



Archivos de Medicina Veterinaria

ISSN: 0301-732X

archmv@uach.cl

Universidad Austral de Chile

Chile

PATITUCCI, A.N.; PEREZ, M.J.; ISRAEL, K.F.; ROZAS, M.A.

Prevalencia de anticuerpos séricos contra *Neospora caninum* en dos rebaños lecheros de la IX

Región de Chile

Archivos de Medicina Veterinaria, vol. 32, núm. 2, 2000

Universidad Austral de Chile

Valdivia, Chile

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=173013740008>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica





Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto



## Archivos de medicina veterinaria

ISSN 0301-732X *versión impresa*

-  [Como citar este artículo](#)
-  [Agregar a favoritos](#)
-  [Enviar a e-mail](#)
-  [Imprimir HTML](#)

Arch. med. vet. v.32 n.2 Valdivia 2000

# Prevalencia de anticuerpos séricos contra *Neospora caninum* en dos rebaños lecheros de la IX Región de Chile\*

Prevalence of *Neospora caninum* in two dairy herds of the IX Region of Chile

A.N. PATITUCCI, M.V., R.S.A., M.Phil.; M.J. PEREZ, M.V., R.S.A., M.Sc.; K.F. ISRAEL, M.V.; M.A. ROZAS, M.V.

Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Católica de Temuco, Casilla 056. Temuco, Chile.

Aceptado: 01.08.2000.

\* Proyecto Interno UCT, N 98-3-03.

## SUMMARY

Neosporosis is an important cause of economic loss in the cattle industry throughout the world. In Chile, it has been recently detected and, since then, veterinarians and producers have required information about different aspects of the disease. In this paper we present data of the prevalence of the disease in two dairy herds of the IX Region of Chile. A commercial indirect fluorescent antibody test (IFA) was performed at 1:200 dilution for bovine and at 1:50 for canine sera. Results indicate a 30.2% (52/173, IC=6.8%) infection in bovines from farm "A" and a 15.7% (31/198, IC=5%) in bovines from farm "B" ( $\chi^2 = 10.42$ ,

$P = 0.0012$ ). In addition, 57% (4/7) of the dogs from farm "A" had antibodies. Differences were observed in each farm as well as amongst age groups: in farm "A" 39.6% (42/106) of heifers and 15.2% (10/66) of cows ( $\chi^2=10.42$ ,  $P=0.0012$ ) had antibodies against *N. caninum*; in farm "B": 22.7% (15/66) of calves, 17.8% (8/45) of heifers and 9.2% (8/87) of cows were positive. There were differences amongst cows, calves and heifers groups ( $\chi^2=4.07$ ,  $P=0.043$ ). Although it was not the aim of the study it is discussed if the source of infection could be the cause of the difference in prevalence. In contrast with farm "B", the higher prevalence in farm "A" was related to the group fed also with supplements. How the disease spreads in our environment is unknown, different mechanisms could be involved since in most of the farms the animals spend half of the year under confinement and the other half on pasture. The present article gives values of *Neospora* prevalence and preliminary data for further studies on this progressively important disease.

**Palabras claves:** Neosporosis, prevalencia, IFA, bovinos.

**Key words:** Neosporosis, prevalence, IFA, bovines.

## INTRODUCCION

En Chile, las pérdidas ocasionadas por los abortos bovinos no han sido exactamente cuantificadas, pero son económicamente importantes. Más del cincuenta por ciento de los episodios abortigénicos son de etiología desconocida, y de los diagnosticados, la mayoría corresponden a causas infecciosas ([Patitucci y col., 1999b](#)). A este panorama se agrega la presencia de un protozoo, el cual ha sido reconocido como la principal causa de aborto bovino en diferentes países ganaderos donde la brucelosis ha sido controlada ([Anderson y col., 1994](#); [Barr y col., 1995](#); [Dubey y Lindsay, 1996](#)).

Este parásito, denominado *Neospora caninum*, fue reconocido y aislado por primera vez de perros de USA ([Dubey y col., 1988](#)), y posteriormente la infección natural fue descrita en una variedad de huéspedes tales como ovejas, vacas, caballos, ciervos y cabras de diferentes partes del mundo ([Dubey y Lindsay, 1996](#)).

