

SHORT COMMUNICATION

***Neospora caninum* serostatus in dairy cattle of the Northern plains of Antioquia, Colombia**

Estudio serológico de *Neospora caninum* en ganado de leche del altiplano Norte de Antioquia, Colombia

Jenny Chaparro G,¹ Ph.D, Martha Olivera A,² Ph.D, Nicolás Ramírez V,³ Ph.D,
David Villar A,^{1*} Ph.D, Jorge Fernandez S,³ Ph.D, Julián Londoño P,⁴ MV,
Luis Palacio B,³ Ph.D.

Universidad de Antioquia, Calle 70 No. 52-21, Medellín, Colombia. Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, ¹Grupo Vericel, ²Grupo Biogénesis, ³Grupo Centauro, ⁴Vecol, Empresa Colombiana de Productos Veterinarios S.A. Bogotá, Colombia. Correspondence: davidvillar2003@yahoo.com

Received: August 2015; Accepted: May 2016.

ABSTRACT

Objectives. To determine *Neospora caninum* seroprevalence in nonvaccinated dairy cattle from the Northern plains of Antioquia. **Materials and methods.** A cross-sectional study was conducted to determine the prevalence of neosporosis in a major dairy area of Colombia. Blood samples were collected from 1003 dairy cattle in 29 herds located in the municipality of San Pedro de los Milagros, in Antioquia. *N. caninum* antibody levels were measured by an enzymatic immunoassay (ELISA) and the results classified as positive or negative. **Results.** Seropositive cattle were observed in all herds, with a prevalence ranging from 7 to 97% and a mean (\pm S.E) of 37.1% (\pm 4.2). The distribution of seropositive animals by age groups of <1, 1-2, 2-3 and \geq 3 years old was 25.5, 30.3, 46.1 and 39.1%, respectively. **Conclusions.** There is a high seroprevalence of *N. caninum* in the main dairy cattle area of Antioquia. The large variation among herds suggests the presence of mayor risk factors whose identification would be essential to establish control programs. Considering that any seropositive cow has a greater risk to abort than uninfected mates, future studies should address the epidemiology of abortions that can be attributed to neosporosis and the type of control strategies that could be implemented.

Keywords: *Neospora caninum*, cattle, seroprevalence, ELISA, Colombia (Sources: NLM, Medline).

RESUMEN

Objetivos. Determinar la seroprevalencia de *Neospora caninum* en ganado lechero sin vacunar del altiplano Norte de Antioquia. **Materiales y métodos.** Se realizó un estudio transversal para determinar la prevalencia de neosporosis en bovinos de la principal zona lechera antioqueña. En Mayo-Junio del 2014 se recolectaron muestras de sangre de 1003 bovinos en 29 hatos ubicados en el municipio de San Pedro de los Milagros, en Antioquia. Los niveles de anticuerpos de *N. caninum* se midieron mediante un kit de inmunoensayo enzimático (ELISA) y los resultados se clasificaron como positivos o negativos. **Resultados.** Se observaron bovinos seropositivos en todos los hatos, con una prevalencia entre el 7 y 97%, y una media (\pm SE) del 37.1% (\pm 4.2). La distribución de los animales seropositivos por grupos

de <1, 1-2, 2-3 y ≥ 3 años de edad fue del 25.5, 30.3, 46.1 y 39.1%, respectivamente. **Conclusiones.** Se detectó una alta tasa de seroprevalencia de *N. caninum* en la principal zona de ganado lechero de Antioquia. La gran variación entre hatos apunta a que existen factores de riesgo cuya identificación sería esencial a la hora de instaurar programas de control. En vista de que cualquier vaca seropositiva tiene un mayor riesgo de abortar que congéneres no infectados, los próximos estudios deberían abordar la epidemiología de abortos atribuible a neosporosis previo a establecer cualquier plan de control.

Palabras clave: *Neospora*, bovino, seroprevalencia, ELISA, Colombia (Fuentes: NLM, Medline).

