

Factores de manejo asociados con la seroprevalencia a la infección por *Neospora caninum*, en ganado lechero de Aguascalientes, México

Management factors associated with seroprevalence to *Neospora caninum* infection in dairy cattle in Aguascalientes, Mexico

José de J. Gutiérrez González* Carlos Cruz-Vázquez** Leticia Medina Esparza**
Arturo Valdivia Flores* Efraín Islas Ojeda* Zeferino García-Vázquez***

Abstract

With the aim to determine possible association between some management factors and seroprevalence to *N. caninum* infection in dairy cattle of Aguascalientes, Mexico, serum samples were collected from 381 Holstein cows distributed in 29 dairies located in eight of the eleven Aguascalientes municipalities. Samples were analyzed by ELISA test and association between seroprevalence and abortion history in the cows, replacement origin, presence of dogs living in dairies and disposal procedure for placental and fetal material was estimated. Overall seroprevalence was 57.5%, with different values between municipalities in a range from 22% to 67%. Seroprevalence in cows with history of abortions was 69%, while in non-aborted cows it was 48%; the prevalence ratio was 1.4 ($P < 0.001$), suggesting an association between abortion and seropositivity. Seroprevalence, according to the replacement origin (raised or purchased), was 57% and 58%, respectively; in reference to presence or absence of dogs it was 61% and 54%, respectively. Finally, in dairies that had or did not have disposal procedure program for placental and fetal materials, seroprevalence was that of 61% and 55%, respectively. It was not possible to detect association of seroprevalence with any of the last three factors.

Key words: *NEOSPORA CANINUM*, SEROPREVALENCE, ASSOCIATED FACTORS, DAIRY CATTLE, MEXICO.

Resumen

Con el objetivo de determinar la posible asociación entre algunos factores de manejo y la seroprevalencia a la infección por *N. caninum* en ganado lechero de Aguascalientes, México, se tomaron muestras de suero sanguíneo de 381 vacas Holstein distribuidas en 29 establos localizados en ocho de los once municipios de Aguascalientes. Las muestras fueron analizadas por la técnica de ELISA y se estimó la asociación entre la seroprevalencia y los antecedentes de aborto en las vacas, el origen de los reemplazos, la presencia de perros domiciliados en los establos y la disposición de fetos abortados, así como de desechos placentarios. La seroprevalencia a la infección por *N. caninum* fue de 57.5%, y en los diferentes municipios se observó una variación de 22% a 67%; la seroprevalencia en el grupo de vacas con antecedentes de aborto fue de 69%, mientras que en el grupo sin antecedentes de aborto fue de 48%; la razón de prevalencia fue de 1.4 ($P < 0.001$), ello sugiere una asociación entre el aborto y la seropositividad. La seroprevalencia de acuerdo con el origen de los reemplazos (propio o adquirido) fue de 57% y 58%, respectivamente; la presencia y ausencia de perros fue de 61% y 54%, respectivamente; por último, para los establos que tenían un programa de manejo de disposición de fetos abortados y desechos placentarios, la seroprevalencia fue de 61%, y 55%, para los que no lo tenían. Con ninguno de estos tres factores fue posible identificar asociación con la seroprevalencia.

Palabras clave: *NEOSPORA CANINUM*, SEROPREVALENCE, FACTORES ASOCIADOS, GANADO LECHERO, MÉXICO

Recibido el 16 de junio de 2005 y aceptado el 3 de abril de 2006.

*Centro de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Domicilio conocido, Jesús María, Aguascalientes, Apartado Postal 3, 20100, Jesús María, Aguascalientes, México.

**Instituto Tecnológico El Llano, Aguascalientes, Km 18, Carretera Aguascalientes a San Luis Potosí, El Llano, Aguascalientes, Apartado postal 74-2, 20041, Aguascalientes, Aguascalientes, México.

***Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Veterinaria, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Km 11.5, Carretera federal Cuernavaca-Cuautla, Apartado postal 206, CIVAC, 62500, Jiutepec, Morelos, México.

Introduction

Bovine neosporosis is a parasitic disease caused by the protozoan *Neospora caninum* (Apicomplexa, Sarcocystidae), that is characterized by the production of abortion in any gestation stage; although generally it takes place during the fifth and sixth month, and it can happen repeatedly during the reproductive life of the cow. Bovine neosporosis is currently recognized as one of the main causes of abortion and economic losses in dairy cattle, as it has been reported in Europe, Australia, New Zealand, some Asian countries such as Japan, Thailand and Korea, and several countries of the American continent including Mexico.¹⁻⁶

Transplacental transmission from an infected cow to its offspring has been identified as the main infection route;⁷ although it has been seen that some congenitally infected calves may survive, be born and develop normally and thus perpetuate the disease in the herd through vertical transmission of the parasite;⁸ these animals are at a higher risk of aborting if they are compared with non-infected cows.^{9,10} Dogs have been recognized as definitive carriers of *N. caninum*, and may excrete oocysts in their feces after ingesting bovine tissues infected with the parasite.^{11,12} Infection of cattle after birth may be due to the ingestion of oocysts, by drinking water or forage contaminated by dogs or perhaps other not yet identified hosts.^{13,14}

