



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Tecnológico Nacional de México

Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes
Instituto Tecnológico de Tlajomulco
Programa Multisede

Tesis Doctoral

PREVALENCIA DE *Neospora caninum* y *Toxoplasma gondii* ASOCIADOS A FACTORES DE RIESGO EN OVINOS DE SEIS MUNICIPIOS DEL ESTADO DE JALISCO MÉXICO

Que para obtener el grado de
Doctor en Ciencias en Biotecnología en Procesos
Agropecuarios

Presenta:
M.C. Jaime Alcalá Gómez

Director de Tesis:
Dra. Leticia E. Medina Esparza

El Llano, Aguascalientes, México. Agosto de 2022





**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
DICTAMEN DE TESIS APROBADA**

El Llano, Aguascalientes. **04/AGOSTO/2022**

El Comité de Tesis del Candidato a grado **C. JAIME ALCALÁ GÓMEZ**, aprobado por el Claustro Doctoral de la División de Estudios de Posgrado e Investigación del Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes e Instituto Tecnológico de Tlajomulco; integrado por los **C. DRA. LETICIA ESPERANZA MEDINA ESPARZA, DR. CARLOS RICARDO CRUZ VÁZQUEZ, DR. JUAN FLORENCIO GÓMEZ LEYVA, DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN y DRA. IRENE VICTORIA VITELA MENDOZA**, habiéndose reunido a fin de evaluar el trabajo final de la tesis titulada: **“Prevalencia de Neospora caninum y Toxoplasma gondii asociados a factores de riesgo en ovinos de seis municipios del estado de Jalisco, México”**, que presenta como requisito parcial para obtener el Grado de Doctor en Ciencias en Biotecnología en Procesos Agropecuarios, según lo establecen los Lineamientos para la Operación de los Estudios de Posgrado del TecNM, y de acuerdo a las Bases para la Elaboración de Tesis de Posgrado, dictaminaron su **APROBACIÓN** para que pueda ser presentada en el Examen de Grado correspondiente.

ATENTAMENTE

*Excelencia en Educación Tecnológica®
Terra Rica, Sapientia Nostra, Homo Superior Est*

**DRA. LETICIA ESPERANZA MEDINA ESPARZA
DIRECTORA DE TESIS**

**DR. CARLOS RICARDO CRUZ VÁZQUEZ
ASESOR**

**DR. JUAN FLORENCIO GÓMEZ LEYVA
ASESOR**

**DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN
ASESOR**

**DRA. IRENE VICTORIA VITELA MENDOZA
ASESORA**

C.c.p.- Claustro Doctoral de la DEPI.
C.c.p.- Archivo



Km. 18 Carretera Ags. - S.L.P., El Llano Aguascalientes, C.P. 20330 Tel. (449) 962 - 11 - 00 ext. 212 e-mail: depi_llano@tecnm.mx tecnm.mx | llano.tecnm.mx



2022 Flores
Año de Magón
PRELUDIO A LA REVOLUCIÓN MEXICANA



DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGIA EN PROCESOS
AGROPECUARIOS

ACTA DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

El Llano Aguascalientes a 20 de 05 de 2022

C. Silvia Flores Benítez
Jefe (a) de la División de Estudios
de Posgrado e Investigación del ITEL
P R E S E N T E

Los suscritos integrantes de Comité Tutorial del C. Jaime Alcalá Gómez con Número de control: **D18900003** quien realizó la Tesis: **Prevalencia de Neospora caninum y Toxoplasma gondii asociados a factores de riesgo en seis municipios del estado de Jalisco, México.** y con fundamento en los Lineamientos del Posgrado del TecNM, nos permitimos emitir el VOTO APROBATORIO, para que el pueda proceder a imprimir, así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Ponemos lo anterior a su digna consideración y sin otro particular le remitimos un cordial saludo.

ATENTAMENTE

“Terra Rica, Sapientia Nostra, Homo Superior Est”

Vo. Bo.

Dr. (a) Leticia Esperanza Medina Esparza
Directora de Tesis

Asesores

Dr. Carlos R. Cruz Vázquez

Dr. Teófilo Quezada Tristán

Dr. (a) Irene V. Vitela Mendoza

Dr. Juan Florencio Gómez Leyva

c.c.p. Estudiante de DBPA
c.c.p. Coordinación del Programa DBPA.

CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de El Llano, Aguascalientes el día 30 del mes de mayo del año 2022, el que suscribe, C. Jaime Alcalá Gómez, alumno del Programa de Doctorado en Ciencias en Biotecnología en Procesos Agropecuarios con número de control D18900003, adscrito al Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes, manifiesta ser autor (a) del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. Leticia E. Medina Esparza, y cede los derechos del trabajo intitulado "Prevalencia de *Neospora caninum* y *Toxoplasma gondii* asociados a factores de riesgo en seis municipios del estado de Jalisco, México" y de patentes y beneficios que puedan originarse del presente, al Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes,

ATENTAMENTE



Jaime Alcalá Gómez

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca 2018-000012-01NACF-04168 otorgada durante mis estudios de posgrado. Al posgrado en Biotecnología en Procesos Agropecuarios por la formación académica brindada.

Al Tecnológico Nacional de México Campus el Llano, por todas las facilidades y apoyo recibido durante el transcurso de mis estudios del programa doctoral.

A la Dra. Leticia Medina Esparza por darme la oportunidad de integrarme a su grupo de trabajo, por su apoyo, enseñanzas, amistad y paciencia al guiarme en esta etapa.

A mis asesores: Dr. Carlos Cruz Vázquez, Dr. Teódulo Quezada Tristán, Dr. Juan Florencio Gómez Leyva y Dra. Irene Vitela Mendoza, por sus valiosas aportaciones en el desarrollo de este trabajo.

Por último, un agradecimiento a todas las personas que forman parte de mi vida y que de alguna forma u otra me han brindado su apoyo para culminar con éxito este proyecto.

DEDICATORIA

A mi familia. Porque gracias a su cariño y apoyo he llegado a realizar uno más de mis grandes anhelos en la vida, fruto del inmenso apoyo y confianza que en mí depositaron y con lo cual he logrado terminar mis estudios de posgrado que constituyen un gran legado y por lo cual viviré eternamente agradecido.

ÍNDICE GENERAL

| | Página |
|---|-------------|
| RESUMEN | xii |
| ABSTRACT | xiii |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. OBJETIVOS | 4 |
| 2.1. Objetivo General | 4 |
| 2.2. Objetivos Específicos | 4 |
| III. HIPÓTESIS | 5 |
| IV. ESTADO DEL ARTE | 6 |
| 4.1. Generalidades de los Protozoarios | 6 |
| 4.2. <i>Neospora caninum</i> | 7 |
| 4.3. <i>Toxoplasma gondii</i> | 9 |
| 4.4. Epidemiología | 10 |
| V. MATERIALES Y MÉTODOS | 14 |
| 5.1. Lugar de estudio | 14 |
| 5.2. Diseño del estudio | 16 |
| 5.3. Selección de unidades de producción | 16 |
| 5.4. Toma de muestras de sangre | 17 |
| 5.5. Prueba de ELISA | 17 |
| 5.6. Prueba PCR | 18 |
| 5.6. Análisis de resultados | 19 |
| VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 20 |
| 6.1 Selección de unidades de producción | 20 |
| 6.2 Análisis de la información de encuestas | 20 |
| 6.2.1. Número de ovinos por rancho | 21 |
| 6.2.2 Principales razas | 21 |
| 6.2.3 Sistema Productivo | 22 |
| 6.2.4 Machos y hembras reproductoras | 23 |
| 6.2.5 Sistema de remplazo | 24 |
| 6.2.6. Presencia de abortos | 24 |

