

Seroprevalence and risk factors for *Neospora caninum* in small dairy farms in central Chile

Seroprevalencia y factores de riesgo de *Neospora caninum* en pequeñas granjas lecheras de la zona central de Chile

Luis Hervé-Claude¹ Ph.D, Alan Lavado A² MV, Dacil Rivera O^{2,3} MV, María Navarrete-Talloní⁴ Ph.D, Christopher Hamilton-West M^{2*} Ph.D.

¹Universidad de Chile, Faculty of Veterinary Sciences, Department of Clinical Sciences, Cattle Surgery and Productive Medicine Unit. Av Santa Rosa 11735, La Pintana, Chile. ²Universidad de Chile, Faculty of Veterinary Sciences, Department of Preventive Veterinary Medicine, Epidemiology Unit. Av Santa Rosa 11735, La Pintana, Chile. ³Universidad Andres Bello, Facultad de Ecología y Recursos Naturales, Escuela de Medicina Veterinaria. República 440, Santiago, Chile. ⁴Universidad Austral de Chile, Faculty of Veterinary Sciences, Institute of Pathology, Anatomy Pathology Laboratory. Edificio Federico Saelzer tercer piso, Campus Isla Teja. Valdivia, Chile. *Correspondence: christopher.hamilton@veterinaria.uchile.cl

Received: July 2016; Accepted: November 2016.

ABSTRACT

Objective. To provide information about seroprevalence and risk factors of *Neospora caninum* infection in bovines of central Chile. **Material and Methods.** The study population are small dairy farms that are part of a Government Technical Support Service (SAT) in the O'Higgins region in central Chile. Sera samples were collected from milking cows and analyzed by a commercial ELISA kit. Additionally, a questionnaire was applied to farmers to identify risk factors through logistic regression. **Results.** The farm level prevalence was found to be 67%, and within farms seroprevalence 55%. Abortion history ($p=0.037$, $OR=5.09$), dogs feed source ($p=0.0429$, $OR=6$), cattle drinking water source ($p=0.034$, $OR=4.5$) and abortions management ($p=0.017$, $OR=7.43$) were found as significant risk factors for infection. **Conclusion.** There is a high *N. caninum* seroprevalence in small SAT's dairy farms in O'Higgins region. These results highlight the need of improving *N. caninum* surveillance, and the development of preventive measures to avoid losses related with this disease.

Keywords: Infectious diseases, neosporosis, logistic regression (*Sources: Desc, CAB*).

RESUMEN

Objetivos. Proveer información sobre la seroprevalencia y factores de riesgo asociados a la infección por *Neospora caninum* en bovinos en Chile central. **Materiales y métodos.** La población estudiada corresponde a pequeñas lecherías que son parte de un programa gubernamental de Asistencia Técnica (SAT), en la región de O'Higgins en Chile central. Muestras de suero fueron recolectadas desde vacas en lactancia y analizadas mediante un kit comercial ELISA. Además, se aplicó un cuestionario a los dueños de los animales para la identificación de factores de riesgo a través de regresión logística. **Resultados.** Se identificó una prevalencia a nivel de granja del 67%, mientras que dentro de las granjas positivas, esta fue en promedio de 55%. El historial de abortos ($p=0.037$, $OR=5.09$), la fuente de alimentación de perros ($p=0.0429$, $OR=6$), la fuente de agua de bebida de las vacas ($p=0.034$,

OR=4.5) y el manejo de los abortos ($p=0.017$, OR=7.43) fueron identificados como factores de riesgo para la infección. **Conclusiones.** Se observa una alta seroprevalencia de *N. caninum* en pequeños productores lecheros pertenecientes al SAT en Chile central. Los resultados presentados resaltan la necesidad de mejorar las acciones de vigilancia de esta enfermedad y el desarrollo de medidas preventivas para evitar las pérdidas asociadas a esta enfermedad.

Palabras clave: Enfermedades infecciosas, neosporosis, regresión logística (*Fuente: Desc, CAB*).