Presence of abortions and neonatal mortality associated with *N. caninum* has been estimated in several studies between 12% and 42%,² while seroprevalence to the infection has been amply mentioned in literature as varied, according to the country, the region and the applied serological test type. For example, in the United States of America observed values have been 42.5%;¹⁵ in Brazil, 34.8%;¹⁶ in France, 21.2%;¹⁷ and 39.7% in Costa Rica.¹⁸ In Mexico, the first documented report of abortion associated with *N. caninum* was in 1997;³ after that, its presence was confirmed in different dairy regions of the country,⁴ with 56% seroprevalence;⁵ in Aguascalientes, Mexico, seroprevalence of 59% has been observed.⁶

Different studies have identified dogs living in dairy farms, and this represents an important risk factor for infection and abortions associated with *N. caninum*;^{8,19,20} nevertheless, in other studies, different elements related with certain handling practices in the dairy farms can also be associated with the disease, although not in a constant manner.^{21,22}

The objective of this study was the determination of a possible association between abortion history of cows, origin of replacements, presence of dogs within the farms, as well as the system for disposal of aborted fetuses and placental material, with *N. caninum* infec-

Introducción

La neosporosis bovina constituye una enfermedad parasitaria causada por el protozoo *Neospora caninum* (Apicomplexa, Sarcocystidae), que se caracteriza por provocar aborto en cualquier estadio de la gestación, aunque generalmente éste sucede entre el quinto y sexto meses, pudiendo presentarse más de una vez en la vida reproductiva de la vaca. La neosporosis bovina es actualmente reconocida como una de las principales causas de aborto y pérdidas económicas en el ganado lechero, como se ha informado en Europa, Australia, Nueva Zelanda, algunos países asiáticos como Japón, Tailandia y Corea, y en varios países del continente americano, incluyendo México.¹⁻⁶

La transmisión transplacentaria de una vaca infectada a su progenie ha sido identificada como la principal ruta de infección;⁷ aunque se ha visto que algunas crías infectadas de manera congénita pueden sobrevivir, nacer y desarrollarse normalmente para así perpetuar la enfermedad en el hato a través de la transmisión vertical del parásito;⁸ estos animales tendrán un mayor riesgo de abortar si se les compara con hembras no infectadas.^{9,10} El perro ha sido reconocido como un portador definitivo de *N. caninum*, y puede excretar ooquistes por heces fecales después de ingerir tejidos de bovino infectados con el parásito.^{11,12} La infección después del nacimiento en el ganado bovino puede deberse a la ingestión de ooquistes, a través de la contaminación de agua de bebida o forraje, provenientes del perro o tal vez de otros portadores aún no identificados.^{13,14}

La presencia de abortos y mortalidad neonatal asociada con *N. caninum* se ha estimado en diferentes estudios entre 12% y 42%,² mientras que la seroprevalencia a la infección, que se ha mencionado ampliamente en la literatura, varía según el país, la región y el tipo de prueba serológica empleada. Por ejemplo, en Estados Unidos de América se han observado valores de 42.5%;¹⁵ en Brasil, 34.8%;¹⁶ en Francia, 21.2%;¹⁷ y 39.7% en Costa Rica.¹⁸ En México, el primer informe documentado de aborto asociado con *N. caninum* se realizó en 1997;³ posteriormente se confirmó su presencia en diferentes regiones lecheras del país,⁴ con seroprevalencia de 56%;⁵ en Aguascalientes, México, se ha observado seroprevalencia de 59%.⁶

En diferentes estudios se han identificado perros en los establos, lo que representa un factor de riesgo importante para la infección y la existencia de abortos asociados con *N. caninum*;^{8,19,20} sin embargo, en otros estudios se ha encontrado que diferentes elementos relacionados con algunas prácticas de manejo en los establos también pueden asociarse con la enfermedad, aunque no de forma tan consistente.^{21,22}

tion seroprevalence in dairy cattle in Aguascalientes.

Material and methods

Study site

This study was carried out in Aguascalientes, located in the central-northern region of the Mexican Republic, at 1 885 meters above sea level. The State has an average temperature of 16.9°C and 475 mm annual rainfall, which happens seasonally during summer.

Selection of dairy farms

Of the set of dairy cattle production units integrated into the corresponding section of the Aguascalientes Regional Cattlemen's Union, a selection was made of cows that had production and health records, as a necessary condition to be able to support the information needed for the study. From this list, 29 dairy farms were selected by the convenience non-probabilistic method,²³ taking into account the interest that producers had in participating in the study and, therefore, they would facilitate the study, as well as being units with Holstein dairy cattle in stabled production systems. These dairy farms had a population of 9 631 dams, that constituted 14.8% of milk producing dams of the state, which are estimated at 65 thousand dams,²⁴ and were located in eight of the eleven municipalities of the State.

Studied animals

The size of the sample was established with the formula proposed by Levy and Lemeshow,²⁵ with 10% error and 95% confidence level, and prevalence estimated at 50%, resulting the sample size in ≥ 384 . In each farm, adult cows in milk, with at least one birthing were randomly selected. The number of cows per farm varied according to existing population and availability that was established by the owner, mainly with cows at the end of gestation.