Recientemente, un estudio realizado en establecimientos lecheros de la IX Región de Chile ha demostrado la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en vacas abortadas ([Patitucci y col., 1999b](#)) y mediante el uso de la inmunohistoquímica la enfermedad ha sido confirmada en el país.

A partir de estos hallazgos la demanda de información local acerca de la enfermedad ha ido creciendo y es por este motivo que se realizó el presente trabajo, cuyo objetivo fue establecer la prevalencia de infección mediante la detección de anticuerpos séricos contra *N. caninum* por la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFA) en dos rebaños bovinos con antecedentes de infección por este parásito.

## MATERIAL Y METODOS

**Materiales.** Se trabajó en dos establecimientos lecheros de la IX Región de Chile, los cuales presentaron abortos con diagnóstico serológico de *N. caninum* y negatividad por serología y/o cultivo a brucelosis, leptospirosis, campilobacteriosis, diarrea viral bovina (DVB) y rinotraqueitis infecciosa bovina (RIB). Se tomaron muestras de sangre de 173 animales (106 vaquillas y 66 vacas adultas) del predio A y de 198 animales (66 terneras, 45 vaquillas y 87 vacas adultas) del predio B. Dichas muestras fueron extraídas con un intervalo de 6 meses de ocurrido el episodio de aborto.

En los dos predios los bovinos coexisten con perros, quienes son los hospedadores definitivos de *N. caninum*, pero sólo en el establecimiento A fue posible tomar muestras de los 7 caninos existentes en este predio.

Los animales del predio A, de la raza Holstein, eran manejadas en dos lotes separados. Las vaquillas poseían una alimentación basada en forraje y suplemento de concentrado y silo elaborado en el mismo establecimiento y las vacas adultas de este predio no recibían ningún tipo de suplementación en la dieta. Sin embargo, todos los animales del predio, por ser manejados en sistema de pastoreo rotativo, compartieron en algún momento las mismas praderas.

Los animales del predio B en su mayoría presentan una alimentación basada en forraje y suplemento de concentrado y silo. A diferencia de los del establecimiento A. La totalidad de las vacas adultas de este predio recibieron suplementación al igual que las terneras, y de las vaquillas solo algunas consumieron suplemento.

*Método.* Los sueros se evaluaron mediante un «kit» comercial basado en la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFA test) (VMRD<sup>®</sup> Pullman, WA, USA), el cual emplea portaobjetos fijados con células "Vero" infectadas con *Neospora* sp., y suero anti-bovino IgG1-IgG2 marcado con fluoresceína. Los sueros bovinos se procesaron a una dilución de 1:200 y los caninos a 1:50 en PBS (pH 7,2). La lectura de las reacciones se realizó a 40X en microscopio de luz UV. Se consideró un suero como positivo cuando un número igual o mayor a 20 taquizoitos por campo óptico mostraron fluorescencia en toda su superficie. Conjuntamente con cada "set" de sueros se utilizaron apropiados controles positivos y negativos.

*Tamaño de muestra.* Para el cálculo del tamaño de muestra de cada grupo estudiado se utilizó una prevalencia estimada del 50% que determina el número máximo de muestra, un nivel de confianza del 95% y una precisión de la estimación del 10% ([Cannon y Roe, 1982](#)). Para el ajuste del tamaño de muestra a la población disponible se utilizó la siguiente fórmula:  $1/n = 1/na + 1/N$  ([Cannon y Roe, 1982](#)). Se utilizó  $\chi^2$  para las comparaciones entre los grupos ([Dawson-Saunders y Trapp, 1994](#)).

## RESULTADOS

Se procesó un total de 370 sueros provenientes de 172 animales del predio A (106 vaquillas y 66 vacas) y 198 sueros del predio B (66 terneras, 45 vaquillas y 87 vacas).

En el predio A, el 30,2% (52/172, IC = 6,8%) de los animales investigados resultaron positivos y en el predio B el 15,7% (31/198, IC = 5%) de los bovinos analizados poseían anticuerpos contra *N. caninum*. La prevalencia de animales seropositivos difirió significativamente entre ambos predios ( $\chi^2 = 10,42$ ,  $P = 0,0012$ ).