INTRODUCTION

Neospora caninum is an intracellular Apicomplexan parasite, in close relationship to *Toxoplasma gondii*. Due to its similarity to *T. gondii*, neosporosis has been misdiagnosed for many years (1). Neosporosis, although implicated as a major cause of infectious bovine abortion, is primarily a disease of cattle and dogs. It was first described in dogs in Norway and first isolated from cattle (2). Further reports of neosporosis in Europe, Asia, Middle East, North and South America draw attention on this emergent and relevant disease in cattle (1). To date, farm management practices that reduce the chance of infection are the only methods to fight the disease, existing no effective control methods for neosporosis. Host range and distribution of *N. caninum* is found in a wide range of host species with ubiquitous distribution with reports on animal exposition to *N. caninum* and parasite antibodies in pigs, cats, foxes, raccoons, camels, coyotes, rodents, birds and other wild animals. On the other hand, viable parasite isolation has been achieved only from dog, cattle, sheep, water buffalo, European bison and white-tailed deer. The definite hosts are domestic dog, Australian dingo, and coyote, being cattle, sheep, water buffalo, horse, white-tailed deer among others only intermediate hosts (1).

The main neosporosis clinical manifestation in cattle is abortion. Clinical cases may show an epidemic or endemic behavior being the epidemic cases defined as more than 12.5% abortions within 6 to 8 weeks of gestation (3).

Neospora caninum is a cyst-forming parasite and its development involves two asexual stages – tachyzoite and bradyzoite that occur in the intermediate host (e.g. cattle, horse) and definitive hosts (e.g. dog), and one sexual stage that takes place only in the definitive hosts. Tachyzoites divide quickly inside the cells and infect multiple cellular types including placental trophoblasts, myocytes, hepatocytes, neural cells, vascular endothelial cells, renal cells, alveolar macrophages, among others. During the encysted phase of the parasite, the bradyzoites, are able to replicate slowly in tissues from the central nervous system (CNS)

INTRODUCCIÓN

Neospora caninum es un parásito intracelular Apicomplejo, en estrecha relación con *Toxoplasma gondii*. Debido a su similitud con *T. gondii*, la neosporosis ha sido mal diagnosticada durante muchos años (1). La neosporosis, aunque está relacionada como causa principal del aborto infeccioso bovino, es principalmente una enfermedad del ganado y de los perros. Se describió por primera vez en perros de Noruega y se aisló por primera vez del ganado bovino (2). Otros informes de neosporosis en Europa, Asia, Oriente Medio, América del Norte y del Sur llaman la atención sobre esta enfermedad emergente y relevante en el ganado bovino (1). Hasta la fecha, las prácticas de manejo que reducen la probabilidad de infección son los únicos métodos para combatir la enfermedad, sin existir otros mecanismos de control eficaces para la neosporosis. La variedad y distribución de los hospederos de *N. caninum* se encuentra en una amplia gama de especies con distribución ubicua de reportes de exposición a *N. caninum* y anticuerpos parasitarios en cerdos, gatos, zorros, mapaches, camellos, coyotes, roedores, aves y otros animales salvajes. Por otra parte, el aislamiento viable del parásito se ha logrado solamente del perro, de los bovinos, de las ovejas, del búfalo de agua, del bisonte europeo y del ciervo de cola blanca. Los hospederos definitivos son el perro doméstico, el dingo australiano y el coyote, siendo bovinos, ovejas, búfalos de agua, caballos, ciervos de cola blanca, entre otros, sólo hospederos intermediarios (1).

La principal manifestación clínica de la neosporosis en el ganado bovino es el aborto. Los casos clínicos pueden mostrar un comportamiento endémico o epidémico, siendo los casos epidémicos definidos como más del 12.5% de abortos dentro de las 6 a 8 semanas de gestación (3).