Blood sampling

From May to October 2002 the selected farms were visited and blood samples were taken from the caudal vein with new vacutainer* equipment, without anticoagulant. The samples were centrifuged at 1 000 g for 5 min; the collected serum was placed in polystyrene vials and maintained at -20°C until use.

Serology test

Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was

El objetivo del presente trabajo fue determinar la posible asociación entre antecedentes de aborto en las vacas, origen de los reemplazos, presencia de perros domiciliados en los establos, así como disposición de fetos abortados y desechos placentarios, con la seroprevalencia a la infección por *N. caninum* en ganado lechero de Aguascalientes.

Material y métodos

Sitio de estudio

El trabajo se desarrolló en Aguascalientes, en la región centro-norte de la República Mexicana, a 1 885 msnm. El estado cuenta con temperatura promedio de 16.9°C y 475 mm de lluvia al año, la cual es estacional y se presenta en el verano.

Selección de establos

Del conjunto de unidades de producción de bovinos lecheros integrados en la sección correspondiente a la Unión Ganadera Regional de Aguascalientes, se seleccionaron, en primera instancia, las vacas que contaban con registros productivos y de salud, como condición necesaria para tomar información de apoyo a los propósitos del estudio. A partir de este listado se seleccionaron 29 establos mediante el método no probabilístico de conveniencia,²³ en función del interés de los productores por participar en el estudio y, por lo tanto, de las facilidades brindadas para ello, además de ser unidades de producción estabuladas con ganado Holstein. Estos establos tenían una población de 9 631 vientres, que constituían 14.8% de los vientres productores de leche en el estado, estimado en 65 mil hembras,²⁴ y se ubicaron en ocho de los 11 municipios en la entidad.

Animales en estudio

Se calculó el tamaño de muestra de acuerdo con la fórmula propuesta por Levy y Lemeshow,²⁵ con 10% de error y nivel de confiabilidad de 95%, con prevalencia estimada de 50%, resultando el tamaño de muestra en ≥ 384 . En cada establo se seleccionaron al azar vacas adultas con al menos un parto, que se encontraran en lactancia; el número de vacas por establo varió de acuerdo con la población existente y la disponibilidad que marcó el propietario, principalmente con vacas al final de la gestación.

Toma de muestras sanguíneas

De mayo a octubre de 2002 se visitaron los establos seleccionados, en los que se tomó, de cada vaca, una

performed to detect *N. caninum* specific IgG, using the commercial package Herd Check anti *N. caninum*** with 98.6% sensitivity and 98.8% specificity, as stated by the manufacturer, following the procedure recommended by him. The test was performed with only one dilution (1:100), to detect positive and negative animals; sera were run paired and the cutting point was 0.50, considering ≥ 0.50 mean readings as positive.

Information gathering

The following information was obtained from each dairy farm: adult cows population, vaccination program to prevent abortion causing diseases, abortion history of each cow included in the study (with/without abortion in their backgrounds), existence or absence of dogs living in the dairy farm, origin of replacements (raised internally by the farm/externally or purchased from others) and management practices for the elimination of aborted fetuses and placental material (with/without established program for the purpose).

Results analysis

Seroprevalence to *N. caninum* infection was estimated, by the total population included in the study, according to the municipality where the dairy farms were and according to each one of the management factors included in the study; the differences between seroprevalence of the groups with each management factor were analyzed by the Chi square test ($P < 0.05$).²³ Association between history of abortion, origin of replacements, existence of dogs living in the dairy farms and elimination of aborted fetuses and placental material with seroprevalence was estimated, establishing prevalence ratio (PR), where values above one indicate association.²⁶

Results

Seroprevalence to *N. caninum* infection determined in this study was 57.5%; there was variation in this percentage between the different municipalities of the State in a range between 22% and 67% (Table 1). Presence of positive animals to the test was detected in 96.6% of the studied herds, since in one of them seropositive animals were not found ($n = 6$). High seroprevalence municipalities were: Pabellon de Arteaga (67%) and San Francisco de los Romos (63%).

Seroprevalence in the group of cows with abortion in their history was 69%, while the group without abortion in their history was 48% (Table 2), with differences between both groups ($P < 0.05$). Diagnostic laboratory information about the cause of abortions in

muestra de sangre de la vena caudal con equipo vacutainer* nuevo sin anticoagulante, las muestras fueron centrifugadas a 1 000 g durante 5 min; el suero recolectado se colocó en viales de poliestireno y se mantuvo a -20°C hasta su uso.

Prueba serológica

Se practicó la prueba de inmunoensayo enzimático (ELISA) para detectar IgG específicas a *N. caninum*, utilizando el paquete comercial Herd Check anti *N. caninum*** con sensibilidad de 98.6% y especificidad de 98.8%, de acuerdo con el fabricante, siguiendo el procedimiento recomendado por este último. La prueba se trabajó con una sola dilución (1:100), para detectar positivos y negativos; los sueros se corrieron pareados y el punto de corte fue de 0.50, considerándose como positivos los que tuvieran lecturas medias ≥ 0.50 .

Recopilación de información

En cada estable se obtuvo la siguiente información: población de vacas adultas, programa de vacunación para prevenir enfermedades causantes de abortos, antecedentes de aborto de cada vaca incluida en el estudio (con/sin antecedentes de aborto), existencia o ausencia de perros domiciliados en el estable, origen de los reemplazos (internos o cría propia/externos o adquisición a otros) y prácticas de manejo para la disposición de los fetos abortados y desechos placentarios (con o sin la existencia de un programa establecido para ello).