INTRODUCTION

Neosporosis is one of the most important causes of infectious abortion in bovines across the world. Transmission can occur horizontally from ingestion of *Neospora caninum* oocyst shed by definitive hosts (i.e, canines), or through parasite migration during pregnancy to the fetus (vertical transmission) which is generally accepted to be the primary method of transmission in cattle (1,2). In Colombia, the presence of seropositive animals in the absence of a vaccination program can provide information on the status of infection in a herd. Reports from various countries have shown that the risk for abortion increases not only with the percent of seropositive cows in a herd, but also with the level of seroconversion, such that the odd ratios for aborting can vary from 3 to 12 times for animals with low to high antibody titers, respectively (3,4). However, the majority of seropositive cows still give birth to clinically normal but infected calves that are prone to have subsequent abortions (2,5). The clinical outcome of such transplacental fetal infection depends largely on the maternal and fetal immune responses which are always unpredictable (5).

A definitive diagnosis on the cause of any abortion requires the assistance of a veterinary diagnostic laboratory capable to perform a thorough diagnostic examination of the aborted fetuses and placentas. In this regard, limited diagnostic services in Colombia are still hampering investigations on the main agents causing abortions in livestock. In spite of this limitation, the use of serological tests to monitor natural infections by pathogens like *N. caninum*, can yield important diagnostic information at a herd level (6). For example, when seroprevalence is similar across different age groups it may indicate that the infection has been likely perpetuated by vertical transmission (1). In addition, high titers are known to be a significant risk factor for abortion compared to low positive animals, so it is a factor that could also be considered to design control programs (3). Notwithstanding that serology has been the main technique to diagnose *N. caninum* infection, it has limited application to diagnose whether an

INTRODUCCIÓN

La neosporosis es una de las causas más importantes de aborto infeccioso en bovinos en todo el mundo. La transmisión puede ocurrir horizontalmente por la ingestión de ooquistes de *Neospora caninum* excretada por hospedadores definitivos (en especial caninos), o a través de la migración del parásito al feto durante la gestación (transmisión vertical), siendo esta última la ruta la más común (1,2). La presencia de animales seropositivos en ausencia de un programa de vacunación puede proporcionar información sobre el estado de la infección en un hato. Reportes de varios países han demostrado que el riesgo de abortos aumenta no sólo con el porcentaje de vacas seropositivas en un hato, sino también con el nivel de seroconversión, oscilando entre un 3 y 12 de mayor probabilidad de abortar para animales con títulos bajos o altos, respectivamente (3,4). Sin embargo, lo normal es que la mayoría de las vacas seropositivas sigan teniendo terneros clínicamente normales, así estén infectados y más propensos a padecer abortos posteriores. La evolución clínica de una infección fetal transplacentaria depende en gran medida de las respuestas inmunitarias maternas y fetales, que son siempre impredecibles (5).

El diagnóstico definitivo de la causa de cualquier aborto requiere la asistencia de un laboratorio de diagnóstico veterinario capaz de hacer un examen post-mortem completo. En este sentido, la escasez de dichos servicios en Colombia siguen obstaculizando las investigaciones sobre los principales agentes causantes de abortos en el ganado. A pesar de esta limitación, el uso de pruebas serológicas frente a patógenos como *N. caninum*, puede proporcionar información diagnóstica importante a nivel de hato (6). Por ejemplo, cuando la seroprevalencia es similar en los diferentes grupos de edad, por lo general indica que la infección ha sido probablemente perpetuada por transmisión vertical (1). Además, altos títulos son de por sí un factor de riesgo significativo para el aborto en comparación con los animales con niveles bajos; esto sería otro factor que podría incluirse en la toma de decisiones para programas de control (3). A pesar de que la serología ha sido la principal técnica

individual cow has aborted due to neosporosis. Most of *N. caninum* seropositive cattle do not abort and seronegative dams can give birth to seropositive calves (7). In Colombia, the only reports documenting the presence of *N. caninum* in bovines are based on serological surveys, but associations with abortions or other reproductive problems have not been explored (8-10).

The aim of this study was to estimate the seroprevalence to *N. caninum* in a major dairy area of Colombia. It was part of a larger study that included serologic viral pathogens and parasitic infections (data not shown).

MATERIALS AND METHODS

Type of study and location. A cross-sectional study was conducted in the municipality of San Pedro de los Milagros, with an estimated population of 65.000 dairy cattle. A total of n=1003 animals were selected from N=29 herds as described in the next section.