Neospora caninum es un parásito formador de quistes y su desarrollo comprende dos estadios asexuales: taquizoito y bradizoito que ocurren en el hospedero intermedio (por ejemplo, vacas, caballo) y hospederos definitivos (por ejemplo, perro), y una etapa sexual que ocurre solo en los hospederos definitivos. Los taquizoitos se dividen rápidamente dentro de las células e infectan múltiples tipos celulares incluyendo

and skeletal muscles (4). A definitive host may acquire the infection via ingestion of cysts contained in tissues from infected animals (5) such as placenta from naturally infected cows, an important source of infection for dogs. Although oocysts are eliminated in dogs' feces and other definitive hosts, to date *N. caninum* oocysts have been identified in few naturally infected dogs, raising doubts about the shedding frequencies and oocyst viability in canids.

Serum and milk antibody detection have been used in several studies, being apparently serum detection more accurate (1). In South America, reports indicate prevalence of 12.4% in Peru, 14% - 97% in Brazil (6), and 14% - 80% in Argentina with characteristic pathognomonic pathological findings (7). In Chile, *N. caninum* seropositivity has been reported in dairy cattle in central and southern regions, and the rate varies between 15.7% and 30% (8, 9, 10). Recent unpublished reports indicate that between 8 to 22% of abortions show lesions compatible with *N. caninum* in the Los Ríos Region (Personal communication). This study aims to obtain serological information and risk factors for neosporosis on dairy farms that are part of a Government Technical Support Service (SAT) from de O'Higgins region.

MATERIAL AND METHODS

Study type. Seroprevalence study, including a survey and sample collection and analysis.

Study population and study area. The study population was milking cows of farms associated to the Technical Support Service (SAT) program, in the O'Higgins region, in central Chile. This program belongs to the Instituto Nacional de Desarrollo Agropecuario (INDAP) and provides technical support to producers. There were 11 farms associated to the SAT program in the O'Higgins Region, in the communes of Rengo, Las Cabras, Malloa, Quinta de Tilcoco and Peralillo (Figure 1). The cattle population was of 47 animals.

Climatic conditions. The study area is an example of Mediterranean climate with dry summers and low winter rainfall.

Epidemiological data collection. To evaluate the potentially relevant risk factors, each farm was visited and farmers were interviewed. Nine farmers accepted to participate in this study. The survey was developed based on previously described risk factors for neosporosis (12), including 28 variables

trofoblastos placentarios, miocitos, hepatocitos, células neurales, células endoteliales vasculares, células renales, macrófagos alveolares, entre otros. Durante la fase enquistada del parásito, los bradizoítos son capaces de replicarse lentamente en tejido del sistema nervioso central (SNC) y los músculos esqueléticos (4). Un hospedero definitivo puede adquirir la infección a través de la ingestión de quistes contenidos en tejidos de animales infectados (5), como la placenta de vacas infectadas naturalmente, lo que es considerado una fuente importante de infección para perros. Aunque los ooquistes se eliminan en las heces de los perros y otros hospederos definitivos, hasta la fecha se han identificado ooquistes de *N. caninum* en pocos perros naturalmente infectados, lo que plantea dudas sobre las frecuencias de desprendimiento y la viabilidad de los ooquistes en los canes.

La detección de anticuerpos séricos y de leche se ha utilizado en varios estudios, siendo aparentemente la detección en suero más exacta (1). En América del Sur, se ha reportado una prevalencia de 12.4% en Perú, 14% - 97% en Brasil (6) y 14% - 80% en Argentina con hallazgos patognomónicos patológicos característicos (7). En Chile, la seroposividad de *N. caninum* ha sido reportada en ganado lechero en regiones de la zona centro y sur, con tasas que varían entre 15.7% y 30% (8, 9, 10). Recientes datos no publicados indican que entre el 8 y el 22% de los abortos muestran lesiones compatibles con *N. caninum* en la Región de Los Ríos (comunicación personal). Este estudio tiene como objetivo obtener información serológica y de factores de riesgo para neosporosis en granjas lecheras que forman parte de un Servicio de Apoyo Técnico del Gobierno (SAT) de la región de O'Higgins.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio. Estudio de seroprevalencia, incluyendo una encuesta y recolección y análisis de muestras.