Análisis de resultados

Se calculó la seroprevalencia a la infección por *N. caninum*, por el total de la población incluida en el estudio, según el municipio al que correspondían los establos y de acuerdo con cada uno de los factores de manejo considerados en el estudio; las diferencias entre la seroprevalencia en los grupos dentro de cada factor de manejo fueron analizadas mediante la prueba de Ji cuadrada ($P < 0.05$).²³ Se estimó la asociación entre los antecedentes de aborto, el origen de los reemplazos, la existencia de perros domiciliados en los establos y la disposición de fetos abortados y desechos placentarios con la seroprevalencia, calculando la razón de prevalencia (RP), en donde valores mayores que uno indicaron asociación.²⁶

*Venoject, Terumo Europe N.V., Bélgica.

**IDEXX Laboratories, Inc. Westbrook, Maine, Estados Unidos de America.

the history of the animals was not obtained, all herds had a vaccination calendar to prevent main abortion causing diseases such as brucellosis, leptospirosis, IBR and BVD. When estimating association between history of abortion and seroprevalence, it was observed that PR was 1.4, with a very significant $P < 0.001$.

Dairy farms that raised their own replacements had 57% seroprevalence, while those that purchased from other farms in the State or country or foreign country, had 58% (Table 3); differences between both groups were not detected. Estimating the association between replacement origin and seroprevalence, detected PR was 0.98 ($P > 0.05$).

Seroprevalence in dairy farms with dogs was 61%, while the farms that did not have dogs it was 54% (Table 3); no differences were detected between both groups. Estimated association of dog presence with seroprevalence gave a PR of 1.1 ($P > 0.05$).

Finally, dairy farms that had a management program for the elimination of aborted fetuses and placental material had a seroprevalence of 61%, while in those that did not have a program it was 55% (Table 3); differences were not observed between both groups. When association between the existence of a program and seroprevalence were estimated, PR was 1.1 ($P > 0.05$).

Discussion

Serology results of this study show a high seroprevalence (57.5%), as well as an ample distribution of infection by *N. caninum* in Aguascalientes, Mexico, since there were seropositive animals in all municipalities that were included in the study. Even though the selection of animals under study was biased, these observations coincide with a previous report made in the dairy zone of the same State where 59% prevalence was obtained ($n = 110$), taking samples from 13 dairy farms.⁶ Also, results coincide with a sampling performed in the main dairy zones of the country where the observed prevalence was 56% ($n = 1003$) in 50 studied herds;⁵ nevertheless, seroprevalence was higher than what has been found in other countries of the American continent, where observations have obtained 39.7% and 42.5% values.^{15,16,18} These results underline the endemic status of this parasitosis in the study zone.

During this study seroprevalence differences were found between cows with history of abortion and those without, with a highly significant PR of 1.4, this implies an important association between seropositivity and abortion probability caused by *N. caninum*. In a previous study, in Aguascalientes, observed odds ratio (OR) was 1.4; while in other studies higher prevalence in cows with abortion in their history was also found,

Resultados

La seroprevalencia a la infección por *N. caninum* determinada en este trabajo fue de 57.5%; este porcentaje varió entre los diferentes municipios de la entidad entre 22% y 67% (Cuadro 1). La presencia de animales positivos a la prueba fue detectada en 96.6% de los hatos estudiados, ya que en uno de ellos no hubo animales seropositivos ($n = 6$). Los municipios con seroprevalencia más alta fueron: Pabellón de Arteaga (67%) y San Francisco de los Romo (63%).

La seroprevalencia en el grupo de vacas con antecedentes de aborto fue de 69%, mientras que en el grupo sin tales antecedentes fue de 48% (Cuadro 2), con diferencias entre ambos grupos ($P < 0.05$). No se obtuvo información acerca del diagnóstico de laboratorio sobre la causa de los abortos en el historial de los animales; en todos los hatos se seguía un calendario de vacunación para prevenir las principales enfermedades causantes de aborto, como brucelosis, leptospirosis, IBR y DVB. Al estimar la asociación entre los antecedentes de aborto y la seroprevalencia, se observó que la RP fue de 1.4, con una $P < 0.001$, muy significativa.

En los establos que crían sus propios reemplazos, la seroprevalencia fue de 57%, mientras que para los que los adquieren de otros establos estatales, nacionales o extranjeros, fue de 58% (Cuadro 3); no se detectaron diferencias entre ambos grupos. Al estimar la asociación entre el origen de los reemplazos y la seroprevalencia, se observó que la RP fue de 0.98 ($P > 0.05$).

La seroprevalencia en los establos con perros fue de 61%, en tanto que en los que no había perros fue de 54% (Cuadro 3); no hubo diferencias entre ambos grupos. Al estimar la asociación entre la presencia de perros y la seroprevalencia, se observó una RP de 1.1 ($P > 0.05$).

Finalmente se encontró que los establos que tenían un programa de manejo de disposición de fetos abortados y desechos placentarios, tuvieron seroprevalencia de 61%, mientras que en los que no contaban con dicho programa fue de 55% (Cuadro 3); no se observaron diferencias entre ambos grupos. Al estimar la asociación entre la existencia del programa y la seroprevalencia, se observó una RP de 1.1 ($P > 0.05$).