En el predio A, el 39,6% (42/106) vaquillas y el 15,2% (10/66) de las vacas fueron seropositivas ( $\chi^2 = 10,42$ ;  $P = 0,0012$ ). Las vaquillas presentaron mayor riesgo (OR=3,67) de ser seropositivas comparadas con las vacas.

En el predio B el porcentaje de animales seropositivos para cada categoría fue 22,7% (15/66) de las terneras, 17,8% (8/45) de las vaquillas y 9,2% (8/87) de las vacas adultas ( $\chi^2 = 4,37$ ,  $P = 0,0365$ ). Los animales jóvenes (terneras y vaquillas en conjunto), presentaron mayor riesgo (OR=2,58) de ser seropositivas comparado con las vacas.

De los caninos estudiados del establecimiento A, el 57,14% (4/7) presentaron anticuerpos contra *N. caninum*.

## DISCUSION

Actualmente existen diferentes técnicas que permiten la determinación de anticuerpos séricos contra *N. caninum* en suero de vacas. El enzima inmuno ensayo (ELISA) es una de esas técnicas con varios "test" desarrollados sobre la base de diferentes antígenos ([Bjorkman y col., 1994](#); [Lally y col., 1996](#); [Dubey y col., 1996](#); [Osawa y col., 1998](#)). Recientemente ha aparecido un test de aglutinación (NAT) ([Romand y col., 1998](#)) y existe también una técnica de Inmunofluorescencia indirecta (IFAT), empleado en varios laboratorios diagnósticos ([Conrad y col., 1993](#); [Trees y col., 1994](#); [Pare y col., 1995](#)) y en el presente trabajo.

La posibilidad de obtener falsos positivos por reacción cruzada con protozoos relacionados mediante el IFA ha sido tema de discusión en el pasado. Por un lado, se sabe que *Sarcocystis spp.*, uno de los posibles protozoos que puede interferir en el diagnóstico, tiene distribución mundial ([Dubey, 1993](#)) y en Chile se han descrito tasas de prevalencia del 100% de los animales estudiados ([Gorman y col., 1981](#)). Por otro lado, aunque la toxoplasmosis no produce infección en bovinos ([Dubey, 1986](#)), recientemente se demostró la presencia de DNA de *Toxoplasma* en 4 de 83 fetos bovinos abortados en Suiza ([Gottstein y col., 1998](#)). Sin embargo, [Dubey y col. \(1996\)](#) compararon la respuesta serológica de *N. caninum* y comprobaron que bovinos sin exposición previa a este parásito y desafiados experimentalmente con *T. gondii* y *Sarcocystis spp.* no desarrollaron títulos contra *N. caninum* medidos con la técnica de IFA.

También la dilución que diferencia a los animales infectados de los que no lo están («cut off») es tema de controversia y no existe acuerdo en la comunidad científica al momento. Nosotros hemos considerado una dilución de 1:200 para bovinos y de 1:50 para caninos, basándonos en la literatura existente ([Conrad y col., 1993](#); [Trees y col., 1994](#); [Dubey y col., 1996](#)) y en las recomendaciones dadas por los fabricantes del test. Por lo que consideramos en este trabajo que los bovinos que presentaron títulos de 1:200 y los caninos con títulos positivos de 1:50 están infectados con *N. caninum*.

Los valores de prevalencia encontrados en los rebaños estudiados (predio A: 30,2% y B 15,7%) sugieren, que si bien existen diferencias entre establecimientos, la enfermedad está presente en forma considerable en el país.

También se observaron diferencias de infección de *N. caninum* entre las distintas categorías de edad estudiadas dentro de cada predio. La más alta prevalencia en el predio A la presentaron las vaquillas y las terneras y vaquillas del campo B. Las diferencias entre los porcentajes de infección entre grupos de un mismo predio se pueden deber a una variedad de factores epidemiológicos ([Paré y col., 1996, 1997](#); [Thurmond y col., 1997](#)). Si bien los mismos no pueden ser identificados en forma concluyente por medio del presente trabajo se pueden formular algunas hipótesis.