Población de estudio y área de estudio. La población estudiada fue de vacas lecheras de granjas asociadas al programa de Servicio de Apoyo Técnico (SAT), en la región de O'Higgins, en la zona central de Chile. Este programa pertenece al Instituto Nacional de Desarrollo Agropecuario (INDAP) y brinda apoyo técnico a los productores. Hubo 11 granjas asociadas al programa SAT en la Región O'Higgins, en las comunas de Rengo, Las Cabras, Malloa, Quinta de Tilcoco y Peralillo (Figura 1). La población de bovinos fue de 47 animales.

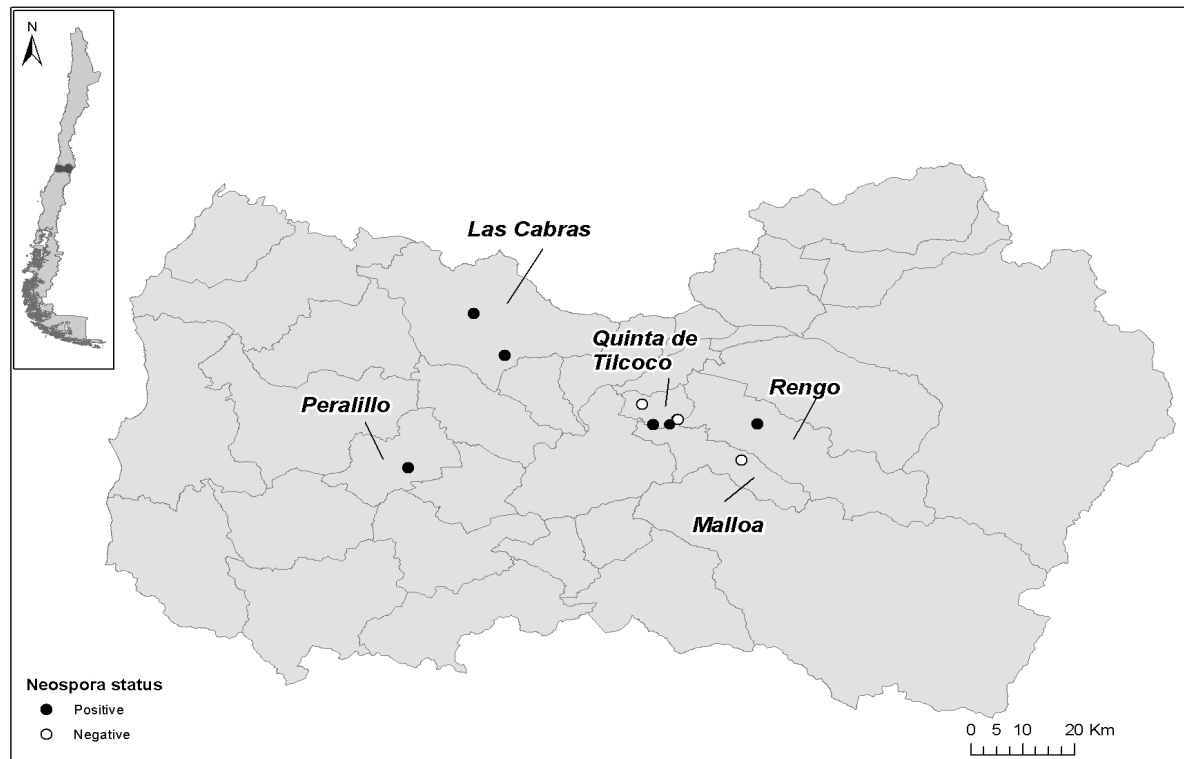


Figure 1: *Neospora caninum* positive and negative dairy farms in the Libertador Bernardo O'Higgins Region in central Chile.

in four main areas: animal information, production information, environmental factors and sanitary aspects (Table 1).

Laboratory methods. Three to five ml of blood from each cow (coccygeal vein) were collected and placed in a vacuum tubes. Samples were taken to the Epidemiology Unit laboratory, at the Faculty of Veterinary Science, University of Chile, where sera was obtained. Identification for antibodies to *N. caninum* in milking cows' sera was carried out using the IDEXX NeosporaX2 Test® (IDEXX® Laboratories, Inc., Westbrook, Maine, USA).

