

Abanico Veterinario. Enero-Diciembre 2022; 12:1-12. http://dx.doi.org/10.21929/abavet2022.3

Artículo Original. Recibido: 05/07/2021. Aceptado:08/01/2022. Publicado: 08/03/2022. Clave: e2021-46. https://www.youtube.com/watch?v=wxN2_RBh2vs

Seroprevalencia de *Neospora caninum* en perros rurales y urbanos del suroriente del Estado de México

Seroprevalence of *Neospora caninum* in rural and urban dogs from southeast Mexico State

García-Rubio Virginia^{1ID}, Espinosa-Ayala Enrique^{1ID}, Hernández-García Pedro^{1ID}, Flores-Pérez Erika^{2ID}, Reyes-Sandoval Raúl^{3ID}, Ojeda-Carrasco Juan*^{1ID}

¹Centro Universitario UAEM Amecameca, Universidad Autónoma del Estado de México. Carretera Amecameca-Ayapango Km 2.5, CP. 56900. Amecameca, Estado de México, México. ²Dirección General de Salud Animal. Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal CENAPA, Jiutepec Morelos, México. ³Universidad Veracruzana, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Rancho Torreón del Molino, Unidad de Diagnóstico, Laboratorio de Parasitología, Veracruz, México. *Autor de correspondencia: Ojeda-Carrasco Juan, Centro Universitario UAEM Amecameca, Universidad Autónoma del Estado de México. Carretera Amecameca-Ayapango Km 2.5, CP. 56900. Amecameca, Estado de México, México. E-mail: vicky_garciarubio@yahoo.com.mx, enresaya1@hotmail.com, pedro_abel@yahoo.com, buendia_aureliano@hotmail.com, raulreyes@uv.mx, mvzojeda@hotmail.com

RESUMEN

Neospora caninum es el agente etiológico de la neosporosis en bovinos y perros, se considera como una de las principales causas de aborto en vacas; en perros infectados intrauterinamente e inmunodeprimidos, ocasiona lesiones multisistémicas y son considerados los hospederos definitivos. El objetivo de este estudio fue determinar la seroprevalencia contra Neospora caninum en perros urbanos y rurales del sur oriente del Estado de México y su asociación a factores de riesgo para esta especie. Mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia se obtuvieron 70 muestras de suero de perros de una zona urbana y 76 de zona rural. Información sobre edad, género, alimentación y medio ambiente se obtuvo mediante un cuestionario. El análisis estadístico fue por medio de Ji cuadrada, la determinación de la razón de probabilidades (OR) y regresión lineal múltiple discriminante. La seropositividad general a Neospora caninum mediante IFI, fue 51.3% (75/146), en perros urbanos de 48.6% y en rurales de 53.9%, (p=0.314). Para el factor edad, la seropositividad fue mayor a medida que incrementó la misma; el consumo de placentas se reconoció como factor de riesgo. Se identifica una amplia distribución de Neospora caninum en perros, así como una constante exposición al mismo en el área de estudio.

Palabras clave: perros, Neospora caninum, México

ABSTRACT

Neospora caninum is the etiological agent of neosporosis in cattle and dogs. It is considered one of the leading causes of abortion in cows. Dogs are considered the definitive host; in intrauterine infected and immunosuppressed dogs, it causes multisystemic lesions. The aim of this study was to determine the seroprevalence against Neospora caninum in urban and rural dogs from the southeast of the State of Mexico and its association with risk factors for these species. Through a non-probabilistic convenience sampling, 70 serum samples were obtained from dogs from an urban area and 76 from a rural area. Information on age, gender, diet and environment was obtained through a questionnaire. The statistical



analysis was applied by means of Chi square, as well as the determination of the odds ratio (OR) and discriminant multiple linear regression. The general seropositivity to *Neospora caninum* by IFAT was 51.3% (75/146), in urban dogs, it was 48.6%, and 53.9% in rural dogs (p=0.314). As for the age risk factor, seropositivity was higher as it increased; the consumption of placentas was recognized as a risk factor. A wide distribution of *Neospora caninum* was identified in dogs as well as constant exposure to it in the area studied.