Discusión

Los resultados serológicos del presente estudio muestran elevada seroprevalencia (57.5%), así como amplia distribución de la infección por *N. caninum* en Aguascalientes, México, pues hubo animales seropositivos en todos los municipios que se incluyeron en el estudio. A pesar de que la selección de animales en

Cuadro 1 SEROPREVALENCIA A LA INFECCIÓN POR <i>N. caninum</i> EN 29 ESTABLOS LECHEROS DE AGUASCALIENTES, DISTRIBUIDOS POR MUNICIPIO SEROPREVALENCE TO <i>N. caninum</i> INFECTION IN 29 DAIRY FARMS IN AGUASCALIENTES, DISTRIBUTED BY MUNICIPALITY					
<i>Municipality</i>	<i>Farms</i>	<i>Population</i>	<i>Samples</i>	<i>Positive</i>	<i>Prevalence (%)</i>
Aguascalientes	6	429	34	21	82
Asientos	2	109	18	4	22
Cosio	2	485	29	9	31
El Llano	4	1 532	40	21	53
Jesus Maria	2	460	24	13	54
Pabellon de A	8	3 911	94	63	67
Rincon de Romos	1	543	15	8	53
S. Fco. de los Romo	4	2 162	127	80	63
Total	29	9 631	381	219	57.5

Cuadro 2 SEROPREVALENCIA A LA INFECCIÓN POR <i>N. caninum</i> EN VACAS CON Y SIN ANTECEDENTES DE ABORTO SEROPREVALENCE TO <i>N. caninum</i> INFECTION IN COWS WITH OR WITHOUT HISTORY OF ABORTION					
<i>Serological status</i>	<i>With history of abortion</i>		<i>Without history of abortion</i>		<i>Total</i>
	<i>n</i>	<i>prevalence (%)</i>	<i>n</i>	<i>prevalence (%)</i>	
Positive	121	69	98	48	219
Negative	55	n/a	107	n/a	162
Total	176	69	205	48	381
n/a = does not apply					

Cuadro 3 SEROPREVALENCIA A LA INFECCIÓN POR <i>N. caninum</i> PARA LOS FACTORES: ORIGEN DE LOS REEMPLAZOS, PRESENCIA DE PERROS Y EXISTENCIA DE UN PROGRAMA PARA LA DISPOSICIÓN DE FETOS ABORTADOS Y DESECHOS PLACENTARIOS SEROPREVALENCE TO <i>N. caninum</i> INFECTION IN RELATION TO THE FOLLOWING FACTORS: ORIGIN OF REPLACEMENTS, DOG PRESENCE AND EXISTENCE OF A PROGRAM FOR THE ELIMINATION OF ABORTED FETUSES AND PLACENTAL MATERIAL						
<i>Disposition</i>	<i>Origin of replacements</i>		<i>Dogs living in the farm</i>		<i>Program of elimination of fetuses and material</i>	
	<i>Internal</i>	<i>External</i>	<i>Yes</i>	<i>No</i>	<i>Yes</i>	<i>No</i>
Seroprevalence	57%	58%	61%	54%	61%	55%

as well as a high risk of abortion under this condition.^{5,16} In light of the foregoing, it has been suggested that the serological status may be an appropriate indicator of abortion risk by *N. caninum*.^{8-10, 27}

The high general prevalence, especially in cows with abortion histories, may be due to the endemic status of this parasitosis in the zone, where vertical transmission may be the predominant infection mechanism in herds through successive generations as has been observed in other studies.¹⁴

Origin of replacements (raised or bought) may be associated with infection and abortions by *N. caninum*;²⁸ nevertheless, results of this study did not indicate differences between these two groups, since seroprevalence was practically similar; therefore, association could not be demonstrated. In literature, vertical transmission has been reported as the main mechanism by which this parasitosis perpetuates itself in endemic areas, so that raising replacements may promote endemic status of the infection; for this reason, it has been reported that it is possible to find farms with higher prevalence raising their own replacements than the ones who purchase them.²⁹ Under other circumstances, it is recognized that replacing cattle with seronegative animals drastically reduces prevalence.³⁰

Parting from the recognition that the dog is a definitive carrier of *N. caninum*,⁷ several studies have linked the presence of dogs in dairy farms as a risk factor for infection, as well as for the presence of abortions associated with this parasite in cattle,^{8,19,31,32} as it has been recorded in Mexico.³³ Prevalence has been mainly associated with dog population density in the dairy farms, defecation in premises and the existence of stray dogs as well as other wild canines.^{20-22,31, 34, 35}

Statistically significant association was not found in this study between the presence or absence of dogs living in the dairy farms and seroprevalence; likewise, seroprevalence among farms with or without dogs was not different, this implies not acknowledging its association with infection in the studied farms. This situation has also been found in certain studies, where the presence of dogs could not be associated with seroprevalence,^{28,36,37} due to the fact that the presence of these did not increase the risk of exposure to *N. caninum*.³⁸ On the other hand, it was reported that a dairy farm without the presence of dogs that lived in the farm, during the 7 years prior to sampling, showed an OR of 12.2 to the probability of abortion in seropositive cows.³⁸ In endemic situations, horizontal transmission generally does not represent the point of origin of the infection;¹⁴ nevertheless, although in endemic areas vertical transmission is the main cause of persistence of the parasitosis, under high prevalence conditions and presence of definitive carriers, horizontal transmission probability is considerably increased.