Data analysis. Within and among farms seroprevalence was calculated. Risk factor survey data was described using standard descriptive epidemiology methods. Afterwards, a simple logistic regression analysis was carried out, to identify risk factors for seropositivity to *N. caninum* (11).

RESULTS

Overall 47 cattle from nine different farms were sampled. Two samples could not be analyzed due to hemolysis. The seroprevalence of 67% (6/9) was found at SAT farm level. Within farm seroprevalence results (Table 2) indicate an average

Condiciones climáticas. El área de estudio es un ejemplo de clima mediterráneo con veranos secos y lluvias bajas en invierno.

Recolección de datos epidemiológicos. Para evaluar los factores de riesgo potencialmente relevantes, se visitó cada granja y se entrevistó a los agricultores. Nueve agricultores aceptaron participar en este estudio. La encuesta se formuló a partir de factores de riesgo de neosporosis previamente descritos (12), incluyendo 28 variables en cuatro áreas principales: información animal, información sobre producción, factores ambientales y aspectos sanitarios (Tabla 1).

Métodos de laboratorio. Se tomaron tres a cinco ml de sangre de cada vaca (vena coccígea) y se colocaron en tubos al vacío. Las muestras fueron llevadas al laboratorio de la Unidad de Epidemiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, donde se obtuvieron sueros. La identificación de anticuerpos de *N. caninum* en sueros de vacas lecheras se llevó a cabo utilizando el kit IDEXX NeosporaX2 Test® (IDEXX® Laboratories, Inc., Westbrook, Maine, EE.UU.).

Análisis de los datos. Fueron calculadas la seroprevalencia a nivel de granja y dentro de granja. Los datos de la encuesta de factores de riesgo se

Table 1. Information collected through survey, from small farms in the Libertador Bernardo O'Higgins Region, Chile.

General information	Categories
Farm owner name	
Contact phone	
Farm address	
Commune	
Official farm ID number	
Latitude	
Longitude	
Herd information	
Number of dairy cattle	
Number of milking cows	
Individual cow information	
DIIO (Official traceability ID number)	
Cow's age category	Less than 3 years From 3 to 6 years More than 6 years
Breed	Holstein / Jersey Crossbreed
Abortion history	Yes / No
Repeated heat	Yes / No
Herd management/biosecurity	
Farm main productive purpose	Agricultural Livestock Mixed Other
Management responsible person	
Cattle replacement obtained from outside farm	Yes / No
Origin of replacement cattle	Own / Buy
Presence of dogs in the farm	Yes / No
Number of dogs	
Access of other dogs to the farm	Yes / No
Owner of other dogs entering to the farm	Known Unknown
Dogs feed	Home made Commercial feed
Dogs can have access to birth/abortion residues	Yes / No
Dogs can have access cow's water sources	Yes / No
Dogs can have access cow's feed	Yes / No
Other animal species in the farm	
Number of poultry	
Number of Horses	
Number of cats	
Number of other domestic animals	
Cattle water source	Drinking water Water well Open water
Cattle pen floor	Muddy Dry
Herd sanitary conditions	
Other diseases present	
Brucellosis	Yes / No
Tuberculosis	Yes / No
Leucosis	Yes / No
Deworming	Yes / No
Placenta / abortion residues management	
Samples information	
Total samples collected	
Sample ID	

of 55% (considering just the six positive farms). When averaging all nine farms, the prevalence was of 37%.

Four variables resulted in a significant association with *N. caninum* infection with a $p < 0.05$ being these (Table 3): milking cows abortion history ($p = 0.037$, $OR = 5.09$), type of feed provided to dogs ($p = 0.0429$, $OR = 6$), water consumption from ditches ($p = 0.034$, $OR = 4.5$) and abortion by products

Table 2. ELISA results for *Neospora caninum* obtained from cattle in small farms in the Libertador Bernardo O'Higgins Region.