Population and statistical model. The sample size for each farm, number of farms, and ages within each farm, was chosen to be proportional to the municipality's bovine population, with an expected prevalence of 50%, margin of error of 3.1% ($\leq 5\%$), and a 95% confidence interval. The breeds of the cows were Holstein, Holstein-Jersey, Jersey and others. The number of farms with land area of <50, 50-100, and >100 "fanegas" (1 fanega = 0.66 hectares) were 19, 7 and 1, respectively. Six herds (20.6%) had less than 50 cows, nine herds (31%) had between 50-100 cows and fourteen herds (49%) had more than 100 cows. Data was entered into Excel worksheets and then exported to Stata 12.0 (StataCorp, 2011) for analysis. Descriptive statistics were computed and an univariate logistic regression model was constructed to evaluate the relationship between the prevalence of infections and age as an independent variable. Serological status (positive/negative) was the dependent variable.

Husbandry and management practices. The management system in the area is primarily an intensive rotational grazing system based on Kikuyu grass (*Penisetum clandestinum*) monoculture pastures with no confinement of adult cows, and calves were usually kept in separate paddocks between the ages of 3-9 months and then moved with replacement heifers until they were ≥ 15 months old. Pastures are rested for approximately 30-40 days, and occupation days vary with density of animals. No vaccines against neosporosis had ever been used in the area.

para diagnosticar la infección por *N. caninum*, tiene una aplicación limitada para diagnosticar si una vaca ha abortado por neosporosis. De hecho, la mayoría de vacas seropositivas no abortan y las seronegativas pueden parir terneros seropositivos (7). En Colombia, los únicos informes que documentan la presencia de *N. caninum* en bovinos se basan en pruebas serológicas, pero las asociaciones con abortos u otros problemas reproductivos no han sido exploradas (8-10).

El objetivo de este estudio fue determinar la tasa de seroconversión a *N. caninum* en la principal zona lechera de Colombia. El estudio forma parte de un proyecto más amplio que incluye serología frente a patógenos virales y análisis coprológicos para detección de infecciones parasitarias (datos no incluidos).

MATERIALES Y METODOS

Tipo de estudio y localización. El estudio se llevó a cabo en el municipio de San Pedro de los Milagros, con una población estimada de 65.000 vacas lecheras. Un total de 1.003 animales fueron seleccionados de 29 hatos como se describe a continuación.

Población y modelo estadístico. El tamaño de la muestra para cada explotación, el número de granjas, y las edades dentro de cada granja, fue representativo del conjunto de la población del municipio con una prevalencia esperada del 50%, margen de error del 3.1% ($\leq 5\%$), y un intervalo de confianza del 95%. Las razas de animales muestreadas fueron Holstein, Holstein-Jersey y Jersey. El número de fincas con tamaño en fanegadas <50, 50-100, y >100 fue 19, 7 y 1, respectivamente. Seis hatos (20.6%) tuvieron menos de 50 vacas, nueve hatos (31%) tuvieron entre 50-100 vacas y 14 hatos (49%) tuvieron más de 100 vacas. Los datos se introdujeron en hojas de Excel y fueron exportados al programa Stata 12.0 (StataCorp, 2011) para su análisis. Se realizaron estadísticas descriptivas y se empleó un modelo de regresión logística para evaluar la relación entre prevalencia de infección y edad como variable independiente. El estado serológico (positivo/negativo) fue la variable dependiente.

Prácticas de manejo en hatos. El manejo en la mayoría de fincas consiste en un sistema de pastoreo rotacional intensivo en Kikuyu (*Penisetum clandestinum*), sin confinamiento de vacas adultas, y donde las terneras suelen estar en potreros separados entre las edades de 3-9 meses y luego se trasladan con novillas de reemplazo hasta que son ≥ 15 meses de edad. Los

Sample collection and laboratory analysis.