| | |
|--|-----------|
| 6.2.7 Frecuencia de abortos | 24 |
| 6.2.8 Tipo de hembra que presentó aborto | 25 |
| 6.2.9 Diagnóstico clínico | 26 |
| 6.2.10 Manejo de abortos y desechos | 26 |
| 6.2.11 Alimentación | 27 |
| 6.2.12 Animales de compañía propios | 28 |
| 6.2.13 Animales externos | 29 |
| 6.2.14 Contacto de otros animales con los abortos | 29 |
| 6.2.15 Otras unidades y sistemas productivos | 30 |
| 6.2.16 Contacto con otros animales productivos | 31 |
| 6.3 Pruebas de Elisa | 31 |
| 6.3.1 Seroprevalencia <i>Neospora caninum</i> | 32 |
| 6.3.2 Seroprevalencia <i>Toxoplasma gondii</i> | 33 |
| 6.3.3 Seroprevalencia <i>N. caninum</i> + <i>T. gondii</i> | 34 |
| 6.5 Pruebas moleculares | 40 |
| 6.5.1 Prevalencia <i>Neospora caninum</i> | 40 |
| 6.5.2 Prevalencia <i>Toxoplasma gondii</i> | 42 |
| VII. CONCLUSIONES | 44 |
| VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA | 46 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | Página |
|---|--------|
| Cuadro 1. Epidemiología de <i>N.caninum</i> y <i>T. gondii.</i> , en el mundo | 12 |
| Cuadro 2. Epidemiología de <i>N.caninum</i> y <i>T. gondii.</i> , en México | 13 |
| Cuadro 3. Tamaño de muestra por municipio | 17 |
| Cuadro 4. Secuencias usadas para diagnóstico mediante PCR | 19 |
| Cuadro 5. Muestras colectadas por municipio | 20 |
| Cuadro 6. Seroprevalencia general y por municipio de <i>N. caninum</i> | 33 |
| Cuadro 7. Seroprevalencia general y por municipio de <i>T. gondii</i> | 34 |
| Cuadro 8. Porcentaje de seroprevalencia <i>N. caninum</i> + <i>T. gondii</i> | 35 |
| Cuadro 9. Factores de riesgo y OR a <i>N. caninum</i> | 39 |
| Cuadro 10. Factores de riesgo y OR a <i>T. gondii</i> | 39 |
| Cuadro 11. Prevalencia a <i>N. caninum</i> general y por municipio realizada mediante PCR | 42 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Página |
|---|--------|
| Figura 1. Ciclo biológico <i>N. caninum</i> (Dubey y col., 2017) | 8 |
| Figura 2. Ciclo biológico de <i>T. gondii</i> (Sandoval y col., 2017) | 10 |
| Figura 4. Población de ovinos reproductores por unidad de producción | 21 |
| Figura 5. Razas ovinas | 22 |
| Figura 6. Manejo del sistema de producción | 22 |
| Figura 7. Sementales por rancho | 23 |
| Figura 8. Hembras reproductoras | 24 |
| Figura 9. Rango frecuencia de abortos | 25 |
| Figura 10. Tipo de hembra en la que se presentó mayor frecuencia de abortos | 25 |
| Figura 11. Manejo de abortos y desechos | 26 |
| Figura 12. Destino de la mortalidad que se tira | 27 |
| Figura 13. Profundidad a la que se entierran abortos y desechos | 27 |
| Figura 14. Alimentación de los ovinos | 28 |
| Figura 15. Animales de compañía propios en el predio | 28 |
| Figura 16. Principales animales externos que entran al predio | 29 |
| Figura 17. Contacto de animales con abortos y recién nacidos | 30 |
| Figura 18. Animales productivos en el interior de la unidad de producción | 30 |
| Figura 19. Contacto de ovinos con otros animales productivos | 31 |
| Figura 20. Kits comerciales de ELISA y procesamiento de muestras | 32 |
| Figura 21. Kit comercial de extracción de ADN y gel de agarosa al 1% con ADN genómico | 40 |

Figura 22. Gel de agarosa al 2% con productos amplificados de PCR para *N. caninum*. De izquierda a derecha. Carril 1, marcador de pesos molecular 1kb, carril 2, control negativo, carril 3 control positivo, carril 4 a 20 muestras ovinos 42

RESUMEN

Neospora caninum y *Toxoplasma gondii* son parásitos del phylum apicomplexa, considerados entre los principales problemas reproductivos en ovinos. El objetivo de este estudio fue analizar la epidemiología de la infección por *N. caninum* y *T. gondii* en ovejas reproductoras del centro occidente de México, mediante la identificación de anticuerpos específicos, el hallazgo de ADN de los parásitos en sangre, así como estimar los factores asociados a la seropositividad. Se colectaron 184 muestras de suero y sangre de ovejas en etapa reproductiva las cuales fueron analizadas mediante pruebas de ELISA y PCR, respectivamente, y la asociación entre la seroprevalencia y algunos factores de manejo fueron estimados por medio de un análisis de regresión logística. Para *N. caninum* se detectó una seroprevalencia de 15.22%, mientras que con PCR se observó el 14.13% (26/184); se tuvieron animales positivos en el 75% de las granjas. Se identificaron como factores de riesgo a la infección por *N. caninum* a las variables de historial de abortos (OR 1.5), mal manejo de desechos (OR 8.4) y presencia de roedores (OR 1.3). En el caso de *T. gondii*, se encontró una seroprevalencia de 61.96%, y se identificaron anticuerpos en todas las granjas incluidas en el estudio; no se identificaron muestras positivas para *T. gondii* mediante la prueba de PCR. Los principales factores de riesgo identificados para *T. gondii* fueron: condiciones pobres de higiene (OR 12.5), presencia de gatos (OR 9.5), presencia de otros animales de granja (OR 5.7), granja en entorno urbano (OR 9.5), y agua de suministro público (OR 5.3). Por lo anterior, se considera que *N. caninum* y *T. gondii* son parásitos de importancia en la zona de estudio, al observar que *T. gondii* presenta una seroprevalencia elevada, mientras que *N. caninum* fue menor, pero considerable. Ambas enfermedades se asocian con pérdidas reproductivas. Los factores de riesgo identificados pueden ser útiles para el personal responsable de las unidades de producción, con la finalidad de reducir la exposición a estos parásitos y los daños provocados a la salud pública y veterinaria.

ABSTRACT

Neospora caninum and *Toxoplasma gondii* are parasites of the phylum apicomplexa, considered among the main reproductive problems in sheep. The objective of this study was to analyze the epidemiology of *N. caninum* and *T. gondii* infection in breeding sheep from central western Mexico by identifying specific antibodies, finding parasite DNA in blood, and estimating factors associated with seropositivity. A total of 184 serum and blood samples were collected from breeding ewes and analyzed by ELISA and PCR tests, respectively, and the association between seroprevalence and some management factors were estimated by logistic regression analysis. A seroprevalence of 15.22% was detected for *N. caninum*, while PCR was observed in 14.13% (26/184); positive animals were found in 75% of the farms. The following variables were identified as risk factors for *N. caninum* infection: history of abortions (OR 1.5), poor waste management (OR 8.4) and presence of rodents (OR 1.3). In the case of *T. gondii*, a seroprevalence of 61.96% was found, and antibodies were identified in all farms included in the study; no *T. gondii* positive samples were identified by PCR test. The main risk factors identified for *T. gondii* were: poor hygienic conditions (OR 12.5), presence of cats (OR 9.5), presence of other farm animals (OR 5.7), farm in urban environment (OR 9.5), and public water supply (OR 5.3). Therefore, it is considered that *N. caninum* and *T. gondii* are important parasites in the study area, since *T. gondii* has a high seroprevalence, while *N. caninum* was lower, but considerable. Both diseases are associated with reproductive losses. The risk factors identified can be useful for the personnel responsible for the production units, with the purpose of reducing exposure to these parasites and the damage caused to public and veterinary health.

I. INTRODUCCIÓN

La producción agrícola y de productos animales, se sustenta en la agricultura y la ganadería. La relación territorial y temporal entre estas dos formas de producción ha variado a lo largo de la historia y de las distintas regiones del planeta y su balance ha sido el motor del desarrollo económico, social y cultural desde hace cuando menos 10,000 años (Guevara y Lira, 2011). La actividad pecuaria en nuestro país es de gran importancia, tanto por su participación en la economía, como por la población que en ella se desempeña. Asimismo, el elevado porcentaje del territorio nacional dedicado a la actividad ganadera, estimado en 56%, denota claramente el potencial productivo de la nación (Duran y col., 2001).

La producción ovina en México se realiza bajo sistemas de pastoreo tradicionales. Se clasifican e identifican de acuerdo a la región que pertenecen. Región norte, desarrolla la producción con ovinos de lana y carne en sistemas tecnificados; Región centro, producen en sistemas con cruza de ovinos Suffolk o Hampshire y razas de pelo. Región sur y sureste se desarrollan en sistemas con características tropicales con razas de pelo como Pelibuey y Black Belly, aunque en la actualidad se han introducido en los rebaños razas especializadas en producción de carne como Dorper y Katahdin (Hernández y col., 2017).