Farm ID	No. of animals sampled	No. of sero positive cows to <i>N. caninum</i>	Within farm seroprevalence
A	13	7	54%
B	5	2	40%
C	2	0	0
D	3	0	0
E	3	0	0
F	4	3	75%
G	8 ^a	2	29%
H	3 ^a	2	100%
I	6	2	33%

^a: One sample could not be analyzed

Table 3. Risk factors identified as significantly associated to positive serology to *Neospora caninum* in dairy cattle in small holders in the Libertador Bernardo O'Higgins Region.

Variable	Category	Animal no.	Odds ratio (CI 95%)	P value (<0.05)
Abortion history	Yes	10	5.09 (1.10-23.49)	0.037
	No	37	Ref.	
Dog feed source	Home made	23	6 (1.06-34.00)	0.0429
Cattle water source	Irrigation ditch	16	4.5 (1.13 - 17.99)	0.0334
Abortion and abortion by products sanitary management	Non-existent	34	7.43 (1.42-38.78)	0.0174
	Buried	13	Ref.	

describieron utilizando métodos de epidemiología de descriptiva. Posteriormente, se realizó un análisis de regresión logística para identificar los factores de riesgo de seropositividad a *N. caninum* (11).

RESULTADOS

En total, 47 bovinos de nueve granjas diferentes fueron muestreados. Dos muestras no pudieron ser analizadas debido a la hemólisis. A nivel de granjas SAT, se pudo determinar una seroprevalencia del 67% (6/9). La seroprevalencia intra granja fue en promedio de 55% (considerando solo las seis granjas positivas). Al considerar el promedio de las nueve granjas, la prevalencia fue de 37% (Tabla 2).

Cuatro variables presentaron una asociación significativa con la infección por *N. caninum* con $p < 0.05$ siendo estas (Tabla 3): historia del aborto de vacas lecheras ($p = 0.037$, $OR = 5.09$), tipo de alimento proporcionado a los perros ($p = 0.0429$, $OR = 6$), consumo de agua de canales

sanitary management ($p=0.017$, $OR=7.43$). It must be mentioned that some variables had to be removed from the study, such as production purpose (all cattle are dairy animals), repeated heat in cows, with a too low variation among responses, access to shade (all provided access) and sanitary status, with all farms with the same management, provided by INDAP.

DISCUSSION

A recent study reported 23% seroprevalence of *N. caninum* in farms in the Biobio Region (9), and previously a within farms prevalence of 16 and 30% (in the two sampled farms) was reported in La Araucanía region (8). Within farm seroprevalence of *N. caninum* found in this study was higher, ranging from 29% to 100%. The differences could possibly be explained by the fact that our study was done with small farms, in a much less technified environment comparing with the studies mentioned before. Moreover, the O'Higgins Region is located 300 km. north of Biobio region and 500 km. north of the Araucanía region, and the environmental and climatic settings are different, having the O'Higgins Region less rainfall. Rainfall is not a factor proven to affect the survival or infectivity of the parasite in the environment, but it has been linked with the occurrences of *N. caninum* abortions. Average temperatures differ between both regions, being the O'Higgins region approximately two degrees Celsius warmer, a factor described as significant, due to faster sporulation of oocysts in the environment surrounding cattle (12).

Pathological findings have shown evidence that the parasite is present in Chile and abortions with compatible neosporosis findings are being reported (Paredes et al, unpublished data). Here, three of nine farms reported abortions in the last year (33%). Of those three farms that reported abortions, only two of them resulted positive to ELISA (+) for *N. caninum* antibodies. None of the farms that reported abortions had the abortions examined or tested for any agent. The reported water source for animals was a mixture of drinking water, well water and open water sources like streams of irrigation channels and was significantly correlated to drinking water from open water sources like irrigation ditches as was previously reported (12).

In relation to dog ownership and presence, most of the *Neospora* ELISA (+) farms owned dogs (80%) and 60% reported feral dogs in the area. Dog presence has been reported as risk factor for neosporosis (13). Nevertheless, this study did not find association with dog presence, with the exception when dogs were fed with homemade food instead of commercial-pet food. A study (8)

de riego ($p=0.034$, $OR=4.5$) y aborto por manejo sanitario de productos ($p=0.017$, $OR = 7.43$). Debe mencionarse que algunas variables tuvieron que ser eliminadas del estudio, tales como el propósito de la producción (todo el ganado es de propósito lechero), la repetición del celo en las vacas, por una variación demasiado baja entre las respuestas, el acceso a la sombra (todas las granjas proporcionaban acceso) y estado de condición sanitaria, con todas las granjas con el mismo manejo, proporcionado por INDAP.