Blood samples were collected between May and June 2014, and centrifuged to obtain serum within 24 hours. Serum samples were stored at -20°C until analyzed using an indirect ELISA immunoenzymatic assay for the detection of specific antibodies to *N. caninum* in bovine serum (Ingezim, 1.2. NC. L1, Ingenasa S.A, Spain). The cutoff for a positive result was a sample-to-positive control ratio of ≥ 0.45 , although according to the manufacturer samples with optical density (OD) between 0.45-0.60 should be considered suspicious. Data of correspondence with the reference ELISA (HerdChek[®] *Neospora caninum* Antibody Test Kit) used in Canada is summarized as follows. Considering doubtful sera as positive, the relative sensitivity of the Ingezim kit was 99,4% (95% CI=96-100%) and the relative specificity 100% (95% CI= 99.7-100%). Considering doubtful sera as negative, the relative sensitivity is 88,2% (95% CI=81.8-92.7%) and the relative specificity 99.1% (95% CI= 98.1-99.6%).

RESULTS

The prevalence of *N. caninum* seropositive animals by age categories is presented in Table 1. All N=29 herds were positive with a prevalence range between 7-97%. Older age groups tended to have higher prevalence with values of about 40% for cows of ≥ 2 years compared to 25-30% for animals in the first 2 years of life. The slightly higher seroprevalence in older animals suggests that postnatal infection, in addition to congenital transmission, is also occurring. Farm dogs were present in all sampled herds and are a potential source for horizontal transmission. Unfortunately, data for the existence of abortion during the year was unreliable as many farmers do not record fetal losses following a positive diagnosis of pregnancy.

Table 1. Age distribution of the prevalence to *Neospora caninum* in sera from dairy cattle in the Northern plains of Antioquia.

Age (years)	Number of animals (n)	Mean prevalence (%)	\pm standard error of the mean	95% Confidence intervals
<1	149	25.5	4.0	17.2 - 34.0
1-2	131	30.3	3.4	22.7 - 37.8
$\geq 2-3$	175	46.1	5.7	33.8 - 58.4
>3	548	39.1	4.9	28.7 - 49.5
Total	1003	37.1	4.2	28.2 - 46.1

pastos se dejan descansar por aproximadamente 30-40 días y los días de ocupación varían de acuerdo con el número de animales. No se han aplicado nunca vacunas contra la neosporosis.

Recolección de muestras y análisis de laboratorio.

Las muestras de sangre se recolectaron entre mayo y junio del 2014, se centrifugaron y el suero fue congelado a -20°C hasta su análisis. Se empleó un kit comercial de ensayo inmunoenzimático indirecto para la detección de anticuerpos específicos de *Neospora caninum* (Ingezim, 1.2. NC. L1, Ingenasa SA, España). El punto de corte para catalogar un resultado como positivo fue una relación de densidad óptica con el control positivo de ≥ 0.45 , y de acuerdo al fabricante una densidad óptica entre 0.45-0.60 debería considerarse sospechosa. Los datos de correspondencia con el ELISA de referencia (HerdChek[®] *Neospora caninum* Antibody Test Kit) que se utiliza en Canadá se resume de la siguiente manera. Teniendo en cuenta los sueros dudosos como positivos, la sensibilidad relativa es del 99.4% (IC del 95% =96-100%) y la especificidad relativa del 100% (IC 95%=99.7-100%). Considerando sueros dudosos como negativos, la sensibilidad relativa es del 88.2% (IC 95% =81.8-92.7%) y la especificidad relativa del 99.1% (IC 95% =98.1-99.6%).

RESULTADOS

La prevalencia de animales seropositivos a *N. caninum* por categorías de edad se presenta en la tabla 1. Los 29 hatos fueron positivos, con una prevalencia entre el 7 y el 97%. Los animales más viejos mostraron una mayor prevalencia con valores de aproximadamente 40% para las vacas de ≥ 2 años en comparación con el 25-30% para animales en los 2 primeros años de vida. La seroprevalencia ligeramente mayor en animales más viejos sugiere que está produciéndose infección postnatal superpuesta a la transmisión congénita. En todos los hatos existían perros y se sabe que estos son hospedadores definitivos y la principal fuente de transmisión horizontal. Por desgracia, los datos del número de abortos anteriores al muestreo eran poco fiables ya que los productores no registran pérdidas fetales después de un diagnóstico positivo de preñez.