Se realizó en el año 2011, un análisis del desarrollo de nuevas tecnologías e investigaciones asociadas a la producción ovina en México donde es evidente que este sistema de producción pecuaria se encuentra alejado de las necesidades reales de la producción, ya que se han enfocado en desarrollar alternativas enfocadas a los productores que cuentan con sistemas de producción intensivos y recursos económicos que permiten adaptar estos avances, sin atender las necesidades del resto de los ovinocultores de bajos recursos, además las personas involucradas en el sistema ovino así como los investigadores, técnicos y áreas gubernamentales, pocos

han identificado el requerimiento de integración para lograr estrategias que impacten en el mejoramiento de la producción de carne de ovino (Mondragón y Jaime, 2011). Por lo tanto, es de suma importancia comenzar con acciones que nos lleven a fortalecer la sanidad de los rebaños ovinos mediante el diagnóstico de enfermedades destacando las enfermedades parasitarias.

Es importante señalar la presencia de protozoarios como *N. caninum* y *T. gondii* los cuales, son causa de grandes pérdidas dentro de las unidades de producción, debido principalmente a los problemas reproductivos que estos generan. En el caso de *N. caninum*, (Dubey y Schares, 2011), lo describen como un parásito protozoario del phylum apicomplexa que presenta similitudes morfológicas con *T. gondii*, es capaz de infectar animales domésticos y salvajes, entre los que se incluyen caninos, estos últimos considerados como hospederos definitivos. Asociado a la infección y problemas causados por *N. caninum*, se deben tomar en cuenta cuales son los factores de riesgo asociados, ya que estos pueden ser diversos, al considerar algunos criterios como la ubicación de la zona, el manejo del sistema y la presencia del hospedero definitivo sean domésticos o salvajes, propios o ajenos.

Por su parte la toxoplasmosis es una enfermedad que afecta un gran número de especies donde se incluye el humano, por lo que es considerada como una enfermedad zoonótica, específicamente en los ovinos, se relaciona con abortos, mortalidad de corderos y desecho de animales, los que genera un impacto importante en la economía de los productores dedicados a esta actividad (Dubey y col., 2020).

En México existen algunos reportes en los que se ha identificado la presencia de *N. caninum* (Castañeda–Hernández y col., 2014; Romo-Gallegos y col., 2019) y *T. gondii* en ovinos (Hernández–Cortázar y col., 2015; Suazo Cortez y col., 2019) sin embargo, en la actualidad no existen reportes que mencionen la epidemiología de ambos parásitos en seis de los municipios del estado de Jalisco que se han caracterizado por el desarrollo del sistemas ovino, por lo que los resultados del presente estudio nos

brinda un panorama amplio sobre la epidemiología de ambas enfermedades en la unidades de producción, además de identificar los principales factores de riesgo.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Determinar la prevalencia y factores de riesgo asociados a la infección por *N. caninum* y *T. gondii.*, en ovinos de seis municipios del estado de Jalisco, México

2.2 Objetivos Específicos

Determinar la seroprevalencia de anticuerpos anti *N. caninum* y *T. gondii.*, mediante la técnica de ELISA

Determinar la prevalencia de *N. caninum*, y *T. gondii.*, en sangre, mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Asociar la prevalencia y seroprevalencia con los factores de riesgo identificados mediante regresión logística

III. HIPÓTESIS

Los factores de riesgo presentes en rebaños ovinos están asociados a la presencia simultanea de las infecciones por *N. caninum*, y *T. gondii.*, en seis municipios del estado de Jalisco.

IV. ESTADO DEL ARTE

4.1 Generalidades de los Protozoarios

La antigüedad de los protozoarios se ha identificado debido a la presencia de restos duros de radiolarios y foraminíferos en los suelos precámbricos. Gran número de los organismos flagelados pertenecen a la subclase fitomastiginos, los cuales poseen células al interior de una matriz común donde se observa la combinación fisiológica entre estos individuos. Algunos ejemplares se asocian mediante filamentos protoplasmáticos, y en volvox muestran diferencias con las células vegetativas y reproductoras. Esto muestra similitud a la formación de tejidos y a la separación en células somáticas y germinativas en los Metazoos.

Existe una gran diversidad de protozoarios que son considerados de vida libre, En varias ocasiones, estos pueden llegar a vivir dentro de otros animales o ejemplares de mayor tamaño, esto puede indicar la forma en la que se pudieron desarrollar las primeras especies de parásitos a partir de organismos de vida libre. Existen diversos microorganismos flagelados que tienen clorofila, debido a su anatomía y fisiología muestran similitud con algas, lo cual sugiere un origen en común entre plantas y animales. Los mastigóforos se pueden considerar como el grupo con mayor antigüedad, por el contrario, los ciliados se consideran como más especializados mientras que los esporozoos tienen una forma mucho más simple, esto se puede asociar al estilo de vida únicamente parasitaria. La mayoría de los protozoarios son especímenes pequeños que pueden llegar a medir alguna micras (μ) la cual es igual a 1/1000 de milímetro. Algunos ejemplares miden de 2 a 3 μ de longitud. Un grupo de alrededor de 12 individuos de *Babesia* (esporozoo) puede habitar al interior de un glóbulo rojo, y varias centenas de *Leishmania* (flagelados) de manera interna en una sola célula. La mayoría de los individuos de estos grupos miden menos de 250 μ de sin embargo algunos como *Spirostomon* (ciliado) puede llegar a crecer 3 mm, mientras que *Porospora gigantea* (esporozoo) se estima puede alcanzar los 16 mm. (Álvarez,

2006). De los protozoos que actualmente tienen mayor impacto económico se pueden mencionar son los siguientes:

4.2 *Neospora caninum*

Es un parásito del género apicomplexa intracelular obligado con un ciclo de vida heteroxeno complejo en el que el perro doméstico y otros cánidos actúan como huéspedes definitivos y diferentes animales silvestres y productivos, que actúan como hospedadores intermedios naturales (Dalla Rosa y col., 2011; Regidor y col., 2014; Sloan y col., 2017). Este parásito es considerado actualmente como uno de los factores causantes de aborto en bovinos a nivel mundial, lo que resulta en grandes pérdidas económicas. Los animales que llegan a término pueden nacer débiles o clínicamente saludables, pero persistentemente infectados (Jiménez y col., 2017). Además de los casos de neosporosis en bovinos, también se han reportado infecciones en caballos, ovejas, cabras ciervos y otros animales silvestres incluso mamíferos marinos (Dubey y col., 2017). Por lo tanto, se considera un problema de salud veterinaria que tiene un impacto económico en la producción ganadera a través de pérdidas en la producción (Mahittikorn y col., 2017). *N. caninum* es uno de los patógenos transplacentarios más efectivos. La invasión y proliferación de parásitos en los tejidos placentarios y la diseminación al feto son eventos cruciales en el resultado de las infecciones causadas por este protozoario (Horcajo y col., 2017). Este parásito tiene un ciclo de vida heteroxeno para el desarrollo de etapas sexuales y asexuales (Figura 1). Las etapas de taquizoitos de replicación rápida se diseminan dentro del huésped y son responsables de la fase aguda de infección, los bradizoítos que residen dentro de los quistes tisulares, se replican lentamente y son responsables de la persistencia del parásito en el ganado, mientras que los esporozoitos están contenidos dentro del oquiste, que es la estructura responsable de la supervivencia en el medio y la transmisión horizontal entre un huésped definitivo e intermediario. El huésped definitivo arroja oquistes no esporulados que sufren de esporogonia para volverse

infectivos. Cuando son ingeridos por el huésped intermediario, los esporozoitos se liberan y transforman en taquizoitos, que pueden proliferar y diseminarse a diversos órganos. Esta fase concluye cuando el huésped desarrolla respuesta inmune provocando la conversión de taquizoitos en bradizoitos de proliferación lenta que se desarrollan dentro de quistes tisulares, generalmente confinados al tejido nervioso y al músculo esquelético donde se establece la fase persistente de la infección (Marugan, 2017).

