal como lo indica el fabricante.

Análisis de los datos

Se calculó el porcentaje crudo de animales seropositivos; asimismo, debido

al uso extraetiqueta del cELISA, y reconociendo la posibilidad de posibles errores de clasificación en el estatus serológico de los perros, se corrigieron las frecuencias absolutas y relativas de animales seropositivos tomando como base la sensibilidad y la especificidad de la prueba determinada por Capelli *et al.* (2006). Estos cálculos se hicieron por medio del programa WinEpiscope (Thrusfield *et al.*, 2001).

Utilizando las frecuencias corregidas, y mediante tablas de 2x2 realizadas en el programa WinEpiscope (Thrusfield *et al.*, 2001), se obtuvieron las razones de posibilidad (odds ratio=OR) con sus respectivos intervalos de confianza al 95%, para los factores: zona de procedencia (rural, urbana, periurbana), origen (finca, criadero, casa), talla (pequeña, mediana, grande), edad (< 9 meses, 9-24 meses, > 24 meses), sexo (macho/hembra) y contacto con bovinos (sí/no). Adicionalmente, para comprobar diferencias entre porcentajes, se realizaron pruebas de diferencia de proporciones basadas en dos muestras, con una confianza del 95%, utilizando el programa Infostat (Universidad Nacional de Córdoba).

RESULTADOS

De las 248 muestras procesadas, 60 resultaron positivas a *Neospora caninum*, para un porcentaje de muestras positivas de 24.2%. Una vez aplicada la corrección por la sensibilidad y especificidad de la prueba, el más probable

número de muestras positivas fue 57, para un porcentaje corregido de muestras positivas de 23.0%.

Independientemente de la zona de procedencia de los perros, hubo presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en las zonas urbana, periurbana y rural, siendo 13.6%, 23.2% y 29.9%, respectivamente, existiendo diferencia significativa únicamente entre la zona urbana y la rural. Por otra parte, hubo diferencia en el porcentaje de animales seropositivos de los criaderos (12.3%) respecto a los de fincas (31.5%); no así con el de perros de clínicas veterinarias (22.3%) que no mostraron diferencia con aquellos de los otros lugares (Cuadro 1).

Los perros de talla pequeña presentaron el menor porcentaje de animales positivos (16.8%), seguido de los de talla grande (20.9%), mientras que los de talla mediana fueron los de mayor frecuencia de seropositividad (32.8%). Según la edad, los animales menores de 9 meses presentaron una marcada baja seroprevalencia (7.5%) en contraste con los animales mayores ($p < 0.05$). No hubo diferencias en el porcentaje de seropositividad según el sexo. Hubo diferencia altamente significativa entre los porcentajes de seropositividad entre los perros en contacto con bovinos (61.4%) y los que no lo estaban (11.5%) (Cuadro 1).

Los factores asociados con el estatus serológico positivo de los perros, identificados en este estudio fueron: 1) proceder de

zona rural (OR= 2.7, IC 95% 1.1-6.6), 2) vivir en una finca (OR= 3.3, IC 95% 1.4-7.8), 3) ser de talla mediana (OR= 2.4, IC 95% 1.2-5.1), 4) ser mayor a 9 meses de edad (OR= 3.5, IC 95% 1.0-12.3) y 5) haber tenido o mantener contacto con bovinos, el cual resultó tener la mayor fuerza de asociación (OR= 12.2, IC 95% 6.1-24.5) (Cuadro 1).

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio demuestran la existencia, en Costa Rica, de perros seropositivos a *N. caninum* en altos porcentajes independientemente de su procedencia. Los porcentajes de seropositividad global, así como los específicos por zona de procedencia y origen, están dentro del rango reportado en otros estudios, que abarca desde 1% (Hornok *et al.*, 2006) hasta 37.8% (Basso *et al.*, 2001). Una limitante de gran importancia en este estudio, es el uso de un cELISA que no es específico para caninos y con valores bajos de sensibilidad y especificidad (Capelli *et*