Keywords: dogs, Neospora caninum, Mexico.

INTRODUCCIÓN

La neosporosis causada por Neospora caninum, protozoario Apicomplexa, ha sido considerada como una de las principales causas de aborto epidémico y endémico con gran impacto económico en la industria ganadera en todo el mundo (Dubey, 2003), además de ocasionar lesiones multisistémicas en perros inmunodeprimidos o infectados intrauterinamente (Lindsay & Dubey, 2000). Neospora caninum se mantiene en el ambiente mediante un ciclo de vida heteroxeno que involucra al perro como hospedero definitivo y una amplia gama de hospederos intermediarios (Dijkstra et al., 2001). Los perros adultos inmunocompetentes son asintomáticos (Kul et al., 2015; Silva & Machado, 2016), y pueden fungir como hospederos definitivos e intermediarios al excretar ooquistes, que al esporular en el ambiente, pueden ser ingeridos por los hospederos intermediarios provocando la transmisión horizontal en estos animales (McAllister et al., 1998; Lindsay et al., 1999; Dubey, 2003). Los perros adquieren la infección por ingestión de órganos, tejidos, fetos o membranas fetales con quistes parasitarios presentes en los hospederos intermediarios, por ingestión de ooquistes esporulados que se encuentran en el ambiente y por transmisión vertical transplacentaria (Dubey et al., 2007). Este parásito mantiene también un ciclo selvático entre cánidos salvajes y herbívoros silvestres (Almeira, 2013; Donahoe et al., 2015). En varios países se han detectado anticuerpos anti-Neospora caninum en perros utilizando diferentes técnicas diagnósticas y se han asociado diferentes factores de riesgo para su presentación en estas poblaciones (Anvari et al., 2020). En México, los sistemas de producción de leche en pequeña escala (SPLPE), han desempeñado un papel importante en la producción nacional (López et al., 2008); y de acuerdo a lo reportado por Montiel-Olquin et al., 2019, identificaron alta seroprevalencia de neosporosis como factor de riesgo asociado a bajo desempeño reproductivo en estas unidades de producción; por su parte, la presencia de Neospora caninum y su asociación como causa de aborto en las unidades del SPLPE en la región suroriente del Estado de México, ha sido confirmada (Ojeda et al., 2016; Reyes-Sandoval et al., 2017); sin embargo, se desconoce el estatus serológico en perros que residen en estas unidades de producción, así como en zonas urbanas aledañas, que permitan estimar cuantitativamente su posible distribución. Por ello, el objetivo de este estudio fue determinar la seroprevalencia de Neospora caninum en perros de una zona rural y una urbana del sur oriente del Estado de México y su asociación a posibles factores de riesgo para esta especie.



MATERIAL Y MÉTODOS

Área geográfica

Se consideró como zona rural los municipios de Amecameca, Tlalmanalco y Ayapango entre las coordenadas 19°07'-19°80' de latitud norte y los 98°45'-98°51' de longitud oeste, en el suroriente del Estado de México, a una altura promedio de 2420 msnm. El clima es templado subhúmedo con lluvias en verano Cb (w2), temperatura media de 12 a 18°C y precipitación pluvial de 935 mm al año. Para la zona urbana, Ciudad Nezahualcóyotl, Estado de México a 2240 msnm; el clima es semiseco templado BS(1k) con lluvias en verano, temperatura entre los 20-32°C y una precipitación pluvial promedio de 775 mm.