el estudio tiene un sesgo, estas observaciones coinciden con un informe previo hecho en la zona lechera del mismo estado, donde se observó 59% de prevalencia (n = 110), tomando muestras de 13 establos.⁶ Asimismo, coincide con los resultados obtenidos en un muestreo realizado en las principales zonas lecheras del país, en el que se observó 56% de prevalencia (n = 1 003) en 50 hatos estudiados;⁵ sin embargo, la seroprevalencia resultó más elevada que la encontrada en otros países de América, donde se observó entre 39.7% y 42.5%.^{15,16,18} Los presentes resultados permiten reconocer el estado endémico de esta parasitosis en la zona de estudio.

En la presente investigación se encontraron diferencias en la seroprevalencia entre vacas con y sin antecedentes de aborto, obteniendo una RP de 1.4, altamente significativa, ello implica una importante asociación entre la seropositividad y la probabilidad de aborto a causa de *N. caninum*. En un estudio previo, en Aguascalientes, la razón de momios (RM) observada fue de 1.4; en otros estudios se encontró también mayor prevalencia en vacas con antecedentes de aborto, así como alto riesgo de abortar bajo esta situación,^{5,16} por ello se ha sugerido que el estado serológico puede considerarse como un adecuado indicador del riesgo de aborto por *N. caninum*.^{8-10,27}

La elevada prevalencia general y, en particular, la determinada en vacas con antecedentes de aborto, puede deberse a la situación endémica de la parasitosis en la zona, donde la transmisión vertical debe ser el mecanismo predominante para mantener la infección en los hatos a través de sucesivas generaciones, situación que se ha observado en otros estudios.¹⁴

El origen de los reemplazos (propios o adquiridos) puede asociarse con la infección y presencia de abortos por *N. caninum*;²⁸ sin embargo, los resultados de este trabajo no indican diferencias entre estos grupos, en los que la seroprevalencia fue prácticamente igual, por ello no se pudo demostrar la asociación. En la literatura se ha informado que en situaciones en las que la infección es endémica, la transmisión vertical es el principal mecanismo de perpetuación de la parasitosis, de manera que criar los propios reemplazos puede promover el estado endémico de la infección; por esta razón se ha informado que es posible encontrar establos con mayor prevalencia criando sus propios reemplazos, que si se les compara con otros que los adquieren.²⁹ Bajo otras situaciones, se ha reconocido que reemplazar al ganado con animales seronegativos reduce de manera importante la prevalencia.³⁰

A partir del reconocimiento de que el perro es un portador definitivo de *N. caninum*,⁷ diversos trabajos han asociado la presencia de perros en los establos como un factor de riesgo para la infección, así como para la presencia de abortos asociada con este parásito

In this study, it was not possible to establish the presence of stray dogs that could eventually enter the premises and cultivated areas surrounding the dairy farms, which could contribute to water and feed contamination with oocysts, when dogs are allowed to consume discarded infected placentas. These animals must play an important role in epidemiology of the parasitosis in the study zone; therefore it would be of interest to take them into account for future research.

Existence of a program for the elimination of fetuses and discarded placentas was low in the dairy farms that were studied; nevertheless, seroprevalence was not affected and there were no differences between both groups, situation that coincides with another study where it was not possible to associate this practice with seroprevalence;³⁷ other studies have found difficulties in establishing an association with some management practices such as this one.^{18,39} The fact that an association with this factor could not be shown does not eliminate the fact that the absence of a program of this type promotes the consumption of contaminated discarded materials by dogs and this constitutes an element for the perpetuation of the infection.

In conclusion, this study identified an elevated seroprevalence in dairy cattle, as well as the endemic status of the infection by *N. caninum* in Aguascalientes; also, an important association between seropositivity and abortion probability in cattle was shown, while for the other studied factors, it was not possible to identify any association.

Acknowledgements

MC. Mario Escartin Peña and MC. Rosa Ma. Melen-dez Soto are thanked for their collaboration in this study, as well as the dairy producers of Aguascalientes, Mexico, for their ample collaboration in the present study. This research was financed by the Autonomous University of Aguascalientes, project PIP/PT 01-2 F.T. 2-2.