DISCUSIÓN

Un estudio reciente informó un 23% de seroprevalencia de *N. caninum* en granjas en la región de Biobio (9), previamente se había identificado una prevalencia intra granja de 16 y 30% (en dos granjas muestreadas) en la Región de la Araucanía (8). Este estudio encontró que la seroprevalencia intra granja de *N. caninum* fue mayor, variando entre 29 a 100%. Las diferencias podrían explicarse por el hecho de que nuestro estudio se realizó en granjas pequeñas, en un entorno mucho menos tecnificado comparado con los estudios mencionados anteriormente. Además, la Región O'Higgins se encuentra a 300 km al norte de la región de Biobio y a 500 km. al norte de la región de la Araucanía, y las condiciones ambientales y climáticas son diferentes, teniendo la Región O'Higgins menos lluvia. No se ha probado que la lluvia sea un factor que afecte la supervivencia o infectividad del parásito en el medio ambiente, pero se ha relacionado con la aparición de abortos por *N. caninum*. Las temperaturas medias difieren entre ambas regiones, siendo la Región O'Higgins de aproximadamente dos grados Celsius más caliente, un factor descrito como significativo, debido a la esporulación más rápida de ooquistes en el entorno que rodea al ganado (12).

Los hallazgos patológicos han mostrado evidencia de que el parásito está presente en Chile y se están reportando abortos con resultados compatibles de neosporosis (Paredes et al, datos no publicados). Aquí, tres de nueve granjas reportaron abortos en el último año (33%). De las tres granjas que reportaron abortos, sólo dos resultaron positivas para ELISA (+) para anticuerpos de *N. caninum*. Ninguna de las granjas que reportaron abortos realizaron un diagnóstico de la causa de estos. La fuente de agua reportada para los animales fue una mezcla de agua potable, agua de pozo y fuentes de agua abierta como arroyos o canales de riego y fue significativamente correlacionada con el consumo de agua de fuentes abiertas como canales de riego como se informó anteriormente.

described that dogs, in rural areas in Southern Chile, were fed commonly with bovine viscera or raw bovine meat. Finally, the lack of management of abortions and abortions by-products was identified as a significant risk factor, a factor previously described as relevant for the epidemiology of the disease (12).

Most of the *Neospora* ELISA (+) farms owned dogs (80%) and 60% of the farms reported feral dogs in the area. This finding is consistent with reports of dog presence as a risk factor for neosporosis (12). Nevertheless, this study did not find association with the presence of dogs in farms. A positive relationship was only found when dogs were fed with homemade food instead of commercial-pet food. A study (8) described that dogs, in rural areas in Southern Chile, were fed commonly with bovine viscera or raw bovine meat, behaviour that could be linked to these study results. Finally, the lack of management of abortions and abortions by-products was identified as a significant risk factor, a factor previously described as relevant for the epidemiology of the disease.

This study, although limited in size, allowed the researchers to screen a largely marginal community of farmers, providing a sanitary insight to their animals and activities. It must be emphasized that although the study considered only nine farms and 47 animals, these are over 80% of the farms and animals belonging to farmers that participate in the SAT support program in the region, and therefore a relatively large sample of the sanitary status of this farms sub population. These results highlight the need of improving *N. caninum* surveillance, and the development of preventive measures to avoid losses related with this disease.

Acknowledgments

We thank the team of the epidemiology unit at the School of Veterinary Medicine at the University of Chile, and to PROAGRO Consultores, specially to Dr. Marlene Ortiz. This study was partially funded by FONDECYT 11121265.