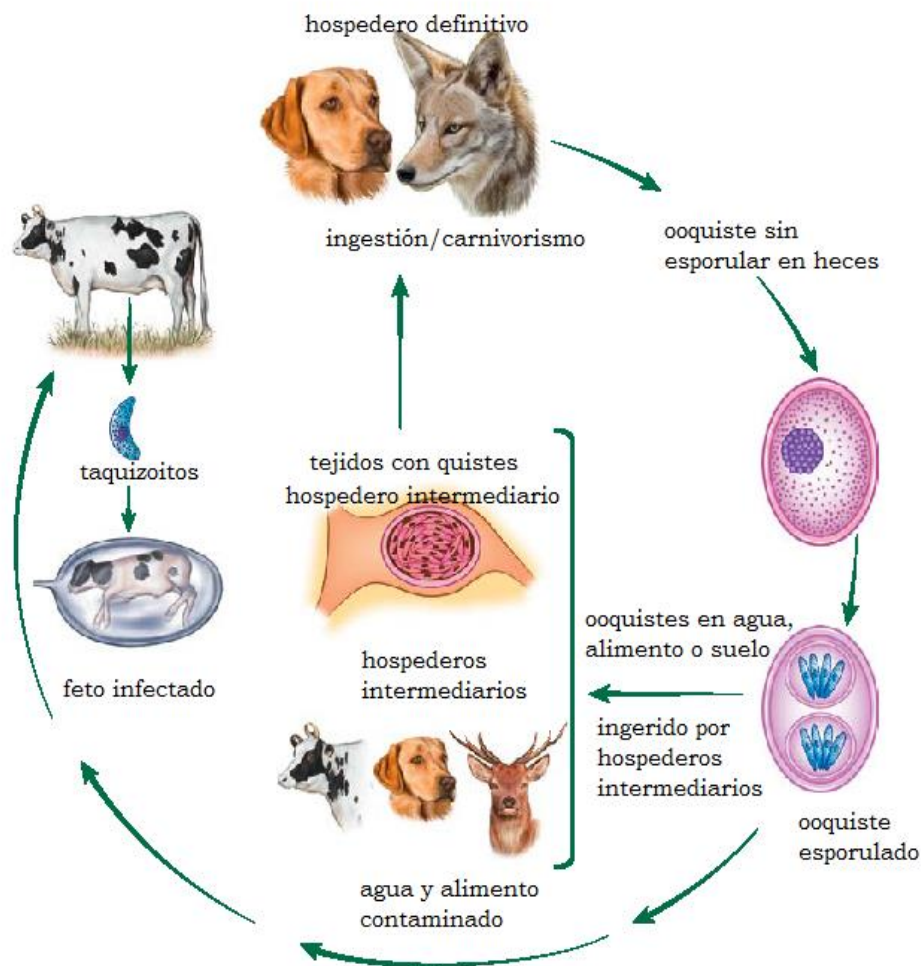


Figura 1. Ciclo biológico *N. caninum* (Dubey y col., 2017)

4.3 *Toxoplasma gondii*

La toxoplasmosis es considerada una enfermedad zoonótica causada por un protozoo intracelular conocido como *Toxoplasma gondii*. Este es un parásito con posibilidades de encontrarse por la mayor parte del planeta, por lo que es posible afectar a un gran número de animales de sangre caliente incluido el hombre. (Sanz, 2010).

El ciclo biológico de *T. gondii* (Figura 2) es de vital importancia para poder entender la vida de este organismo y el daño que puede causar en la salud pública y veterinaria. Como huéspedes definitivos, necesarios para cumplir con su ciclo de vida, encontramos felinos domésticos y salvajes. Posterior a la infección, el hospedero libera ooquistes en el ambiente por medio de las excretas. Después de ser ingeridos los ooquistes por el hospedero intermediario, se desarrolla en el interior de este la fase aguda también conocida como taquizoito, la cual se caracteriza por ser agresiva y de replicación acelerada en el interior de las vacuolas o de células nucleadas. Por su parte el hospedero desarrolla una fase para la contención del parásito denominada bradizoito o fase crónica la cual se caracteriza por estar al interior de quistes ubicados en el cuerpo del hospedero intermediario. Los quistes tisulares pueden durar por periodos de meses o años posterior a la infección considerándose como una fuente importante para la continuación del ciclo de vida del parásito en huéspedes definitivos e intermediarios (Primrose, 2014; Mogollón, 2016; Rizzo y col., 2017) mencionan entre los principales padecimientos provocados por *T. gondii* en ovinos se encuentran trastornos reproductivos como el aborto, momificación fetal, reabsorción embrionaria y en el caso de los corderos que llegan a término estos nacen débiles.

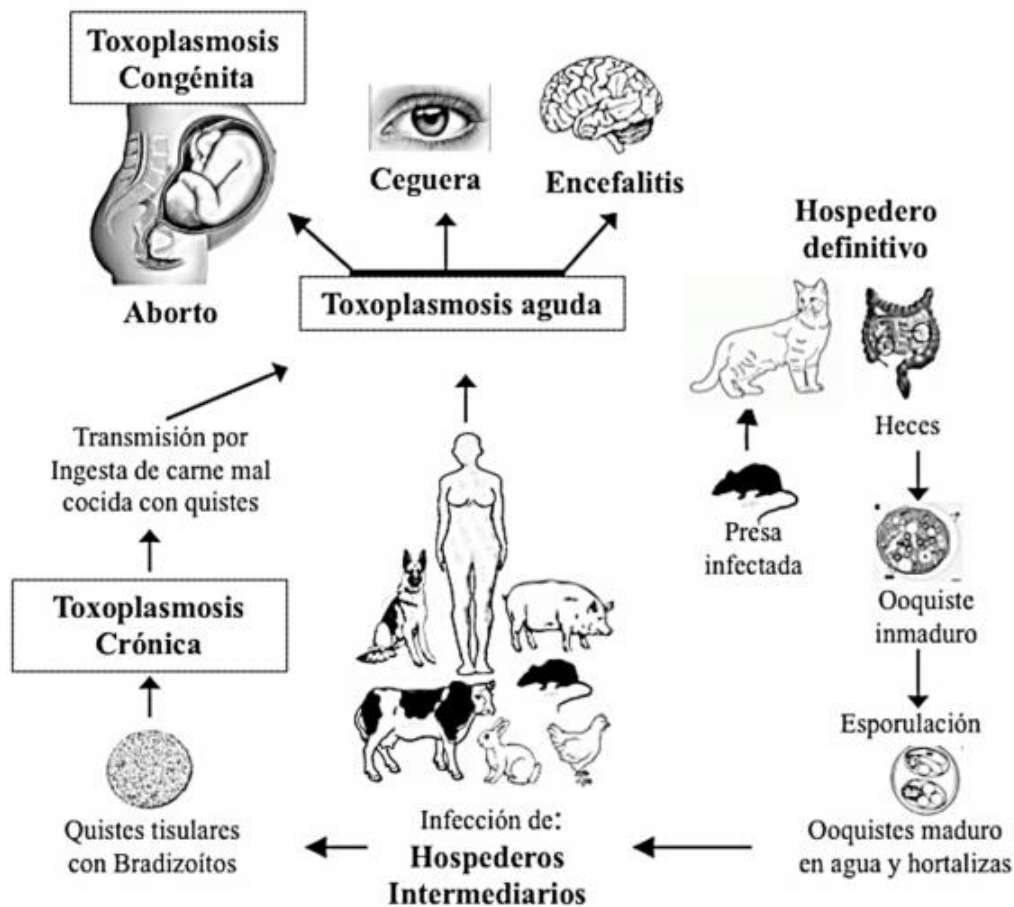


Figura 2. Ciclo biológico de *T. gondii* (Sandoval y col., 2017)

4.4 Epidemiología

En la actualidad existen reportes alrededor del mundo que señalan la presencia de *N. caninum* y *T. gondii*, en animales silvestres y productivos. Stelzer y col., (2019) mencionan la existencia de más de 200 artículos en diversos países antes del año 2010 en donde se describe la infección por *T. gondii*, además de identificar varios factores de riesgo, sobresaliendo algunos como la presencia del hospedero definitivo, edad, genero, sistema de producción, geografía, clima, entre otros.

A pesar de que se conoce el impacto que pueden provocar estas parasitosis en los animales productivos, en muchos países se desconoce las pérdidas económicas que pueden llegar a provocar. (Freyre y col., 1999), realizan una publicación en la que se

analizan las pérdidas generadas por la toxoplasmosis en los rebaños ovinos, logrando estimar entre 14,000 y 40,000 fetos abortados, calculado que cada aborto costaba a los productores entre 10 a 12 dólares, lo cual genera un total que oscila entre 1.4 a 4.68 millones de dólares. Por otra parte, Bennet y col., (2005) analizan los costos asociados a pérdidas y tratamiento asociado a toxoplasmosis en Gran Bretaña, determinando valores de 12 a 18 millones de libras por cuestiones de pérdidas relacionadas con abortos y problemas reproductivos, además de un millón de libras en tratamiento de problemas reproductivos relacionados a *T. gondii*. Con relación a costos directos e indirectos, (Perry y Randolph, 1999) mencionan la optimización en el manejo del rebaño, tratamiento de animales enfermos, control, monitoreo y diagnóstico, sacrificio de animales infectados, reducción en el rendimiento de leche, altas pérdidas en animales infectados, reducción de la fertilidad y abortos, periodos prolongados de engorda, debilidad y malformación.