DISCUSIÓN

La neosporosis es una causa importante de aborto en bovinos y estudios serológicos indican que está distribuida a nivel mundial (11). El presente estudio, tuvo como objetivo describir la seroprevalencia de *N. caninum* en una zona

DISCUSSION

Neosporosis is one of the major causes of abortion in cattle and serologic surveys indicate it is worldwide distributed (11). The present study, aimed to describe the seroprevalence of *N. caninum* in a dairy cattle area of Antioquia, observed a within-herd prevalence ranging between 7-97% in 29 herds, with an overall mean of 37.1% (n=1003). However, the implications of such a high prevalence of infection for a disease that has only been proved to cause abortions, are difficult to assess without establishing the rate of abortions due to neosporosis.

In a recent study where the overall seroprevalence of *N. caninum* in a large dairy herd was 35.5% (4), the percentage of abortions was 3 times higher in seropositive dams compared to seronegative mates (21.6 and 7.3%, respectively). They also observed that the risk of repeated abortion among seropositive cows was 5-fold greater than seronegative ones. However, the factors that promote the likelihood of a seropositive cow to abort are usually unknown; several stress factors related to management practices, weather conditions, co-infections, age, and others, have been reviewed by Dubey et al (11) and are likely to play an important role at reactivating latent infections. Consequently, and considering the different management and husbandry practices of dairy cows in our area, making extrapolation on the incidence of abortions from studies in different places would be impossible.

Serological test for *N. caninum* antibodies have been the most common method to diagnose infection status in whole herds. However, because titers fluctuate considerably and chronically infected animals may become negative, a single whole herd screening could always misinterpret the real status of some animals. In this respect, some studies have conducted serial testing for various lengths of time to evaluate the sensitivity and specificity of one-time sampling (6,12-14).

In a Dutch study that also used an ELISA method, a total of 1676 animals were sampled 3 times at 11 month intervals (12). They showed that one-time testing for *N. caninum* had a 95.3% agreement ($\kappa = 0.90$) to the results of three consecutive samplings. Interestingly, their values for prevalence were very similar to the ones in this study, with an overall mean prevalence of 36%, ranging between 4.8-80.3% within individual herds. The positive predictive value of their test, that is, the probability that a seropositive animal was truly infected was 92.4%. Their studies also showed that it was important to differentiate between low and high

de ganado lechero de Antioquia. Se determinó una prevalencia de entre el 7 y 97% en 29 hatos, con una media del 37.1% para 1003 animales muestreados. Sin embargo, las consecuencias de esta alta prevalencia de infección hubiesen requerido establecer la tasa de abortos debidos a neosporosis.

En un estudio reciente donde la seroprevalencia general de *N. caninum* en un hato lechero era del 35.5% (4), el porcentaje de abortos era 3 veces mayor en individuos seropositivos comparado con los seronegativos (21.6 y 7.3%, respectivamente). También observaron que el riesgo de aborto repetido para vacas seropositivas era 5 veces mayor que en las seronegativas. Sin embargo, los factores que favorecen la probabilidad de que una vaca seropositiva aborte son por lo general desconocidos. Entre otros, situaciones de estrés relacionadas con las prácticas de manejo, condiciones climáticas, coinfecciones, edad, etc. han sido revisadas por Dubey et al (11) y se sabe que pueden desempeñar un papel importante en la reactivación de infecciones latentes. En consecuencia, y considerando las diferentes prácticas de manejo y explotación de las vacas lecheras en nuestra zona, la explotación sobre la incidencia de abortos a partir de estudios en diferentes lugares sería imposible.

Las pruebas serológicas para detectar anticuerpos de *N. caninum* han sido hasta ahora el método más común para diagnosticar el estado de infección en hatos. Sin embargo, los títulos fluctúan considerablemente y animales crónicamente infectados pueden llegar a convertirse en negativos, por lo que los resultados serológicos en un solo animal no siempre reflejan el estado real de infección. En estos casos, algunos estudios han llevado a cabo pruebas en serie en el transcurso de varios años para evaluar la sensibilidad y especificidad de realizar un solo muestreo (6,12-14).