Animales en estudio

Se colectaron 76 muestras sanguíneas de perros de la zona rural, provinieron de unidades de producción de bovinos productores de leche en las que existen antecedentes de aborto, mismas en que cohabitan otras especies como ovinos, caprinos, porcinos y equinos. Para la zona urbana, 70 perros que acudieron a una clínica veterinaria para tratamientos preventivos o atención de patologías y enfermedades no relacionadas con la neosporosis. Para las dos zonas los perros fueron incluidos en el estudio después de que los propietarios firmaron un consentimiento para este fin y respondieron un cuestionario semiestructurado para obtener información que permitiera identificar posibles factores de riesgo. Los criterios de inclusión fueron: perros de cualquier edad y género, hembras no gestantes y buen estado general de salud. Las muestras fueron procesadas en el Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (CENID-SAI del INIFAP), Jiutepec, Morelos.

Muestreo y obtención de muestras

El tipo de muestreo fue no probabilístico por conveniencia. Se obtuvieron muestras de sangre por punción de la vena cefálica en tubos vacutainer sin anticoagulante, se identificaron y mantuvieron a temperatura ambiente hasta la exudación del suero, separando por centrifugación a 1500 xg por 10 minutos y almacenando en viales de polipropileno a -20°C hasta su análisis. Todos los perros fueron manejados en estricta conformidad con las pautas aceptadas para el uso ético, el cuidado y el bienestar animal establecido por el Comité de Ética y Bioética de la Investigación del Centro Universitario Amecameca de la Universidad Autónoma del Estado de México, con aprobación y número de acta 08/2021.

Estudio serológico

Los sueros fueron descongelados y procesados en una dilución 1:50, y analizados mediante la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), utilizando el método descrito por (Dubey *et al.*, 2007); disponiendo de laminillas comerciales con taquizoitos de



Neospora caninum, cultivados en células Vero, fijadas y sin teñir (No. de catálogo, SLD-IFA-NC, VMRD Inc., Washington, EE. UU.); como anticuerpo secundario se utilizó una anti-IgG canina de origen caprino conjugada con fluoresceína (No. de catálogo, CJ-F-CANG VMRD Inc., Washington, EE. UU.). En cada laminilla, se emplearon sueros de perros positivo y negativo a *Neospora caninum* como controles de la prueba (No. de catálogo, 211-P-NC-CAN y 211-N-NC-CAN, VMRD Inc., Washington, EE. UU.); las laminillas se observaron en un microscopio de epifluorescencia. Fueron considerados como positivos aquellos sueros que mostraron un número ≥ 20 taquizoítos con fluorescencia por campo óptico (Dubey & Lindsay, 1996). La titulación se efectuó con diluciones dobles seriadas a partir de una dilución inicial 1:50 hasta determinar el punto final empleando la metodología antes descrita.

Análisis estadístico

La prevalencia y los posibles factores de riesgo como: edad, género, cohabitación con otros perros y/u otras especies, así como consumo de fetos abortados, placentas, o despojos de tejidos de bovinos se consideraron como variables dicotómicas; excepto para tipo de alimento administrado en el que se hace una descripción de la variable. Inicialmente, fueron comparados mediante Ji cuadrada con la corrección de Yates y en aquellas en que el factor de riesgo fue significativo (p < 0.05) se estimó la razón de posibilidades o razón de momios (OR), en donde valores mayores de uno indicaron asociación, empleando el programa OpenEpi versión 3.01.

Por otro lado, se determinó la relación entre seropositividad y los potenciales factores de riesgo mediante un análisis de regresión lineal múltiple discriminante utilizando el programa Statsgraphics Centurion XVIII.

RESULTADOS

De 146 sueros analizados, 75 mostraron reacción positiva a *Neospora caninum*, por lo que la identificación de anticuerpos específicos en los perros bajo estudio fue de 51.3%, la seroprevalencia en perros de la zona urbana fue del 48.6% (34/70) y para la zona rural del 53.9% (41/76), no encontrando diferencia estadística (p=0.314). Los títulos de anticuerpos anti-*Neospora caninum* fueron: 66.7% (50/75) con 1:50, 10.7% (8/75) con 1:200, 9.3% (7/75) con 1:400 y 13.3% (10/75) con 1:800. A pesar de que se identificó una mayor seroprevalencia en machos 55.9% (47/84) en comparación con las hembras 45.1% (28/62), no hubo diferencia estadística significativa entre los géneros de la zona urbana y rural (p=0.131) Tabla 1.