al., 2006); sin embargo, dada la alta prevalencia aparente, una vez hechas las correcciones según las características de la prueba, no hubo diferencias sustanciales entre las frecuencias absolutas y relativas de perros seropositivos antes y después de la corrección. Por eso, y a pesar de la inexactitud de la prueba, es posible afirmar que la neosporosis se distribuye en las zonas urbana, periurbana y rural de Costa Rica, de la misma manera que ha sido reportada en otros estudios, tanto de América como de Europa, Asia y Oceanía (Basso *et al.*, 2001; Antony & Williamson, 2003; Kim *et al.*, 2003; Fernandes *et al.*, 2004; Wanha *et al.*, 2005; Aguiar *et al.*, 2006; Hornok *et al.*, 2006). A pesar de que la corrección de los resultados de la serología por las características de la prueba es una buena opción para lograr una estimación más certera, no es muy recomendable utilizar el cELISA para el diagnóstico individual de perros, sino para el estudio en el ámbito poblacional.

Cuadro 1
Seroprevalencia a *N. caninum* y razón de posibilidades (OR) en perros de las zonas urbana, periurbana y rural del valle central de Costa Rica (análisis univariado)

Variable	Estrato	Total	# positivas (n corregido)	%*	OR	IC 95%
Zona	Urbana	59	11 (8)	13.6 ^a	-	-
	Periurbana	112	27 (26)	23.2 ^{ab}	1.9	0.8 - 4.6
	Rural	77	22 (23)	29.9 ^b	2.7	1.1 - 6.6
Origen	Criadero	65	12 (8)	12.3 ^a	-	-
	Clínica	94	22 (21)	22.3 ^{ab}	2.1	0.9 - 5.0
	Finca	89	26 (28)	31.5 ^b	3.3	1.4 - 7.8
Talla	Pequeña	89	18 (15)	16.8 ^a	-	-
	Mediana	73	22 (24)	32.8 ^b	2.4	1.2 - 5.1
	Grande	86	20 (18)	20.9 ^{ab}	1.3	0.6 - 2.8
Edad (meses)	< 9	40	5 (3)	7.5 ^a	-	-
	9 - 24	105	25 (23)	21.9 ^b	3.5	1.0 - 12.3
	> 24	103	30 (31)	30.1 ^b	5.3	1.5 - 18.5
Sexo	Femenino	129	28 (25)	19.3 ^a	-	-
	Masculino	119	32 (32)	26.8 ^a	1.5	0.8 - 2.8
Contacto con bovinos	No	191	33 (22)	11.5 ^a	-	-
	Sí	57	27 (35)	61.4 ^b	12.2	6.1 - 24.5

*Se reportan los porcentajes corregidos por la sensibilidad y la especificidad del cELISA en perros, según Capelli *et al.* (2006).

Las letras indican la existencia de diferencia estadística entre los estratos basados en valor α de 0.05 como estadístico de prueba en cada columna (chi cuadrado).

Según el ciclo de vida del parásito, descrito por Dubey (1999), los perros pueden adquirir la infección de manera trasplacentaria (vía vertical), así como por la ingestión de tejidos de origen bovino contaminados por el parásito (vía horizontal). Así, es muy probable que los perros de zonas rurales y especialmente de fincas, que están más expuestos al contacto con vacas, presenten una mayor seroprevalencia y tengan mayor riesgo de seropositividad, tal y como se confirmó en el presente estudio. Estos resultados concuerdan con estudios realizados en Argentina (Basso *et al.*, 2001), Nueva Zelanda (Antony & Williamson, 2003), Korea (Kim *et al.*, 2003), Brasil (Fernandes *et al.*, 2004; Aguiar *et al.*, 2006), Austria (Wanha *et al.*, 2005) y Hungría (Hornok *et al.*, 2006), en los que los perros de las zonas rurales y de las fincas, presentaron mayores seroprevalencias respecto a los de las zonas urbanas o periurbanas.

Es claro que las seroprevalencias encontradas tanto en perros de la zona urbana, como los de criadero o los que son llevados a alguna clínica veterinaria, son más altas que las reportadas en otros estudios (Basso *et al.*, 2001; Fernandes *et al.*, 2004; Wanha *et al.*, 2005); sin embargo, la diferencia podría estar en la alta posibilidad de acceso que los perros de Costa Rica tienen a los potreros, que los niveles de seroprevalencia en las vacas son más altos y la carne bovina es un alimento frecuente para los perros costarricenses.