Referencias

1. Dyer RM, Jenkins MM, Kwok OCH, Douglas LW, Dubey JP. Serologic survey of *Neospora caninum* infection in a closed dairy cattle herd in Maryland: risk serologic reactivity by production group. *Vet Parasitol* 2000; 90: 1712-181.
2. Dubey JP. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol* 2003; 41: 1-16.
3. Morales SE, Ramírez LJ, Trigo FJ. Descripción de un caso de aborto bovino asociado a infección por *Neospora* sp en México. *Vet Méx* 1997; 28: 353-357.
4. Morales E, Trigo FJ, Ibarra F, Puente E, Santacruz M.

en el ganado bovino,^{8,19,31,32} como se ha registrado en México.³³ La prevalencia ha sido asociada principalmente con la densidad de perros en los establos, con la defecación en las instalaciones y con la existencia de perros vagabundos y otros cánidos silvestres.^{20-22,31,34,35}

En el presente estudio no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la presencia o ausencia de perros domiciliados en los establos y la seroprevalencia; asimismo, la seroprevalencia entre establos con presencia o ausencia de perros no fue diferente, ello implica no reconocer su asociación con la infección en los establos estudiados. Esta situación también se ha encontrado en algunos estudios, en los que la presencia de perros no se ha podido asociar con la seroprevalencia,^{28,36,37} debido a que la presencia de éstos no incrementó el riesgo a la exposición a *N. caninum*;³⁸ por otra parte, se ha informado que un establo sin presencia de perros domiciliados en él durante siete años anteriores al muestreo, mostró una RM de 12.2 a la probabilidad de aborto en vacas seropositivas.³⁸ En situaciones endémicas, la transmisión horizontal generalmente no representa el punto de origen de la infección;¹⁴ sin embargo, a pesar de que en situaciones de endemia la transmisión vertical constituye la principal fuente de manutención de la parasitosis, en condiciones de alta prevalencia y en presencia de portadores definitivos, la probabilidad de transmisión horizontal se incrementa de forma importante.

En este trabajo no se pudo constatar la existencia de perros vagabundos que eventualmente se introducen en las instalaciones y campos de cultivo aledaños a los establos, lo cual puede contribuir a la contaminación con ooquistes de agua y alimentos, al permitir a los perros consumir desechos placentarios infectados. Estos animales deben tener un papel importante en la epidemiología de la parasitosis en la zona de estudio, de ahí que sería interesante considerarlos para futuras investigaciones.

La existencia de un programa de disposición de fetos y desechos placentarios fue baja en los establos estudiados; sin embargo, la seroprevalencia resultó sin diferencias entre ambos grupos, lo que coincidió con un estudio en el que no fue posible asociar esta práctica con la seroprevalencia;³⁷ en otros estudios ha resultado difícil encontrar asociación con algunos factores de manejo como éste.^{18,39} El hecho de no poder demostrar asociación con este factor no soslaya el hecho de que la ausencia de un programa de este tipo propicia que los perros consuman desechos contaminados y constituye un elemento de perpetuación de la infección.

En conclusión, el presente estudio identificó elevada seroprevalencia, así como el estado endémico

- Neosporosis in Mexican dairy herds: Lesions and immunohistochemical detection of *Neospora caninum* in fetuses. *J Comp Path* 2001; 125: 58-63.
5. Morales E, Trigo FJ, Ibarra F, Puente E, Santacruz M. Seroprevalence study of bovine Neosporosis in Mexico. *J Vet Diagn Invest* 2001; 13: 413-415.
 6. Garcia-Vazquez Z, Cruz-Vazquez C, Medina EL, Garcia TD, Chavarria MB. Serological survey of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Aguascalientes, Mexico. *Vet Parasitol* 2002; 106: 115-120.
 7. Anderson ML, Reynolds JP, Rowe JD, Sverlow KW, Packham AE, Barr BC *et al.* Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp infection in dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 1997; 210: 1169-1172.
 8. Paré J, Fecteau G, Fortin M, Marsolais G. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 213: 1595-1598.
 9. Thrumond MC, Hietala SK. Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. *Am J Vet Res* 1997; 58: 1381-1385.
 10. Wouda W, Moen AR, Schukken YH. Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology* 1998; 49: 1311-1316.
 11. McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire AM. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 1998; 28: 1473-1478.
 12. Dijkstra T, Eysker M, Schares G, Conraths FJ, Wouda W, Barkema HW. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. *Int J Parasitol* 2001; 31: 747-752.
 13. McAllister MM, Björkman C, Anderson-Sprecher R, Rogers DG. Evidence of poit-source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows. *J Am Vet Med Assoc* 2000; 217: 881-887.
 14. Schares G, Bärwald A, Staubach C, Söndgen P, Rauser M, Schröder R *et al.* p38-avidity-ELISA: examination of herds experiencing epidemic or endemic *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *Vet Parasitol* 2002; 106: 293-305.
 15. Anderson ML, Palmer ChW, Thurmond MC. Evaluation of abortions in cattle attributable to Neosporosis in selected dairy herds in California. *J Am Vet Med Assoc* 1995; 207: 1206-1210.
 16. Locatelli-Dittrich R, Soccol VT, Richartz RR, Gasino-Joineau ME, Vinne R, Pinckney RD. Serological diagnosis of Neosporosis in a herd of dairy cattle in southern Brazil. *J Parasitol* 2001; 87: 1493-1494.
 17. Pitel PH, Pronost S, Chatagon G, Tainturier D, Fortier G, Ballet JJ. Neosporosis in bovine dairy herds from west of France: detection of *Neospora caninum* DNA in aborted fetuses, seroepidemiology of *N. caninum* in cattle and dogs. *Vet Parasitol* 2001; 102: 269-277.
 18. Romero JJ, Perez E, Dolz G, Frankena K. Factors associated with *Neospora caninum* seroestatus in cattle of 20 specialized Costa Rican dairy herds. *Prev Vet Med* 2002; 53: 263-273.
 19. Bartels CJM, Wouda W, Schukken YH. Risk factors for de la infección por *N. caninum* en el ganado lechero de Aguascalientes; asimismo, se ha encontrado una importante asociación entre la seropositividad y la probabilidad de aborto en el ganado, mientras que para los otros factores estudiados, no fue posible identificar ninguna asociación.