Para el factor de riesgo edad, la seroprevalencia de *Neospora caninum* fue mayor conforme la edad de los perros se incrementaba (Tabla 2); solo encontrándose diferencia significativa en el estrato de 5 a 10 años, para las dos zonas (p=0.02697), con un OR=11 (IC 95 %: 1.137-106.4).



Tabla 1. Seroprevalencia a *Neospora caninum* por género en perros del suroriente del Estado de México

| | Género | Número de sueros | Sueros positivos a IFAT | Seroprevalencia (%) |
|-------------|---------|------------------|-------------------------|---------------------|
| Zona urbana | Hembras | 34 | 15 | 44.1 |
| | Machos | 36 | 19 | 52.7 |
| Zona rural | Hembras | 28 | 13 | 46.4 |
| | Machos | 48 | 28 | 58.3 |
| General | Hembras | 62 | 28 | 45.1 |
| | Machos | 84 | 47 | 55.9 |

Tabla 2. Seroprevalencia a *Neospora caninum* por edad en perros del suroriente del Estado de México

| Edad (Años) | Zona urbana | | Zona rural | | General | |
|-------------|-------------|---------------------|------------|---------------------|---------|---------------------|
| | : | Seroprevalencia (%) | 5 | Seroprevalencia (%) | ; | Seroprevalencia (%) |
| ≤ 1 | 3/10 | 30.0 | 14/38 | 36.8 | 17/48 | 35.4 |
| 1 – 5 | 17/35 | 48.5 | 16/26 | 61.5 | 33/61 | 54.1 |
| 5 -10 | 8/19 | 42.1 | 8/9 | 88.9 | 16/28 | 57.1 |
| ≥ 10 | 6/6 | 100.0 | 3/3 | 100.0 | 9/9 | 100.0 |
| Total | 34/70 | 48.6 | 41/76 | 53.9 | 75/146 | 51.3 |

En los perros seropositivos de la zona urbana y para el factor tipo de alimento, se identificaron los siguientes: El 2.94% (1/34), consumieron pollo; el 8.7% (3/34), croquetas/pollo; el 8.7% (3/34), croquetas/alimento húmedo; el 73.5% (25/34), croquetas; el 2.94% (1/34), desperdicios de res y el 2.94% (1/34), pollo/croquetas/desperdicios de comida; para este y los factores de riesgo cohabitación con otras especies, cohabitación con otros perros, consumo de tejidos bovinos, no fue posible demostrar asociación con la seroprevalencia. Lo que contrasta con el análisis de regresión lineal múltiple discriminante en el que se consideró la seropositividad y los posibles factores de riesgo; el consumo de placentas fue identificado como un factor con significancia (p=0.0146) el cual se relaciona con la edad y la ecuación del modelo ajustado es:

seropositivo = 0.209517 + 0.485705 * consumo de placentas + 0.138303 * edad

DISCUSIÓN

La seroprevalencia general a *Neospora caninum* determinada en este estudio en el suroriente del Estado de México, utilizando la prueba de IFI fue alta, con 51.3% de los perros, siendo más elevada que el 35% obtenido para la ciudad de Tizayuca, Hidalgo, México; informado por Sánchez *et al.*, 2003 y lo reportado por Cruz-Vázquez *et al.*, 2008 de 32% en Aguascalientes, México, ambos estudios empleando la prueba de ELISA; por lo que se observa la misma tendencia comparándola con estudios más recientes en otros países como China, de 20% (Gao & Wang, 2019); Brasil, en el Estado de Paraná, de