Probablemente las diferentes categorías de animales hayan sido expuestas a diferente fuente de infección, ya que se esperaría que si todas las categorías de animales hubieran sido expuestas simultáneamente a una misma fuente de infección los animales deberían presentar la misma prevalencia debido a que no se conoce, hasta el presente, que el factor edad predisponga a la enfermedad ([McAllister y col., 1996](#); [Patitucci y col., 1999a](#)).

En los dos predios estudiados el manejo de los distintos grupos de animales fue similar, todos se criaron y permanecieron durante toda su vida en el predio. Existen diferencias en el tipo de alimentación suministrada a las diferentes categorías, por lo que se podría pensar que el suplemento estuvo contaminado con heces de caninos infectados y fue el responsable de causar infección en aquellos animales que lo consumieron. Esta suposición se ajusta para uno de los predios (A), sin embargo, los resultados del otro predio (B) hacen presumir que la fuente de infección fue otra, ya que los animales que no recibieron suplementos presentaron la mayor prevalencia.

No existen dudas de que la difusión horizontal no ocurre en esta enfermedad, un bovino infectado no

puede transmitir la infección a otro bovino no infectado ([Anderson y col., 1997](#)). Por otra parte, la infección sí puede transmitirse de madre a "conceptus" y ésta es la "vía" de difusión, comprobada, más importante una vez que la enfermedad se ha establecido en un predio, y es la forma en que la misma se mantiene en el tiempo ([Paré y col., 1996](#)). La demostración científica de estos modos de transmisión no invalidan que puedan existir otras formas de infección aún no estudiadas. Si consideramos otra enfermedad muy relacionada como la toxoplasmosis, los ooquistes de *T. gondii* pueden difundirse a través de alimentos concentrados, aguas, pasturas ([Dubey y Beattie, 1988](#)) y también por vectores animados ([Lindsay y col., 1997](#)).

La presencia de perros, hospedadores definitivos de *N. caninum*, ([McAllister y col., 1998](#)) fue comprobada en los dos predios, pero desafortunadamente sólo en el predio A pudieron ser estudiados y en ellos se confirmó la presencia de infección. Esto último avala el hecho de que existe asociación entre caninos y bovinos ([Wouda, 1998](#)). Aquí también las implicancias prácticas de la presencia de caninos es tema de debate, como regla general estos animales no deberían ser alimentados con restos de bovinos

ni deberían tener acceso a los alimentos para consumo de los herbívoros, circunstancias éstas muy difíciles de controlar en nuestros sistemas pastoriles.

Por otro lado, no se debe subestimar el impacto económico de la enfermedad. Años atrás se estimaba que los costos asociados a la infección con *N. caninum* eran solamente aquellos relativos al aborto ([Anderson y col., 1992](#)). Sin embargo, se ha establecido que los animales seropositivos producen menos leche y a su vez tienen mayores posibilidades de ser "descartados" antes en su vida productiva ([Thurmond y Hietela, 1996](#); [Dubey 1999](#)), probablemente como resultado de la disfunción de los varios órganos que se afectan (SNC, hígado, corazón y riñón) ([Barr y col., 1990](#)).

Los resultados obtenidos en este trabajo, si bien poseen limitaciones, aportan datos no existentes en el país, los cuales pueden servir de información preliminar para futuros estudios epidemiológicos de la enfermedad.