En el Cuadro 1 se presenta una revisión detallada sobre la prevalencia asociada a *N. caninum* y *T. gondii* en varios países, detallando el tamaño de muestra, la especie evaluada, la técnica de diagnóstico, prevalencia, así como autor y año de la publicación. Mientras que en el Cuadro 2 se puede apreciar una revisión de reportes realizados en nuestro país en diversos estados de la república en donde se realizó diagnóstico en animales domésticos y salvajes.

Cuadro 1. Epidemiología de *N.caninum* y *T. gondii.*, en el mundo

| País | Tamaño de muestra | Especie animal | Protozoario | Técnica | Prevalencia | Autor |
|---------------|-------------------|----------------|--------------------------------------|-------------|-------------|-------------------------|
| Brasil | 64 | Ovino | <i>T. gondii</i> | IFI | 4.69% | Moraes y col., 2011 |
| Brasil | 64 | Ovino | <i>T. gondii</i> | IFI | 18.75% | Moraes y col., 2011 |
| Nueva Zelanda | 2224 | Ovino | <i>T. gondii</i> | MAT | 85% | Dempster y col., 2011 |
| Caribe | 305 | Ovino | <i>T. gondii</i> | ELISA | 48-89% | Hamilton y col., 2014 |
| China | 600 | Ovino | <i>T. gondii</i> | ELISA e IFI | 21.33% | Liu y col., 2015 |
| Túnez | 204 | Ovino | <i>T. gondii</i> | MAT | 40.2% | Lamhar y col., 2015 |
| China | 600 | Ovino | <i>T. gondii</i> + <i>N. caninum</i> | ELISA e IFI | 6.50% | Liu y col., 2015 |
| China | 600 | Ovino | <i>N. caninum</i> | ELISA e IFI | 10.33% | Liu y col., 2015 |
| Italia | 502 | Ovino | <i>T. gondii</i> | IFI | 96.6% | Gazzonis y col., 2015 |
| Brasil | 80 | Ovino | <i>T. gondii</i> | PCR | 15.00% | Portella y col., 2016 |
| Brasil | 300 | Ovino | <i>T. gondii</i> | IFI | 41.30% | Tafner y col., 2016 |
| Brasil | 80 | Ovino | <i>N. caninum</i> | PCR | 0.00% | Portella y col., 2016 |
| Etiopia | 1360 | Ovino | <i>T. gondii</i> | ELISA | 33.7% | Tilahun y col., 2018 |
| Egipto | 398 | Ovino | <i>T. gondii</i> | ELISA | 4.1-26% | Al-Kappany y col., 2018 |
| Brasil | 300 | Ovino | <i>N. caninum</i> | IFI | 19.30% | Tafner y col., 2016 |
| Irán | 450 | Ovino | <i>T. gondii</i> | ELISA | 33.62% | Izadyar y col., 2019 |
| Estonia | 1599 | Ovino | <i>T. gondii</i> | ELISA | 41.71% | Tagel y col., 2019 |
| Brasil | 932 | Ovino | <i>N. caninum</i> | IFI | 12.45% | Mendoca y col., 2019 |
| Senegal | 278 | Ovino | <i>T. gondii</i> | MAT | 60.1% | Dahourou y col., 2019 |
| Senegal | 174 | Ovino | <i>N. caninum</i> | ELISA | 41.9% | Dahourou y col., 2019 |

Cuadro 2. Epidemiología de *N.caninum* y *T. gondii.*, en México

| Estado | Tamaño de muestra | Especie animal | Protozoario | Técnica | Prevalencia | Autor |
|---------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------|-------------|------------------------------|
| Morelos | 702 | Ovino | <i>T. gondii</i> | IFI | 37.9% | Cruz-Vázquez y col., 1992 |
| Aguascalientes | 324 | Ovino | <i>N. caninum</i> | ELISA y PCR | 25% | Castañeda y col., 2014 |
| Veracruz | 402 | Cerdo | <i>T. gondii</i> | MAT | 45.30% | Alvarado y col., 2014 |
| Yucatán | 104 | Ovino | <i>T. gondii</i> | ELISA | 42.30% | Hernández y col., 2014 |
| Durango | 239 | Asno | <i>N. hughesi</i> | ELISA | 0.80% | Alvarado y col., 2017 |
| Veracruz | 144 | Búfalo de agua | <i>N. caninum</i> | ELISA | 24.3% | Romero-Salas y col., 2017 |
| Aguascalientes | 71 | Bovino | <i>N. caninum</i> | ELISA y PCR | 41%/44% | Medina-Esparza y col., 2018 |
| Tamaulipas | 186 | Bovino | <i>N. caninum</i> | ELISA | 11.9% | Rábago-Castro y col., 2018 |
| Jalisco | 368 | Ovino | <i>N. caninum</i> | ELISA y PCR | 13.5%/27% | Romo y col., 2019 |
| Sureste de México | 42 | Felinos salvajes | <i>T. gondii</i> | ELISA | 100% | Gómez y col., 2019 |
| Yucatán | 4 | Mamíferos salvajes | <i>T. gondii</i> | PCR | 75% | Torres y col., 2019 |
| Veracruz | 414 | Ovino | <i>T. gondii</i> | ELISA | 35.90% | Suazo y col., 2020 |
| Puebla, Tabasco, Veracruz | 422 | Bovino | <i>N. caninum</i> | ELISA | 24% | Zarate-Martínez y col., 2020 |

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Lugar de estudio

La presente investigación se realizó en el estado de Jalisco, considerando seis municipios, según información del gobierno del estado 2019, presentan las siguientes características:

La Barca

Ubicado al este del estado. Su ubicación geográfica va de los 20°15'30" a los 20°26'45" latitud norte y entre 102°20'40" a 102°21'20" longitud oeste, con una altitud de 1,530 metros sobre el nivel del mar. El clima del municipio se considera semiseco con invierno y primavera secos, y semicálidos sin cambio térmico definido. La temperatura media anual es de 19.7° C., y tiene una precipitación media anual de 862.7 milímetros con régimen de lluvias en los meses de junio a octubre. Los vientos dominantes son en dirección este, oeste y sur. El promedio de días con heladas al año es de 6.6.

Ixtlahuacán del Rio

Se ubica en la parte central del estado de Jalisco, a 50 kilómetros de la capital Guadalajara, su ubicación geográfica se encuentra entre los 20° 42'40" y 21° 05' 23" latitud Norte y 103° 63'09" a 103° 22' 35" de longitud Oeste. El clima es semiseco con invierno y primavera seca y semicálida, con invierno benigno. La temperatura media anual es de 19°C cuenta con una precipitación media anual de 855.2 milímetros con régimen de lluvias durante los meses de junio, julio y agosto. Los vientos dominantes son en dirección norte. El promedio de días con heladas al año es de 30.

Tepatitlán de Morelos

Su ubicación con respecto al, estado es al centro y según la región al sureste, en las coordenadas geográficas 20° 54' 50" y los 21° 01' 30" con latitud norte y 102° 33' 10" a 102° 56' 15" de longitud oeste con una altitud de 1,800 metros sobre el nivel del mar. El clima del municipio es semiseco con invierno y primavera secos, y semicálidos con invierno benigno. La temperatura media anual es de 19° C, y tiene una precipitación media anual de 874.7 milímetros con régimen de lluvia en los meses de junio, julio y

agosto. Los vientos dominantes son de dirección sureste. El promedio de días con heladas al año es de 9.5.

Tlajomulco de Zúñiga

El municipio se encuentra en la parte media de la región centro del estado de jalisco, en la ubicación geográfica 20° 28' latitud norte y 103° 27' longitud oeste, a una altitud de 1,575 metros sobre el nivel del mar. El clima del municipio es semiseco con invierno y primavera secos, y semicálidos sin estación invernal definida. La temperatura media anual es de 19. 7° C, y tiene una precipitación media anual de 821.9 milímetros. Los vientos dominantes son de dirección norte. El promedio de días con heladas al año es de 4.3.

Yahualica de González Gallo

Yahualica se ubica en la región centro norte del estado de Jalisco, entre las coordenadas geográficas 20°59'00" latitud norte y 103°48'30" longitud oeste, con una altitud de 1,750 metros sobre el nivel del mar. El clima del municipio es semiseco con otoño, invierno y primavera secos y semicálidos sin estación invernal definida. Su temperatura media anual es de 18.3° C y tiene una precipitación media anual de 693.1 milímetros con régimen de lluvia durante los meses de junio, julio, agosto y noviembre. Los vientos dominantes son en dirección oeste. El promedio de días con heladas al año es de 10.