19.6% (Spiti et al., 2018); y en Sao Paulo, en donde la seroprevalencia en tres años consecutivos fue de 7.8%, 4.8% y 6.8% (Sevá et al., 2020). En esta investigación en los perros de zona rural se determinó una seroprevalencia de 53.9%, similar al 51.3% reportado por (Sánchez et al., 2003); sin embargo, para dicho estudio se empleó un número menor de perros de granja (14), en Tizayuca, Hidalgo; pero contrasta con lo informado por Cruz-Vázquez et al., 2008 con 41% para perros que tuvieron un estrecho contacto con ganado lechero en el que fueron muestreados 152 perros. En la zona de estudio se tiene conocimiento reciente de la alta seroprevalencia existente en hatos lecheros del sistema de producción en pequeña escala 51.7% (Ojeda et al., 2016); no obstante, no existen reportes previos de la situación seroepidemiológica de los perros, cuya importancia radica en que son considerados los hospederos definitivos en el ciclo de este parásito y en la transmisión exógena al ganado, sin dejar a un lado la perpetuación de la infección a través de la transmisión endógena en el mismo. considerando que es una práctica común el permitir el consumo de placentas, fetos y otros tejidos por los perros que cohabitan en las unidades de producción pecuaria mismo que es identificado por el análisis de regresión lineal múltiple discriminante empleado en este estudio y a su vez se relaciona con la edad del perro; alrededor del mundo, se ha señalado que la parasitosis está presente en un rango de 12 a 42% en fetos bovinos abortados (Lefkaditis et al., 2020). Aunque el parásito se puede alojar en cualquier tejido, se ha identificado principalmente en sistema nervioso central, músculo esquelético y cardiaco e hígado (Cedillo et al., 2008; Cavalcante et al., 2011).

Para la zona urbana se estimó una seroprevalencia de 48.6%; superior al 20% informado por Sánchez et al., 2003 y Cruz-Vázquez et al., 2008; con un muestreo de 6 y 116 perros, respectivamente. Se considera que la infección por el parásito en el perro ocurre tras el consumo de tejidos con la presencia de quistes, lo que plantea una interrogante sobre los posibles mecanismos de transmisión en perros urbanos. Las seroprevalencias reportadas varían ampliamente alrededor del mundo, lo que puede atribuirse a factores geográficos, topográficos, climáticos, tipo de población canina (doméstica, en situación de calle, de refugios, de granjas), condiciones de mantenimiento de los mismos, tipo de alimentación; así como a los diferentes métodos de muestreo y de diagnóstico empleados (Dwinata et al., 2018; Anvari et al., 2020); se identifica en este estudio un número elevado de perros seropositivos cuya alimentación principal es con croquetas, siendo que no conviven o cohabitan con otros perros u otras especies de producción; por tanto, la presencia de anticuerpos anti-Neospora caninum indica la exposición de estos al parásito sin tener contacto directo con animales de granja, lo que puede estar asociado a transmisión vertical de la madre a los fetos por varias generaciones o transmisión horizontal posdestete (Sloan et al., 2017) y al consumo de agua y alimento contaminado con ooquistes esporulados (McAllister, et al., 1998; Langoni et al., 2013).



Para el factor de riesgo edad, la seroprevalencia fue mayor conforme a la edad de los perros se incrementó, lo que coincide con lo que refieren Cruz-Vázquez et al. 2008 en México con un 67% para perros entre 11 y 15 años, Ferroglio et al., 2007, en Italia; Collantes-Fernández et al., 2008, en España y Wang et al., 2016 en China, lo que sugiere mayor tiempo de exposición posnatal a la infección por transmisión horizontal directa o indirecta del parásito. El resultado obtenido en esta investigación puede deberse a que en el hábitat donde los perros viven tanto en la zona rural como la urbana, el ciclo del parásito se asegura, habiendo alta posibilidad de que la seroconversión sea mayor conforme más tiempo viva el perro (Dijkstra et al., 2001; Bandini et al., 2011). Sin embargo, Sloan et al., 2017, encontraron mayor seroprevalencia en perros de un año o menores particularmente para ese estudio lo atribuyen al incremento de la seropositividad en hembras preñadas y a la transmisión vertical del parásito en Australia.