## RESUMEN

La neosporosis ha sido reconocida y descrita como causa de aborto en la mayoría de las áreas ganaderas del mundo. En Chile se demostró la presencia de la enfermedad, sin embargo, muchos aspectos son desconocidos, razón por la cual se estudió la prevalencia de infección medida a través de anticuerpos séricos mediante la técnica de IFA en dos predios lecheros con antecedentes de abortos causados por este parásito. Se consideró a un bovino positivo cuando se evidenció fluorescencia a una dilución de 1:200. El 30,2% (52/173, IC=6,8%) de los animales estudiados en el predio A y el 15,7% (31/198, IC=5%) del predio B presentaron anticuerpos séricos contra el parásito. Los resultados por edades fueron para el predio A de 39,6% (42/106) para las vaquillas y de 15,2% (10/66) para las vacas ( $\chi^2=10,42$ ,  $P=0,0012$ ) y para el predio B de 22,7% (15/66) para las terneras, de 17,8% (8/45) para las vaquillas y de 9,2% (8/87) para las vacas. Las terneras y vaquillas positivas del predio B difirieron de las vacas adultas ( $\chi^2=4,07$ ,  $P=0,043$ ). Cuatro de los siete caninos existentes en el predio A presentaron anticuerpos contra *N. caninum* en dilución 1:50. Se discuten los resultados en relación a las posibles vías de difusión de infección en nuestro medio.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece la colaboración en el procesamiento de las muestras al personal de la Unidad de Anatomía Patológica - Citopatología del Hospital Regional de Temuco.

## BIBLIOGRAFIA



ANDERSON, M.L., B.C. BARR, P.A. CONRAD 1994. Protozoal causes of reproductive failure in domestic ruminants. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.* 10: 439-461.

ANDERSON, M.L., J.P. PICANSO, M.C. THURMOND, P.C. BLANCHARD, A.W. LAYTON, C.W. PALMER, J. CASE, B.C. BARR, J.P. DUBEY, P.A. CONRAD, 1992. Epidemiological investigation of bovine protozoal abortion in California dairy herds. En: Proceedings of the XVII World Buiatrics Congress and XXV American Association of Bovine Practitioners Conference, E.I. Williams (editor). St. Paul, Minnesota, August 31- September 4, 1992, Stillwater, OK, Frontier Printers, vol 2: 74-78.

ANDERSON, M.L., J.P. REYNOLDS, J.D. ROWE, K.W. SVERLOW, A.E. PACKHEM, B.C. BARR, P.A. CONRAD, 1997. Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp. infection in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 210: 1169-1172.

BARR, B.C., M.L. ANDERSON, P.C. BLANCHARD, B.M. DAFT, H. KINDE, P.A. CONRAD, 1990. Bovine fetal encephalitis and miocarditis associated with protozoal infections. *Vet. Pathol.* 27: 354-361.

BARR, B.C., M.L. ANDERSON, K.W. SVERLOW, P.A. CONRAD, 1995. Diagnosis of bovine fetal *Neospora* infection with an indirect fluorescent antibody test. *Vet. Rec.* 137: 611-613.

BJORKMAN, C., A. LUNDEN, O.J.M. HOLMDAHL, J. BARBER, A.J. TREES, A. UGGLA, 1994. *Neospora caninum* in dogs: detection of antibodies by ELISA using an iscom antigen. *Parasite. Immunol.* 16 : 643-648.

CANNON, R.M., R.T. ROE, 1982. Livestock disease survey: a field manual for veterinarians. Australian Government Publishing Service, Camberra.

CONRAD, P.A., K. SVERLOW, M. ANDERSON, J. ROWE, R. BON DURANT, G. TUTER, R. BREITMEYER, C. PALMER, M. THURMOND, A. ARDANS, J.P. DUBEY, G. DUHAMEL, B. BARR. 1993. Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental *Neospora* infections. *J. Vet. Diagnost. Invest.* 5: 572-578.

DAWSON-SAUNDERS, B., R.G. TRAPP, 1994. Basic & Clinical Biostatistics. Appleton & Lange, Norwalk, Connecticut.

DUBEY, J.P. 1986. A review of toxoplasmosis in cattle. *Vet. Parasitol.* 22: 177-202.

DUBEY, J.P., C.P. BEATTIE, 1988. Toxoplasmosis of animals and man. CRC Press, Boca Raton, FL, pp1-200.

DUBEY, J.P., J.L. CARPENTER, C.A. SPEER, M.J. TOOPER, A. UGGLA 1988 Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 192: 1269-1285.

DUBEY, J.P. 1993. Toxoplasma, Neospora, Sarcocystis, and other tissue cyst-forming coccidia of humans and animals. En: J.P. Kreier (Editor). Parasitic Protozoa. Vol. 6. Academic Press., NY. Pp. 1-158.