Zapopan

El municipio se ubica en la parte centro del estado, en las coordenadas 20°25'30" a 20°57'00" latitud norte y 103°19'30" a 103°39'20" longitud oeste, a una altitud de 1,548 metros sobre el nivel del mar. El clima del municipio es templado, semiseco con invierno y primavera secos, y semicálidos con invierno benigno. Al norte y sur, es semiseco con invierno y primavera secos, y semicálido. temperatura media anual es de 23. 5° C, y tiene una precipitación media anual de 906.1 milímetros con régimen de lluvia en los meses de junio a octubre. Los vientos dominantes son con dirección este, el promedio de días con heladas al año es de 5.12.

5.2 Diseño del estudio

Es un estudio epidemiológico de tipo observacional, lo que permite describir las características de individuos con respecto a la presencia o ausencia del factor de exposición o enfermedad de manera simultánea en un momento dado (Jaramillo y Martínez, 2010). En este proyecto se consideró para la muestra, hembras adultas en etapa reproductiva.

5.3 Selección de unidades de producción

La selección de las unidades de producción se realizó bajo los siguientes criterios de inclusión:

- 1) Que la unidad de producción se localice dentro de la zona de estudio.
- 2) Que se dediquen a la producción de ovinos con pie de cría.
- 3) Que los productores permitan las facilidades para la toma de muestras y monitoreo de los animales.
- 4) Que se tengan la presencia de los hospederos definitivos.

La toma de muestras se realizó en seis municipios del estado de Jalisco, los cuales, según la división política y administrativa, tres se localizan en la región centro, dos en la región Altos Sur y uno en la región Ciénega. El número de muestras se determinó asignando criterios de inclusión según el muestreo descrito por Etikan y Alkassim (Etikan y Alkassim., 2016). (Cuadro 3)

Cuadro 3. Tamaño de muestra por municipio

| Tamaño de muestra | | |
|-----------------------------|------------|----------------------------|
| Municipio | UP* | Muestras colectadas |
| Ixtlahuacán del Rio | 2 | 24 |
| La Barca | 1 | 72 |
| Tepatitlán de Morelos | 1 | 23 |
| Tlajomulco de Zúñiga | 2 | 28 |
| Yahualica de González Gallo | 1 | 18 |
| Zapopan | 1 | 19 |
| Sumatoria | 8 | 184 |
| Tamaño de muestra | 8 | 184 |

*Unidad de producción

5.4 Toma de muestras de sangre

Se realizó mediante punción en la vena yugular con tubos Vacutainer nuevos, obteniendo dos muestras, la primera de ellas en tubo con anticoagulante EDTA y la segunda sin este para la extracción de suero. En el laboratorio las muestras sin anticoagulante fueron centrifugadas a 1000 x g durante 10 minutos para la separación del suero, este se colocó en tubos Eppendorf de 1.5 ml almacenados junto a la segunda muestra que fue usada para el diagnóstico mediante PCR. Todo se almacenó a – 20 °C hasta su uso.

Al realizar la visita para la toma de muestras se aplicó una encuesta al productor o responsable del rebaño con la finalidad de obtener información y datos sobre el manejo general de la unidad de producción, e identificar posibles factores de riesgo.

5.5 Prueba de ELISA

Las muestras de suero fueron sometidas a una prueba de ELISA indirecta, para identificar anticuerpos IgG contra *N. caninum* usando el kit comercial IDEXX Neospora Ab Test (IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, Maine), con una especificidad de 98.8%

y sensibilidad del 98.6%, siguiendo las recomendaciones del fabricante, el suero se diluyó 1:100, las lecturas de las placas se realizaron a una densidad óptica de 650 nm, considerando un punto de corte de 0.5. Los casos positivos y negativos se determinaron mediante el software xChekPlus de IDEXX Laboratories. La seroprevalencia de *T. gondii* se determinó mediante el kit comercial IDEXX Toxotest Ab Test (IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, Maine), que cuenta con 100% de especificidad y 98.9 de sensibilidad, fueron seguidas las recomendaciones del fabricante, diluyendo los sueros 1:400, la lectura de placa se realizó con una densidad óptica de 450 nm y punto de corte de 0.3. La determinación de casos positivos y negativos se realizó mediante el software xChekPlus de IDEXX Laboratories.

5.6 Prueba PCR

Para la extracción de DNA genómico, de las muestras de sangre, se utilizó un kit comercial (*Quick-DNA/RNA Blood Tube Kit*, Zymo Research Corporation), siguiendo las recomendaciones del fabricante, posteriormente se verificó la concentración de DNA en un espectrofotómetro Nanodrop. Las pruebas de PCR se realizaron agregando 5 µL de muestra a una concentración de 2 µg de DNA.

La detección de *N. caninum* se realizó con los primers Np6 plus y Np21 (Cuadro 4.) Muller y col., (1996) incluidos controles positivos y negativos. El control positivo se obtuvo a partir de un fragmento sintético del gen Nc5 de *N. caninum* que incluyó las secuencias Np6 y Np21 plus. El protocolo de amplificación se desarrolló bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial durante 2 minutos a 95°C, seguido de 40 ciclos durante 60 segundos a 95°C, alineación durante 60 segundos a 60°C; con una extensión final de 2 minutos a 72°C (Muller y col., 1996). Los productos amplificados, se visualizaron en un gel de agarosa al 2% teñidos con Gel Red, se agregó un marcador de peso molecular para determinar el tamaño de las amplificaciones. Las muestras se consideraron como positivas al observar un producto amplificado de 337 pares de bases.

Para el diagnóstico de *T. gondii* se usaron los primers TOX4 y TOX5 (Cuadro 4.) (Homan y col., 2000), así como control negativos y positivo que se obtuvo a partir de un fragmento sintético del gen B1 de *T. gondii* que incluyó las secuencias TOX4 y TOX5 plus.

Fueron aplicadas las siguientes condiciones de amplificación: desnaturalización inicial durante 2 minutos a 95°C, seguida de 35 ciclos durante 60 segundos a 94°C, alineación durante 60 segundos a 65°C, extensión por 60 segundos a 72°C; con una extensión final de 10 minutos a 72°C (Homan y col., 2000). Las amplificaciones se observaron en un gel de agarosa al 2% teñidos con Gel Red, se agregó un marcador de peso molecular para determinar el tamaño de los productos. Las muestras se consideraron como positivas al observar un producto amplificado de 529 pares de bases.

Cuadro 4. Secuencias usadas para diagnóstico mediante PCR

| Protozooario | Región | Secuencia del primer | Producto amplificado |
|--|--------|---|----------------------|
| <i>Toxoplasma gondii</i> Homan <i>et al.</i> , 2000 | B1 | F:CGCTGCAGGGAGGAAGACGAAAGTTG R: CGCTGCAGACACAGTGCATCTGGATT | 529bp |
| <i>Neospora caninum</i> Muller <i>et al.</i> , 1996 | Nc5 | F: CCCAGTGCGTCCAATCCTGTAAC R: CTCGCCAGTCAACCTACGTCTTCT | 337bp |

5.6 Análisis de resultados

Con los resultados obtenidos en la técnica de ELISA, se determinó la seroprevalencia. La información recopilada de la encuesta se vació en un una base de datos la cual fue analizada mediante el paquete estadístico STATA, donde se realizó un análisis de regresión logística y se calculó la razón de momios (OR) para la identificación de los principales factores de riesgo con una significancia del 95% de confianza. En el caso de los resultados de PCR se determinó la prevalencia al identificar el total de individuos positivos y negativos incluidos en el estudio.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Selección de unidades de producción

Se colectaron 184 muestras de sangre de ovinos en edad reproductiva, distribuidos en seis municipios del estado de Jalisco, México. Los municipios, unidades de producción y cantidad de animales muestreados por municipio se observan el Cuadro 5.

Cuadro 5. Muestras colectadas por municipio

| Tamaño de muestra | | |
|-----------------------------|-----|---------------------|
| Municipio | UP* | Muestras colectadas |
| Ixtlahuacán del Rio | 2 | 24 |
| La Barca | 1 | 72 |
| Tepatitlán de Morelos | 1 | 23 |
| Tlajomulco de Zúñiga | 2 | 28 |
| Yahualica de González Gallo | 1 | 18 |
| Zapopan | 1 | 19 |
| Sumatoria | 8 | 184 |
| Tamaño de muestra | 8 | 184 |

*Unidad de producción

6.2 Análisis de la información de encuestas

Posterior a la aplicación de la encuesta a productores o responsables de la unidad de producción, se capturó la información en una hoja de cálculo con el objetivo de llevar a cabo el análisis de datos, y determinar los aspectos de mayor relevancia, e impacto que se describen posteriormente:

6.2.1 Número de ovinos por rancho

Se consideró el total de individuos enfocados en el aspecto productivo, lo cual incluye sementales, hembras de remplazo y en servicio, se observa que se presentan variaciones entre poblaciones de las unidades de producción incluidas en el estudio que van de los 17 a 280 individuos, como se aprecia en la Figura 4.