Los títulos de anticuerpos encontrados en este trabajo fueron de 1:50 hasta 1:800, al respecto, de Souza *et al.*, en 2002 obtuvieron títulos similares, otros autores han encontrado títulos menores desde 1:25 o mayores hasta 1:1600 (Langoni *et al.*, 2013; Spiti, *et al.*, 2018). Bandini *et al.*, en 2011 reportan títulos de 1:800 a 1:1160 en sueros de perros infectados experimentalmente con altas dosis de ooquistes, siendo esta una referencia del grado de exposición de los perros en el área de estudio de este trabajo.

CONCLUSIÓN

Las seroprevalencias a *Neospora caninum* encontradas en este estudio determinan una amplia distribución de este protozoario en perros de la región suroriente del Estado de México, tanto en la zona rural y la zona urbana; de la misma manera, los títulos de anticuerpos demuestran la exposición constante de los perros al parásito en ambas zonas. El consumo de placentas se identificó como un factor de riesgo para los perros que habitan en la zona rural lo que puede relacionarse con la alta prevalencia del parásito en el ganado bovino del área bajo estudio.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma del Estado de México por el financiamiento de este proyecto (UAEM 3873/2015PIC). Al CENID-SAI INIFAP, por facilitar sus instalaciones para realizar el procesamiento de las muestras de este proyecto.

LITERATURA CITADA

ALMERIA S. 2013. *Neospora caninum* and Wildlife. ISRN *Parasitology*. ID 947347. ISSN ISSN 2314-4076. https://doi.org/10.5402/2013/947347



ANVARI D, Saberi R, Sharif M, Sarvi S, Hosseini SA, Moosazadeh M, Hosseininejad Z, Chegeni TN, Daryani A. 2020. Seroprevalence of *Neospora caninum* Infection in Dog Population Worldwide: A Systematic Review and Meta-analysis. *Acta parasitologica*. 65(2):273–290. ISSN: 1896-1851. https://doi.org/10.2478/s11686-019-00163-4

BANDINI LA, Neto AFA, Pena HFJ, Cavalcante GT, Schares G, Nishi SM, Gennari SM. 2011. Experimental infection of dogs (*Canis familiaris*) with sporulated oocysts of *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*. 176(2-3):151–156. ISSN 0304-4017. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.10.047

CAVALCANTE GT, Monteiro RM, Soares RM, Nishi SM, Alves Neto AF, Esmerini PdO, Sercundes MK, Martins J, Gennari SM. 2011. Shed-ding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed diferent tissues from naturally infected cattle. *Veterinary Parasitology*. 179(1-3):220–223. ISSN 0304-4017. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.02.026

CEDILLO CJR, Martínez MJJ, Santacruz AM, Banda RVM, Morales SE. 2008. Models for experimental infection of dogs fed with tissue from fetuses and neonatal cattle naturally infected with *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*. 154(1-2):151-155. ISSN 0304-4017. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.02.025

COLLANTES-FERNÁNDEZ E, Gómez-Bautista M, Miró G, Álvarez-García G, Pereira-Bueno J, Frisuelos C, Ortega-Mora LM. 2008. Seroprevalence and risk factors associated with *Neospora caninum* infection in different dog populations in Spain. *Veterinary Parasitology*. 152(1-2):148–151. ISSN 0304-4017.

https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.12.005

CRUZ-VÁZQUEZ C, Medina-Esparza L, Marentes E, Morales-Salinas E, García-Vázquez Z. 2008. Estudio seroepidemiológico de la infección por *Neospora caninum* en perros encontrados en granjas lecheras y áreas urbanas de Aguascalientes, México. *Parasitología Veterinaria*. 157 (1-2): 139-143.