Al igual que en otros estudios (Basso *et al.*, 2001; Antony & Williamson, 2003; Kim *et al.*, 2003; Fernandes *et al.*, 2004; Wanha *et al.*, 2005; Aguiar *et al.*, 2006), los perros pertenecientes a fincas lecheras o que provienen de zonas rurales presentaron mayor riesgo de ser seropositivos. Por otra parte, es probable que los perros mayores de 9 meses tuvieron un riesgo incrementado de seropositividad, debido a que tienen mayor posibilidad de ir en busca de comida en los potreros de las fincas, son sexualmente más activos y por haber tenido más tiempo de exposición al parásito. Este dato concuerda con el estudio de Capelli *et al.* (2006), cuyos resultados demuestran que conforme aumenta la edad, mayor es el riesgo a la infección.

La asociación entre el origen y la procedencia de los perros con seropositividad podría tener su explicación en que los de las fincas tienen la posibilidad de ingerir carne de bovino infectada, ya sea por animales sacrificados o por fetos muertos disponibles en el campo, como lo reportan Palavicini *et al.* (2007). Es también altamente probable que algunos de los perros provenientes de clínicas y criaderos (o sus ancestros) hayan sido alimentados con carne de bovino que estuviera infectada con quistes del parásito, provocando así la infección por la vía "horizontal" y otros que, por medio de la transmisión vertical, pudieron mantener la infección en su línea familiar; aunque esta ruta de transmisión no es tan altamente eficiente como en las vacas (Barber

& Trees, 1998). Esta hipótesis cobra mayor importancia si se toma en cuenta que en Costa Rica se han demostrado altas seroprevalencias de *N. caninum* en bovinos de lechería (Romero *et al.*, 2002, 2005). Otra posibilidad, aunque de menor importancia, es que perros importados, especialmente para los criaderos, hayan traído el parásito desde su país de origen y la infección se haya mantenido por transmisión vertical, argumento que se sustenta en que la infección ha sido documentada en prácticamente todos los países donde se ha buscado la infección en perros.

CONCLUSIONES

Este estudio demuestra que la neosporosis es una infección de alta prevalencia en perros de zonas urbana, periurbana y rural de Costa Rica, siendo esta última en la que se presenta el mayor porcentaje de animales seropositivos, influenciado fuertemente por la presencia de perros de finca dentro del grupo de los animales de zona rural.

Es importante, tanto para médicos veterinarios de zonas rurales como de urbanas, tomar en cuenta la posibilidad de la infección por *N. caninum* en perros, de modo que incluyan esta enfermedad entre sus probables diagnósticos, especialmente en los casos de camadas pequeñas, débiles o con problemas neuromusculares (Dubey, 2003). Asimismo, es importante, para los médicos veterinarios que atienden fincas de bovinos, reconocer la posibili-

dad de que los perros de la finca tengan el parásito, para lo cual el diagnóstico serológico, unido a prácticas de manejo adecuadas, podrían tener un efecto positivo reduciendo la posibilidad de infección en el hato bovino.

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este estudio agradecen de manera especial a los finqueros, dueños de criaderos, médicos veterinarios de clínicas y a los propietarios de los perros, quienes en todo momento colaboraron. Por último, agradecemos a Érika Valverde Altamirano por su valioso aporte en la revisión de estilo de este manuscrito.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar, D.M., G.T. Cavalcante, A.A. Rodrigues, M.B. Cabruna, L.M. Camargo, E.P. Camargo & S.M. Gennari. 2006. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors. *Vet. Parasitol.* 142:71-77.
- Antony, A. & N.B. Williamson. 2003. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs of rural or urban origin in central New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 51:232-237.
- Basso, W., L. Venturini, M.C. Venturini, P. Moore, M. Rambeau, J.M.