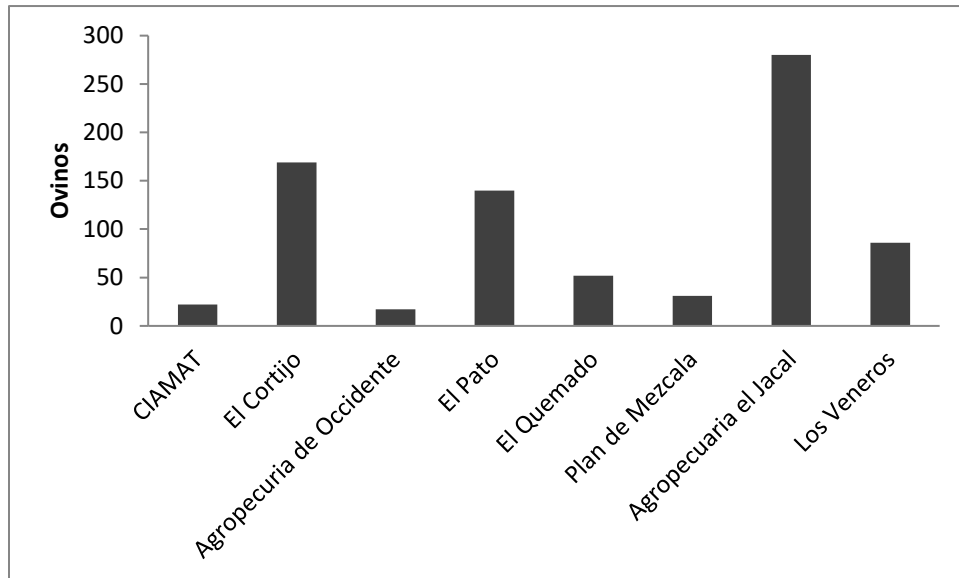


Figura 4. Población de ovinos reproductores por unidad de producción

6.2.2 Principales razas

Se observó las principales razas con las que cuentan las unidades de producción consideradas en el estudio, (Figura 5) destaca la raza Katahadin, presente en cinco unidades productivas, seguida de Dorper y cruza de diversas razas, también se identificó la presencia de las razas Pelibuey y Pelifolk. Es importante señalar que en cuatro de las unidades productivas cuentan con más de una raza de animales.

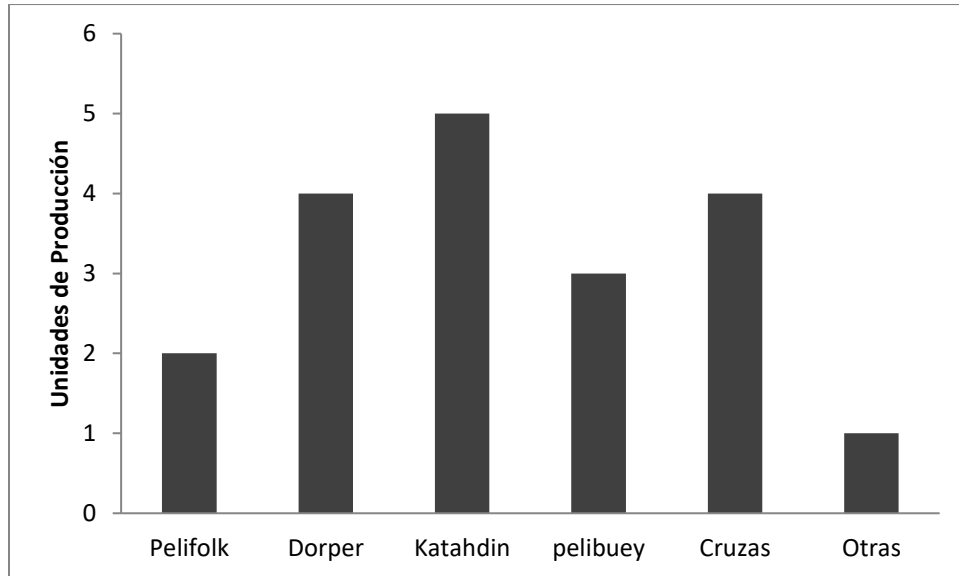


Figura 5. Razas ovinas

6.2.3 Sistema Productivo

Se identificó que el manejo de los animales se realiza en tres diferentes sistemas, intensivo, extensivo y mixto (Figura 6). Se observó que el sistema intensivo es aplicado en uno de los sitios bajo estudio, esto debido a la presencia de otras especies productivas en los terrenos del rancho. El sistema extensivo se lleva a cabo en tres áreas productivas, mientras que el sistema mixto es aplicado en tres.

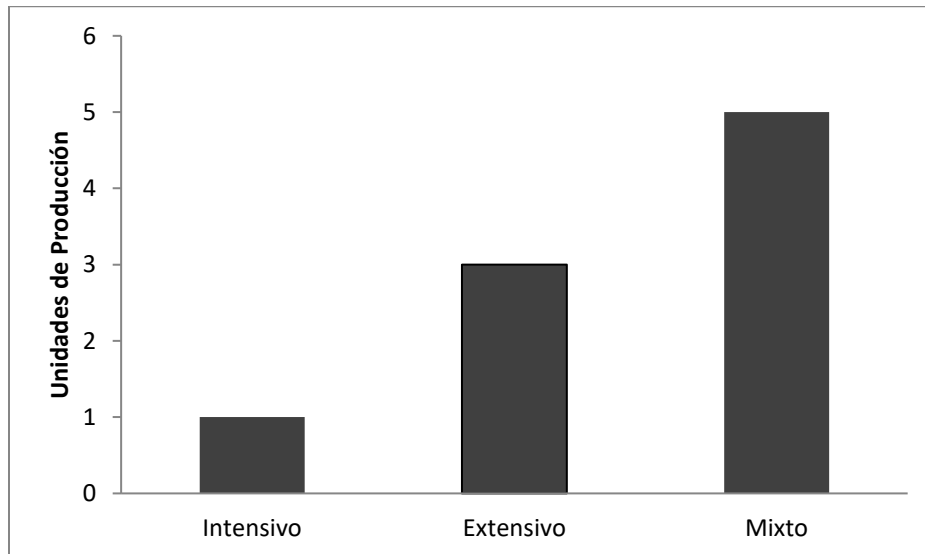


Figura 6. Manejo del sistema de producción

6.2.4 Machos y hembras reproductoras

Se observó que el total de machos reproductores se relaciona con las hembras en etapa productiva (Figura 7 y 8). En dos unidades se tienen únicamente un macho reproductor, con un número de hembras que va de 16 a 30. En el caso del rancho CIAMAT, a pesar de tener un número reducido de hembras, cuentan con dos machos reproductores, ya que se divide el rebaño en dos grupos, con el objetivo de evitar endogamia. La unidad de producción con el mayor número de machos reproductores fue de cuatro individuos que llegan a cubrir una población de 276 hembras mediante monta directa.