https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401708003592

DE SOUSA SL, Guimarães Jr JS, Ferrerira F, Dubey JP, Gennari SM. 2002. Prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en perros de granjas de ganado lechero en Paraná, Brasil. *J Parasitol*. 88 (2): 408-9.

https://doi.org/10.1645/0022-3395(2002)088[0408:poncai]2.0.co;2



DIJKSTRA TH, Eysker M, Schares G, Conraths FJ, Wouda W, Barkema HW. 2001. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. *International Journal for Parasitology*. 31(8):747-752. ISSN 0020-7519.

https://doi.org/10.1016/S0020-7519(01)00230-2

DONAHOE SL, Lindsay SA, Krockenberger M, Phalen D, Šlapeta J. 2015. A review of neosporosis and pathologic findings of *Neospora caninum* infection in wildlife. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. 4(2):216–38. ISSN: 2213-2244. https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2015.04.002

DUBEY, JP, DS LINDSAY 1996. Una revisión de *Neospora caninum* y Neosporosis. *Veterinary Parasitology*. 67: 1-59. ISSN 0304-4017. https://doi.org/10.1016/S0304-4017(96)01035-7

DUBEY JP. 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. 2003. *Korean Journal of Parasitology.* 41(1):1-16. ISSN 17380006, 00234001. https://doi.org/10.3347/kjp.2003.41.1.1

DUBEY JP, Schares G, Ortega-Mora LM. 2007. Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*. 20(2):323-367. ISSN 1098-6618. https://doi.org/10.1128/CMR.00031-06

DWINATA IM, Oka I, Agustina KK, Damriyasa IM. 2018. Seroprevalence of *Neospora caninum* in local Bali dog. *Veterinary world*. 11(7):926–929. ISSN (Online): 2231-0916. https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.926-929

FERROGLIO E, Pasino M, Ronco F, Bena A, Trisciuoglio A. 2007. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in urban and rural dogs in north-west Italy. *Zoonoses Public Health*. 54(3-4):135-139. ISSN:1863-2378. https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2007.01033.x

GAO X, Wang H. 2019. Seroprevalence and risk factors for *Neospora caninum* infection in dogs in rural northeastern mainland China. *Parasite*. 26(32). https://doi.org/10.1051/parasite/2019034



KUL O, Atmaca HT, Anteplioglu T, Ocal N, Canpolat S. 2015. *Neospora caninum*: The First Demonstration of the Enteroepithelial Stages in the Intestines of a Naturally Infected Dog. *Journal of Comparative Pathology*. 53(1):9–13. ISSN 0021-9975. https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2015.03.005

LANGONI H, Fornazari F, Costa Da Silva R, Talita E, Baptista F. 2013. Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs. *Brazilian Journal of Microbiology*. 44(4):1327-1330. ISSN 1517-8382. https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000400043

LEFKADITIS M, Mpairamoglou R, Sossidou A, Spanoudis K, Tsakiroglou M. 2020. *Neospora caninum*, A potential cause of reproductive failure in dairy cows from Northern Greece. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports.* 19.100365. ISSN 2405-9390. https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100365

LINDSAY DS, Dubey JP, Robert B. Duncan RB.1999. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*. 82(4):327-333. ISSN 0304-4017. https://doi.org/10.1016/S0304-4017(99)00054-0

LINDSAY DS, Dubey JP. 2000. Canine neosporosis. *Journal of Veterinary Parasitology*. 14(1):1–11. ISNN: 0304-4017. https://www.researchgate.net/profile/David-Lindsay-9/publication/284082027_Canine_neosporosis/links/5a9b715445851586a2ac368c/Canine-neosporosis.pdf

LÓPEZ BJ, Arriaga JC, González DJG, Castelán OOA, Espinosa OA. 2008. Variación económica a lo largo del año de los sistemas campesinos de producción de leche y su efecto en los índices de pobreza. *Livestock Research for Rural Development*. 20 (32). ISSN 0121-3784. http://www.lrrd.org/lrrd20/2/lope20032.htm