DUBEY, J.P. D.S. LINDSAY, D.S. ADAMS, J.M. GAY, T.V. BASZLER, B.L. BLAGBURN, P. THULLIES, 1996. Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. *Am. J. Vet. Res.* 57: 329-336.

DUBEY, J.P. D.S. LINDSAY 1996. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.* 67: 1-59.

DUBEY, J.P. 1999. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214: 1160-1163.

GORMAN, T., H. ALCAINO, M. ROBLES 1981. Sarcoporiidiosis en especies de abasto de la zona central de Chile. *Arch. Med. Vet.* 13 (2): 39-43.

GOTTSTEIN, B., B. HENTRICH, R. WYSS, B. THUR, A. BUSATO, K.D. STARK .1998. Molecular and immunodiagnostic investigations on bovine neosporosis in Switzerland. *Int. J. Parasitol.* 28: 679-691.

LALLY, N.C. M.C. JENKINS, J.P. DUBEY 1996. Evaluation of two *Neospora caninum* recombinant antigens for use in enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of bovine neosporosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol* 3: 275-279.

LINDSAY, D.S., J.P. DUBEY, J.M. BUTLER, B.L. BLAGBURN, 1997. Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. *Vet. Parasitol.* 73:27-33.

McALLISTER, M.M. J.P. DUBEY, D.S. LINDSAY, R.L. WILLIAM, R.A. WILLIS, A. M. Mc GUIRE, 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *J. Parasitol.* 28: 1474-1478.

McALLISTER, M.M., E.M. HUFFMAN, S.K. HIETELA, P.A. CONRAD, M.L. ANDERSON, M.D. SALMAN, 1996. Evidence suggesting a point source exposure in an outbreak of bovine abortion due to neosporosis. *J. Vet. Diagn. Invest.* 8: 355-357.

OSAWA, T., J. WASTLING, S. MALEY, D. BUXTON, E.A. INNES 1998. A multiple antigen ELISA to detect *Neospora* - specific antibodies in bovine sera, bovine foetal fluids, ovine and caprine sera. *Vet. Parasitol* 79: 19-34.

PARÉ, J., S.K. HIETALA, M.C. THURMOND, 1995. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. Infection in cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7: 273-275.

PARÉ, J. M., C. THURMOND, S.K. HIETALA, 1996. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhood mortality. *Can. J. Vet. Res.* 60: 133-139.

PARÉ, J. M., C. THURMOND, S.K. HIETALA, 1997. *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *J. Parasitol.* 83: 82-87.

PATITUCCI, A.N., W.A.G. CHARLESTON, M.R. ALLEY, R.J.O. O'CONNOR, W.E. POMROY, 1999a. Serological study of a dairy herd with a recent history of *Neospora* abortion. *N. Z. vet. Journal* 47: 28-30.

PATITUCCI, A.N., M.J. PEREZ, C.F. LUDERS, M.H. RATTO, A.G. DUMONT, 1999b. Evidencia serológica de infección por *Neospora caninum* en rebaños lecheros del sur de Chile. *Arch. Med. Vet.* 31: 2.

ROMAND, S., P. THULLIES, J.P. DUBEY, 1998. Direct agglutination test for serologic diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Parasitol. Res.* 60: 50-53.

THURMOND, M.C., S.K. HIETELA, 1996. Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* 11: 1559-1562.

THURMOND, M.C., S.K. HIETELA, P.C. BLANCHARD, 1997. Herd-based diagnosis of *Neospora caninum* induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission. *J. Vet. Diagn. Invest.* 9: 44-49.



TREES, A.J., F. GUY, J.C. LOW 1994: Serological evidence implicating *Neospora* sp. as a cause of abortion in British cattle. *Vet. Rec.* 134: 405-407.

WOUDA, W. 1998. *Neospora* abortion in cattle. Aspects of diagnosis and epidemiology. PhD thesis. Faculteit der Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht.

WOUDA , W. DUBEY, J.P. JENKINS, M.C. 1997. Serological diagnosis of bovine fetal neosporosis. *J. Parasitol.* 83: 545-547.