En un estudio holandés que empleó un método de ELISA con puntos de corte similares a los de este estudio, se muestrearon un total de 1.676 animales por 3 veces a intervalos de 11 meses (12). Los resultados indicaron que existía una concordancia del 95.3% ($\kappa = 0.90$) entre los valores de un solo muestreo y el de tres muestreos consecutivos. Los valores de prevalencia que reportaron fueron muy similares a los de este estudio, con una prevalencia media del 36%, oscilando entre el 4.8% y el 80.3% entre hatos. El valor predictivo positivo que reportaron, es decir, la probabilidad de que un animal seropositivo estuviese verdaderamente infectado fue 92.4%. Estos estudios también

positive titers, as most fluctuations that resulted in false positives or negatives values occurred in the low positive results (12,13). However, when a cow had aborted with a confirmed diagnosis of neosporosis in the fetus done by histopathology, it would be expected that sera will have 2 to 7-fold greater titers than sera from cows that abort due to other causes (6), and typically there will be a rise in antibody titers between the third and seventh month of gestation (14). In this respect, the kinetics of antibody responses during gestation has also been proposed as a tool to predict abortion (14).

The high fidelity of vertical transmission typically reported in chronically infected dams (about 80% heifers and 66% older cows) is an effective way for the parasite to sustain prevalence within a herd (11,12). In this respect, the presence of seropositive dam-calf pairs and seropositive family lines is a strong indication for congenital transmission (1). In the present study the higher prevalence in older animals would suggest that horizontal transmission was likely contributing to the prevalence of infected animals, and since dogs lived on every farm sampled, it is possible they may be serving as a continuous source of oocyst exposure. An increased probability of postnatal infection with age has also been described as a factor associated with seropositive status in other studies (1,15).

In herds with an epidemic pattern of abortion, a point source exposure should be suspected, as opposed to being endemic in chronically infected animals. It could be speculated that a *N. caninum*-induced abortion storm will be followed by elevated endemic and sporadic abortions in subsequent years. However, long-term studies have shown that herds with *N. caninum* abortion outbreaks will not necessarily have elevated abortions in the following years (13), clearly revealing the importance that risk or protective factors play in the occurrence of endemic abortions.

In conclusion, this study showed a high prevalence of *N. caninum* infection in a main dairy area of Colombia. However, the large variation between herds suggests the presence of mayor risk factors whose identification may be crucial to future control strategies. The results warrant future investigations on the epidemiology of *N. caninum* in the area.

mostraron que era importante diferenciar entre títulos positivos bajos y altos, ya que la mayoría de las fluctuaciones que resultaron en falsos positivos o negativos ocurrieron con títulos bajos (12,13). Se ha descrito que cuando una vaca aborta con un diagnóstico confirmado de neosporosis en el feto, los títulos en suero suelen ser de 2 a 7 veces mayores que los títulos en vacas que abortan debido a otras causas (6); además, es corriente que se produzca un aumento en los títulos de anticuerpos cuando el aborto ocurre entre el tercero y séptimo mes de gestación (14).

La alta eficiencia de la transmisión vertical en vacas infectadas crónicamente (alrededor del 80% para novillas y del 66% para adultas) es una forma efectiva del parásito para mantener la prevalencia dentro de un hato (11,12). A este respecto, la presencia de pares madre-ternera seropositivas y líneas familiares seropositivas es indicativa de que existe transmisión congénita (1). En el presente estudio la mayor prevalencia en animales de mayor edad sugiere que la transmisión horizontal está probablemente contribuyendo a la prevalencia de animales infectados, y el que los perros conviven con el ganado en la mayoría de granjas podría servir como una fuente continua de exposición de ooquistes. Otros estudios también han mostrado una asociación directa entre la edad y prevalencia de infección (1,15).

En hatos donde se produjese un patrón epidémico de abortos por neosporosis, siempre debería sospecharse de una exposición puntual, mientras que en animales infectados crónicamente la presentación de abortos por lo general es endémica. Aunque se podría especular que una "tormenta de abortos" inducida por *N. caninum* sería seguida por más abortos de lo normal en años sucesivos, hay reportes donde brotes de abortos por *N. caninum* no necesariamente tienen más abortos posteriormente (13). Esto revela claramente la importancia que tienen los factores de riesgo y/o protección en la presentación de abortos endémicos.