MCALLISTER MC, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, Mcguire AM.1998. Rapid communication: Dogs are definitive host of *Neospora caninum. International Journal for Parasitology.* 28(9):1473-1479. ISSN: 0020-7519. https://doi.org/10.1016/S0020-7519(98)00138-6

MONTIEL-OLGUÍN LJ, Estrada-Cortés E, Espinosa-Martínez MA, Mellado M, Josafath Hernández-Vélez O, Martínez-Trejo G, Hernández-Andrade L, Hernández-Ortíz R, Alvarado-Islas A, Ruiz-López FJ, Vera-Ávila HR. 2019. Factores de riesgo a nivel de establo asociados con el desempeño reproductivo en el sistema de producción de leche a pequeña escala en México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 10(3):676-691 ISNN:2428-6698. https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i3.4825



OJEDA-CARRASCO JJ, Espinosa-Ayala E, Hernández-García PA, Rojas-Martínez C, Álvarez-Martínez JA. (2016). Seroprevalence of reproductive diseases that affect dairy cattle with emphasis on neosporosis. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 3(8):243-249. ISSN 2007-901X.

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282016000200243&Ing=es

OPENEPI. Versión 3.01. Estadísticas epidemiológicas de código abierto para Salud Pública. https://www.openepi.com

REYES-SANDOVAL RM, Álvarez Martínez JA, Rojas-Martínez C, Espinosa-Ayala E, García-Rubio VG, Ojeda-Carrasco JJ. 2017. Detección de *Neospora caninum* por PCR anidada en leucocitos de bovinos productores de leche. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 4(12):563-570. ISSN 2007-901X.

https://doi.org/10.19136/era.a4n12.1288

SÁNCHEZ GF, Morales SE, Martínez MJ, Trigo JF. 2003. Determination and correlation of anti-Neospora caninum antibodies in dogs and cattle from Mexico. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. 67(2):142-145. ISSN 1928-9022. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC227043/

SEVÁ A, Chiebao DP, Brandão A, Godoy SN, Jimenez-Villegas T, Pena H, Ferreira F. 2020. Seroprevalence and incidence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection in naturally exposed domestic dogs from a rural area of São Paulo state, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary*. 29(3):1-13. e008820. ISSN 1984-2961. https://doi.org/10.1590/s1984-29612020053

SILVA RC, Machado GP. 2016. Canine neosporosis: perspectives on pathogenesis and management. *Veterinary Medicine: Research and Reports.* 7:59–70. ISSN: 2230-2034. https://doi.org/10.2147/VMRR.S76969

SLOAN S, Šlapeta J, Jabbar A, Hunnam J, De Groef B, Rawlin G, Christina McCowan C. 2017. High seroprevalance of *Neospora caninum* in dogs in Victoria, Australia, compared to 20 years ago. *Parasites & Vectors*. 10(1):503. ISSN: 1756-3305. https://doi.org/10.1186/s13071-017-2464-2



SPITI SM, de Barros LD, de Seixas M, Minutti AF, Martins TA, Luiz Fernando Coelho da Cunha FLF, Cardim ST, Kono IS, de Souza LNB, Gomel BAL, Garcia JL. 2018. Occurrence of antibodies against *Neospora caninum* in cattle and dogs from dairy farms from the central northern region of Paraná State. *Semina: Ciências Agrárias*. 39(6):2449-2456. ISSN 1679-0359. https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n6p2449

STATGRAPHICS.Net programa estadístico. https://statgraphics.net/

WANG S, Yao Z, Zhang N, Wang D, Ma J, Liu S, Zheng B, Zhang B, Liu K, Zhang H. 2016. Serological study of *Neospora caninum* infection in dogs in central China. *Parasite*. 23(25):1-5. ISSN: 1776-1042. https://doi.org/10.1051/parasite/2016025