En relación con la propiedad y presencia de perros, la mayoría de las granjas ELISA (+) a *Neospora* poseían perros (80%) y en 60% reportaron perros ferales en la zona. Se ha reportado la presencia de perro como factor de riesgo para la neosporosis (13). Sin embargo, este estudio no encontró asociación con la presencia de perro, con la excepción cuando los perros fueron alimentados con comida casera en lugar de alimentos comerciales para mascotas. Un estudio (8) describió que los perros, en las zonas rurales del sur de Chile, se alimentaban comúnmente con vísceras bovinas o carne bovina cruda. Finalmente, se identificó la falta de manejo de los abortos y abortos como un factor de riesgo significativo, un factor previamente descrito como relevante para la epidemiología de la enfermedad (12).

Este estudio, aunque de tamaño limitado, permitió a los investigadores examinar una comunidad de agricultores en gran parte marginal, proporcionando una visión sanitaria de sus animales y actividades. Cabe destacar que, aunque el estudio consideró sólo nueve granjas y 47 animales, éstos representan más del 80% de las granjas y animales pertenecientes a los agricultores que participan en el programa de apoyo SAT en la región y por lo tanto es una muestra relativamente grande del estado sanitario de esta subpoblación de granjas. Estos resultados destacan la necesidad de mejorar la vigilancia de *N. caninum* y el desarrollo de medidas preventivas para evitar las pérdidas relacionadas con esta enfermedad.

Agradecimientos

Agradecemos al equipo de la unidad de epidemiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, y a PROAGRO Consultores, especialmente a la Dra. Marlene Ortiz. Este estudio fue parcialmente financiado por FONDECYT 11121265.

REFERENCES

1. Dubey JP, Schares G. Neosporosis in animals-The last five years. *Veterinary Parasitology* 2011; 180(1-2):90-108.
2. Dubey JP, Dorough KR, Jenkins MC, Liddell S, Speer CA, Kwok OCH, et al. Canine neosporosis: clinical signs, diagnosis, treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. *Int J Parasitol* 1998; 28(8):1293-1304.
3. Schares G, Peters M, Wurm R, Barwald A, Conraths FJ. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. *Vet Parasitol* 1998; 80(2):87-98.
4. Dubey JP, Buxton D, Wouda W. Pathogenesis of bovine neosporosis. *J Comp Pathol* 2006; 134(4):267-289.

5. Cavalcante GT, Monteiro RM, Soares RM, Nishi SM, Alves Neto AF, Esmerini PdO, et al. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed different tissues from naturally infected cattle. *Vet Parasitol* 2011; 179(1-3):220-223.
6. Andreotti R, Barros JC, Pereira AR, Oshiro LM, Cunha RC, Figueiredo Neto LF. Association between seropositivity for *Neospora caninum* and reproductive performance of beef heifers in the Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2010; 19(2):119-123.
7. Calandra PM, Di Matia JM, Cano DB, Odriozola ER, Garcia JA, Spath EJ, et al. Endemic and epidemic bovine neosporosis: description of two events in beef cattle. *Rev Argent Microbiol* 2014; 46(4):315-319.
8. Patitucci AN, Perez MJ, Israel KF, Rozas MA. Prevalence of *Neospora caninum* in two dairy herds of the IX Region of Chile. *Arch Med Vet* 2000; 32(2):209-214.
9. Gädicke P, Junod T, López-Martin J, Ortega R, Monti G. Enfermedades abortigénicas en lecherías de la Provincia de Nuble: prevalencia y análisis espacial. *Arch Med Vet* 2016; 48(1):18-26.
10. Meléndez P, Concha C, Donovan A, Bjorkman C. Evidencia serológica de *Neospora caninum* en un rebaño lechero de la zona central de Chile. *Av. en Cs. Vet* 1999; 14(1-2): 13-16.
11. Dohoo I, Martin W, Stryhn H. *Veterinary Epidemiologic Research*. AVC Inc. University of Prince Edward Island Charlottetown 2010.
12. Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20(2):323-367.
13. VanLeeuwen JA, Haddad JP, Dohoo IR, Keefe GP, Tiwari A, Scott HM. Risk factors associated with *Neospora caninum* seropositivity in randomly sampled Canadian dairy cows and herds. *Prev Vet Med* 2010; 93(2-3):129-138.