- Unzaga, C. Campero, D. Bacigalupe & J.P. Dubey. 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.
- Barber, J.S. & A.J. Trees. 1998. Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. *Int. J. Parasitol.* 28:57-64.
- Basso, W., L. Venturini, M.C. Venturini, D.E. Hill, O.C. Kwok, S.K. Shen & J.P. Dubey. 2001. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. *J. Parasitol.* 87(3):612-618.
- Capelli, G., S. Nardelli, A.F. di Regalbano, A. Scala & M. Pietrobelli. 2004. Sero-epidemiological survey of *Neospora caninum* infection in dogs in north-eastern Italy. *Vet. Parasitol.* 123:143-148.
- Capelli, G., A. Natale, S. Nardelli, A. Frangipane di Regalbano & M. Pietrobelli. 2006. Validation of a commercially available cELISA test for canine neosporosis against an indirect fluorescent antibody test (IFAT). *Prev. Vet. Med.* 73:315-320.
- Dubey, J.P. 1999. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet. Parasitol.* 84:349-367.
- Dubey, J.P. 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J. Parasitol.* 41:1-16.
- Fernandes, B.C., S.M. Gennari, S.L. Souza, J.M. Carvalho, W.G. Oliveira & M.C. Cury. 2004. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs from urban, periurban and rural areas of the city of Uberlandia, Minas Gerais-Brazil. *Vet. Parasitol.* 123:33-40.
- Gondim, L.F., M.M. McAllister, W.C. Pitt & D.E. Zemlicka. 2004. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 34:159-161.
- Hidalgo, W. 2004. Determinación de la seroprevalencia de anticuerpos contra *Brucella canis* y *Brucella abortus* en tres poblaciones caninas del valle central de Costa Rica. Tesis. Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional. Costa Rica.
- Hornok, S., R. Edelhofer, E. Fok, K. Berta, P. Fejes, A. Repasi & R. Farkas. 2006. Canine neosporosis in Hungary: screening for seroconversion of household, herding and stray dogs. *Vet. Parasitol.* 137:197-201.
- Infostat® 1.1. 2002. Universidad Nacional de Córdoba: Estadística y Diseño (F.C.A.).

- McAllister, M.M., J.P. Dubey, D.S. Lindsay, W.R. Jolley, R.A. Wills & A.M. McGuire. 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int. J. Parasitol. 28:1473-1478.
- McGarry, J.W., C.M. Stockton, D.J. Williams & A.J. Trees. 2003. Protracted shedding of oocysts of *Neospora caninum* by a naturally infected foxhound. J. Parasitol. 89:628-630.
- Kim, J.H., M.S. Kang, B.C. Lee, W.S. Hwang, C.W. Lee, B.J. So, J.P. Dubey & D.Y. Kim. 2003. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs and raccoon dogs in Korea. Korean J. Parasitol. 41:243-245.
- Palavicini, P., J.J. Romero, G. Dolz, A.E. Jiménez, D.E. Hill & J.P. Dubey. 2007. Fecal and serological survey of *Neospora caninum* in farm dogs in Costa Rica. Vet. Parasitol. 149:265-270.
- Pérez, E., O. González, G. Dolz, J.A. Morales, B. Barr & P.A. Conrad. 1998. First report of bovine neosporosis in dairy cattle in Costa Rica. Vet. Rec. 142:520-521.
- Romero, J.J., E. Pérez, G. Dolz & K. Frankena. 2002. Factors associated with *Neospora caninum* serostatus in cattle of 20 specialised Costa Rican dairy herds. Prev. Vet. Med. 53:263-273.
- Romero, J.J., S.V. Breda, B. Vargas, G. Dolz & K. Frankena. 2005. Effect of neosporosis on productive and reproductive performance of dairy cattle in Costa Rica. Theriogenology. 64:1928-1939.
- Slapeta, J.R., D. Modry, I. Kyselova, R. Horejs, J. Lukes & B. Koude-la. 2002. Dog shedding oocysts of *Neospora caninum*: PCR diagnosis and molecular phylogenetic approach. Vet. Parasitol. 109:157-167.
- Thrusfield, M., C. Ortega, I. de Blas, J.P. Noordhuizen & K. Frankena. 2001. WIN EPISCOPE 2.0: improved epidemiological software for veterinary medicine. Vet. Rec. 148:567-572.
- VMRD, Inc. 2005. 2005 Catalog: veterinary diagnostic test kits and reagents. VMRD, Inc. USA.
- Wanha, K., R. Edelhofer, C. Gabler-Eduardo & H. Prosl. 2005. Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs and foxes in Austria. Vet. Parasitol. 128:189-193.