En conclusión, este estudio mostró una alta prevalencia de la infección por *N. caninum* en una zona lechera de Colombia. Sin embargo, la gran variación existente entre hatos apunta a que existen factores de riesgo cuya identificación sería esencial a la hora de instaurar programas de control. Los resultados justifican futuras investigaciones sobre la epidemiología de los abortos en la zona.

Acknowledgments

This work was supported by Vecol, Zoolab and the Facultad de Ciencias Agrarias de La Universidad de Antioquia. The authors thank the Centauro Sustainability Project 2013-2014 (Estrategia de Sostenibilidad CODI 2013-2014) and the Universidad de Antioquia for the economic support.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por Vecol, Zoolab y la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia. Los autores agradecen al Proyecto de Sostenibilidad de Centauro 2013-2014 (Estrategia de Sostenibilidad CODI 2013-2014) y a la Universidad de Antioquia por su soporte económico.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflicto de intereses.

REFERENCES

- Dijkstra T, Barkema HW, Eysker M, Wouda W. Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. *Int J Parasitol* 2001; 31(2):209-215.
- Hernandez J, Risco C, Donovan A. Risk of abortion associate with *Neospora caninum* during different lactations and evidence of congenital transmission in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc* 2002; 221(12):1742-1746.
- González-Warleta M, Castro-Hermida JA, Carro-Corral C, Mezo M. Anti-*Neospora caninum* antibodies in milk in relation to production losses in dairy cattle. *Prev Vet Med* 2011; 101(1-2):58-64.
- Mazuz ML, Fish L, Reznikov D, Wolkomirsky R, Leibovitz B, Savitzky I, Golenser J, Shkap V. Neosporosis in naturally infected pregnant dairy cattle. *Vet Parasitol* 2014; 205(1-2):85-91.
- Innes EA, Wright S, Bartley P, Maley S, Macaldowie C, Esteban-Redondo I, Buxton D. The host-parasite relationship in bovine neosporosis. *Vet Immunol Immunopathol* 2005; 108(1-2):29-36.
- Jenkins MC, Wouda W, Dubey JP. Serological response over time to recombinant *Neospora caninum* antigens in cattle after a neosporosis-induced abortion. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997; 4(3):270-274.
- Haddad JP, Dohoo IR, VanLeewen JA. A review of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle a Canadian perspective. *Can Vet J* 2005; 177(3):230-243.
- Cedeño D, Benavides B. Seroprevalence and risk factors associated to *Neospora caninum* in dairy cattle herds in the municipality of Pasto, Colombia. *Rev MVZ Córdoba*; 18(1):3311-3316.
- Oviedo T, Betancur C, Mestra A, Gonzalez M, Reza L, Calonge K. Serological study about neosporosis in cattle with reproductive disorders in Montería, Córdoba, Colombia. *Revista MVZ Córdoba* 2007; 12:929-933.
- Lopez G, Restrepo B, Restrepo M, Lotero M, Murillo V, Chica A, et al. Estudio para evidenciar la presencia de *Neospora caninum* en bovinos de la hacienda San Pedro en el municipio de Fredonia. *Revista CES – Medicina Veterinaria y Zootecnia* 2007; 2(1):7-20.
- Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20(2):323-367.
- Dijkstra TH, Barkema HW, Eysker M, Beiboer ML, Wouda W. Evaluation of a single serological screening of dairy herds for *Neospora caninum* antibodies. *Vet Parasitol* 2003; 110(3-4):161-169.
- Pfeiffer DU, Williamson NB, Reichel MP, Wichtel JJ, Teague WR. A longitudinal study of *Neospora caninum* infection on a dairy farm in New Zealand. *Prev Vet Med* 2002; 54(1):11-24.
- Quintanilla-Gozalo A, Pereira-Bueno J, Seijas-Carballedo A, Costas E, Ortega-Mora LM. Observational studies in *Neospora caninum* infected dairy cattle: relationship infection-abortion and gestational antibody fluctuations. *Int J Parasitol* 2000; 30:900-906.
- Romero JJ, Perez E, Dolz G, Frankena K. Factors associated with *Neospora caninum* serostatus in cattle of 20 specialized Costa Rican dairy herds. *Prev Vet Med* 2002; 53(4):263-273.