Agradecimientos

Se agradece al MC. Mario Escartín Peña y a la MC. Rosa Ma. Meléndez Soto, por su colaboración en este trabajo, así como a los productores de leche de Aguascalientes, México, por su amplia colaboración en el presente estudio. Esta investigación fue financiada por la Universidad Autónoma de Aguascalientes, proyecto PIP/PT 01-2 F.T. 2-2.

Neospora caninum-associated abortions storms in dairy herds in the Netherlands (1995 to 1997). *Theriogenology* 1999; 52: 247-257.

20. Guimares JS, Souza SL, Bergamaschi DP, Gennari SM. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Parana state, Brazil. *Vet Parasitol* 2004; 124: 1-8.
21. Schares G, Bärwald A, Staubach C, Ziller M, Klöss D, Wurm R *et al.* Regional distribution of bovine *Neospora caninum* infection in the German state of Rhineland-Palatinate modeled by logistic regression. *Int J Parasitol* 2003; 33: 1631-1640.
22. Schares G, Bärwald A, Staubach C, Ziller M, Klöss D, Schröder R *et al.* Potential risk factors for bovine *Neospora caninum* infection in Germany are not under control of the farmers. *Parasitology* 2004; 129: 301-309.
23. Thrusfield M. *Veterinary Epidemiology*. 2nd ed. London: Blackwell Science, 1995.
24. Comité de Fomento y Protección Pecuaría de Aguascalientes, SC (COFOPPA). Estado de las campañas zosanitarias del estado de Aguascalientes. Aguascalientes (Ags):COFOPPA, 2001.
25. Levy PS, Lemeshow S. *Sampling for Health Professionals*. Belmont: Lifetime Learning Publishers, 1980.
26. Rothman JK, Greenland S. *Modern Epidemiology*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins, 1998.
27. Davison HC, Otter A, Trees AJ. Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborted cattle. *Int J Parasitol* 1999; 29: 1189-1194.
28. Barling KS, McNeill JW, Paschal JC, McCollum ET, Craig TM, Adams LG *et al.* Ranch-management factors associated with antibody seropositivity for *Neospora caninum* in consignments of beef calves in Texas, USA. *Prev Vet Med* 2001; 52: 53-61.
29. Otranto D, Llazari A, Testini G, Traversa D, Regalbono AF, Badan M *et al.* Seroprevalence and associated risk factors of Neosporosis in beef and dairy cattle in Italy. *Vet Parasitol* 2003; 118: 7-18.
30. Stenlund S, Kindahl H, Ugglä A, Bjoerkman C. A long-

- term study of *Neospora caninum* infection in a Swedish dairy herd. Act Vet Scan 2003; 44: 63-71.
31. Mainar-Jaime RC, Thurmond MC, Berzalherranz B, Hietala SK. Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. Vet Rec 1999; 145: 72-75.
 32. Ould-Amrouche A, Klein F, Osdoit C, Mohammed HO, Touratier A, Sanaa M *et al.* Estimation of *Neospora caninum* seroprevalence in dairy cattle from Normandy, France. Vet Res 1999; 30:531-538.
 33. Sanchez GF, Morales SE, Martinez MJ, Trigo FJ. Determination and correlation of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs and cattle from Mexico. Can J Vet Res 2003; 67: 142-145.
 34. Hobson JC, Duffield TF, Kelton D, Lissemore K, Hietala SK, Leslie KE *et al.* Risk factors associated with *Neospora caninum* abortion in Ontario Holstein dairy herds. Vet Parasitol 2005; 127: 177-188.
 35. Rinaldi L, Fusco G, Musella V, Veneziano V, Guarino A, Taddei R *et al.* *Neospora caninum* in pastured cattle: determination of climatic, environmental, farm management and individual animal risk factors using remote sensing and geographical information systems. Vet Parasitol 2005; 128: 219-230.
 36. Rodriguez I, Choromanski L, Rodgers SJ, Weinstock D. Survey of *Neospora caninum* antibodies in dairy and beef cattle from five regions of the United States. Vet Therap 2002; 3: 396-401.
 37. Fischer I, Furrer K, Audige L, Fritsche A, Giger T, Gottstein B *et al.* The importance of bovine Neosporosis for abortion in Switzerland. Schweiz Arch Tierheilkd 2003; 145: 114-123.
 38. Lopez-Gatius F, Lopez-Bejar M, Murugavel K, Pabon M, Ferrer D, Almeria S. *Neospora*-associated abortion episode over a 1 year period in a dairy herd in north-east Spain. J Med Vet B Infect Dis Vet Public Health 2004; 51: 348-352.
 39. Chi J, VanLeeuwen JA, Weersink A, Keefe GP. Management factors related to seroprevalences to bovine viral diarrhoea virus, bovine leucosis virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, and *Neospora caninum* in dairy herds in the Canada Maritimes. Prev Vet Med 2002; 55: 57-68.