

**Carácter del artículo:** Investigación original

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

**Autores:**

**Juan José Romero Zúñiga. MV. PhD.**  
Programa de Investigación en Medicina Poblacional.  
Escuela de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional.  
E-mail: jromero@medvet.una.ac.cr.

**Gaby Dolz Wiedner. MV. PhD.**  
Programa de Investigación en Enfermedades Tropicales.  
Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional.  
E-mail: gdolz@medvet.una.ac.cr.

**Ana Jiménez Rocha. MSc.**  
Laboratorio de Parasitología. Escuela de Medicina Veterinaria,  
Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica.  
E-mail: anaj@medvet.una.ac.cr.

**Paola Palavicini López. MV.**  
Laboratorios Virbac Costa Rica S.A.  
E-mail: ppalavicini@virbac.com

**Warren Hidalgo Jara. MSc.**  
Ministerio de Agricultura y Ganadería. Dirección de Salud Animal.  
Costa Rica. E-mail: whidalgo@protecnet.go.cr

\* Autor para correspondencia  
Apdo. postal: 304-3000 Heredia.  
Heredia, Costa Rica  
Telefax: (506) 260-2155.

## 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, peri urban 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, peri urbana 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, peri urbana y rural, respectivamente. Asimismo, según el origen, fueron positivos, en su orden, el 12.3%, 22.3% y 31.5% de los perros de criadero, clínica y finca. 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, peri urbana y rural de Costa Rica.

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

## INTRODUCCION

La neosporosis es una infección parasitaria producida por el protozoo *Neospora caninum*, que afecta a un gran variedad de hospedadores intermediarios (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 intermediarios. 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 *et al.*, 1999).

El ciclo biológico de la neosporosis ha sido bien elucidado (McAllister *et al.*, 1998; Dubey *et al.*, 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, peri urbanas y rurales, siendo en éstas últimas en las que se observó la mayor seroprevalencia (Basso *et al.*, 2001; Antony & Williamson, 2003; Kim *et al.*, 2003; Fernández *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 a nivel de hato e 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* de 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 Costa Rica.

## **MATERIALES Y METODOS**

### **Población de estudio, tamaño y origen de la muestra**

Para determinar la presencia/ausencia de anticuerpos contra *N. caninum*, se tomó muestras a perros de las zonas urbana, peri urbana 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 finca, clínica veterinaria o criadero.

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 dentro de esta misma área 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 muestra utilizado en el estudio de brucelosis (mínimo 45 perros por grupo de procedencia) resultó ser suficiente para determinar presencia/ausencia de anticuerpos anti-*Neospora*, sobre una prevalencia esperada de 5% y un 95% de confianza; sin embargo, no fue suficiente para determinar la seroprevalencia, por 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 extra etiqueta pues no ha sido validada para su uso en sueros de canino; sin

embargo, Capelli *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 extra etiqueta del c-ELISA, 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 determinados 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 (pequeño, mediano, grande), edad (< 9 meses, 9-24 meses, > 24 meses), sexo (macho/hembra) y contacto con bovinos (si/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 la zona urbana, peri urbana 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 finca (31.5%); no así con el de perros de clínica veterinaria (22.3%) que no mostraron diferencia con los otros de los otros lugares (Cuadro1).

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, IC95% 1.1-6.6), 2) vivir en una finca (OR= 3.3, IC95% 1.4-7.8), 3) ser de talla mediana (OR= 2.4, IC95% 1.2-5.1), 4) ser



mayor a 9 meses de edad (OR= 3.5, IC95% 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, IC95% 6.1-24.5) (Cuadro 1).

## **DISCUSION**

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 ELISA competitivo 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 reportado en otros estudios, tanto de América como de Europa, Asia y Oceanía (Basso *et al.*, 2001; Antony & Williamson, 2003; Kim *et al.*, 2003; Fernández *et al.*, 2004; Wanha *et al.*, 2005; Aguilar *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 c-ELISA para el diagnóstico individual de perros, sino para el estudio a nivel poblacional.

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

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

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

La letras indican la existencia de diferencia estadística entre los estratos basados en valor  $\alpha$  de 0.05 para 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 transplacentaria (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 (Fernández *et al.*, 2004; Aguilar *et al.*, 2006), Austria (Wanka *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 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; Fernández *et al.*, 2004; Wanka *et al.*, 2005); sin embargo, la diferencia podría estar 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; Fernández *et al.*, 2004; Aguilar *et al.*, 2006; Wanka *et al.*, 2005), 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 para 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 la seropositividad, podría tener su explicación en que los perros de las fincas tienen la posibilidad de acceder a carne de bovino infectada, 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 ha 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, peri urbana 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 urbanas, tomar en cuenta la posibilidad de la infección por *N. caninum* en perros, de modo que incluyan esta enfermedad dentro de 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 posibilidad 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 Erika Valverde Altamirano por su valioso aporte en la revisión de estilo de este manuscrito.

## REFERENCIAS

- 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.
- 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.
- Barber, J.S. & A.J. Trees. 1998. Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. *Int. J. Parasitol.* 28:57-64.
- Capelli, G., S. Nardelli, A.F. di Regalbono, 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 Regalbono & 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. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. 2004. 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. Universidad Nacional de Córdoba: Estadística y Diseño (F.C.A.). 2002.

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., González, O, Dolz, G, Morales, J.A, Barr, B, Conrad, P.A., 1998. First report of bovine neosporosis in dairy cattle in Costa Rica. *Vet. Rec.* 142:520-521.

Romero, J.J., E. Perez, 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. Koudela. 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.