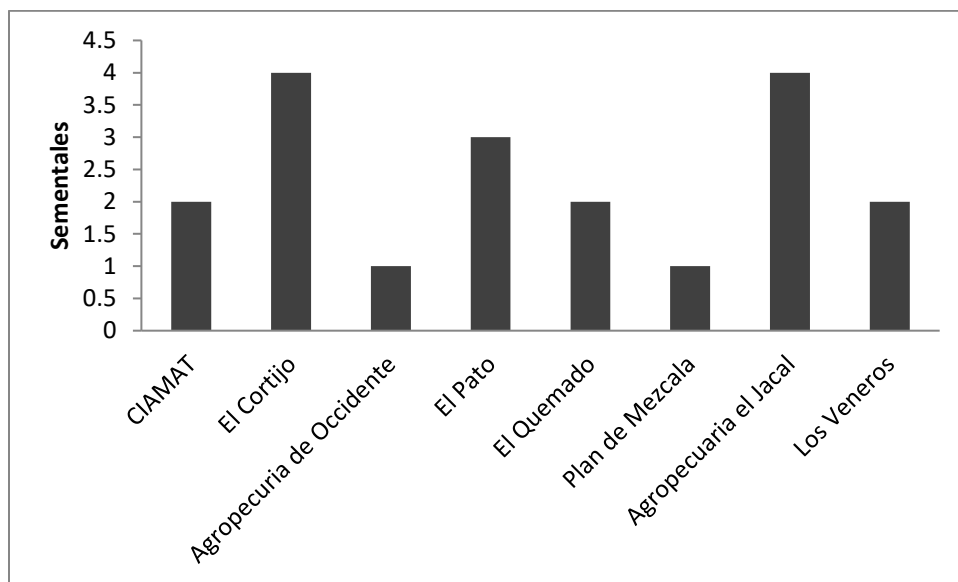


Figura 7. Sementales por rancho

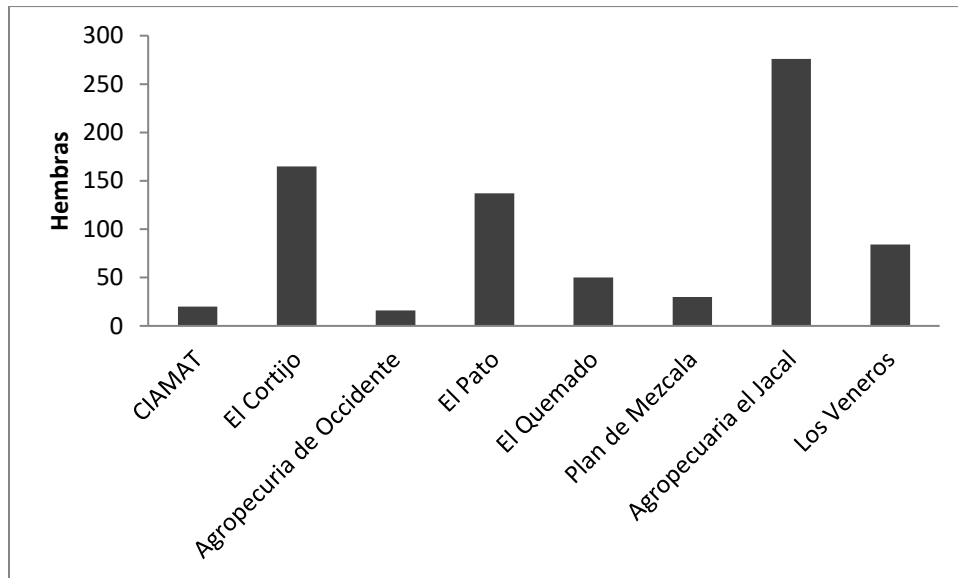


Figura 8. Hembras reproductoras

6.2.5 Sistema de remplazo

En relación con el sistema de remplazo manejado por los productores ovinos de las áreas de estudio, se identificó que en todos los ranchos se maneja la monta directa, los sementales pastorean junto con las hembras, y en el caso del sistema de producción intensivo, el semental se encuentra todo el tiempo en el corral junto con las hembras, se menciona que tienen preferencia por este sistema de remplazo ya que lo consideran más sencillo que la inseminación artificial.

6.2.6 Presencia de abortos

Uno de los puntos importantes que se consideró, fue la identificación de abortos o de mortalidad en corderos, de la cual se refiere que, en un periodo de dos años, todas las unidades de producción incluidas en el estudio llegaron a presentar este tipo de pérdidas.

6.2.7 Frecuencia de abortos

Como complemento a la presencia de abortos, se manejó un rango en el que se clasificaron las unidades de producción, que considera de 1 a 3, 4 a 6 y más de 6. Los resultados se pueden apreciar de manera grafica en la Figura 9.

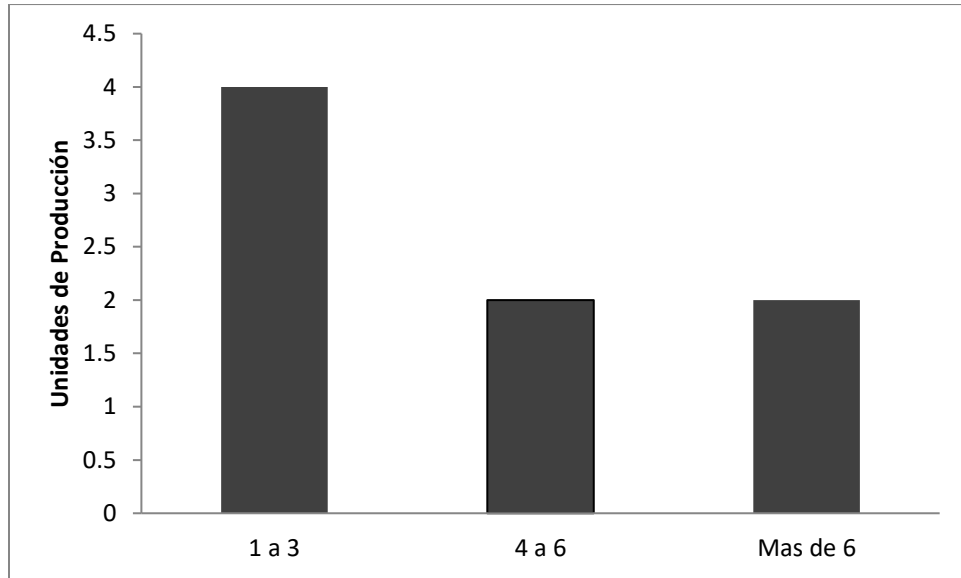


Figura 9. Rango frecuencia de abortos

6.2.8 Tipo de hembra que presentó aborto

Otro de los puntos que se tomó en cuenta fue el tipo de hembra en la que se presentó el aborto, de primer parto o más de un parto (Figura 10) dando como resultado que en cinco unidades de producción la mayoría de los casos se dieron en primerizas y en 3 la mayor frecuencia se dio en multíparas.

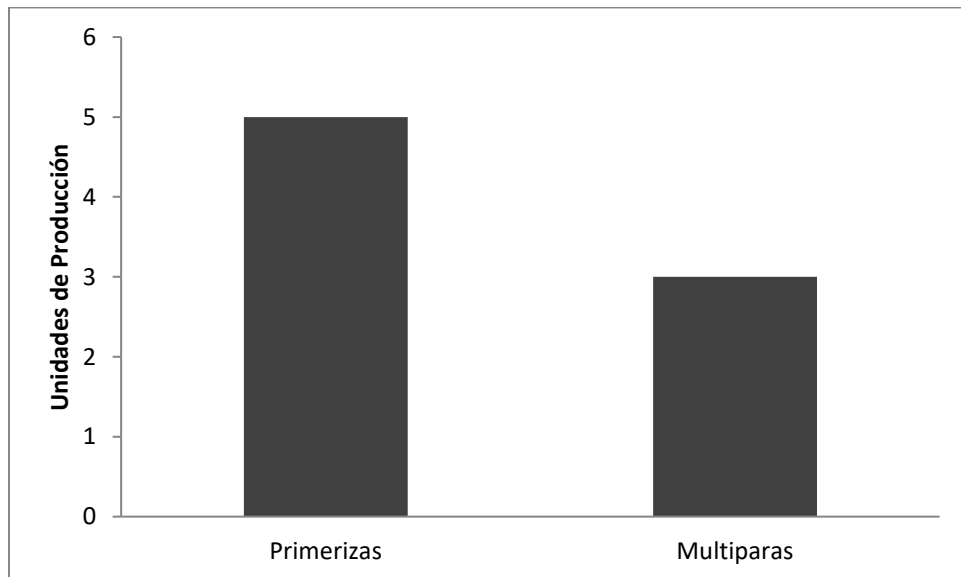


Figura 10. Tipo de hembra en la que se presentó mayor frecuencia de abortos

6.2.9 Diagnóstico clínico

De las unidades de producción consideradas en el proyecto, en ninguna toman muestras a los fetos abortados ni a las hembras que presentaron el problema, con el objetivo de llevar a cabo exámenes de laboratorio, para determinar las posibles causas de aborto, así como las diversas asociaciones que se pueden presentar.

6.2.10 Manejo de abortos y desechos

Un dato importante es el manejo que se le da a los abortos, corderos muertos y animales en general, de los cuales se identificaron cuatro diferentes formas de manejo (Figura 11.) estos fueron: se tiran, se entierran, se incineran y otros, cabe señalar que en el asignado como otros mencionó que se lo comen los perros. De los tres ranchos en los cuales mencionaron que los animales se tiran, en dos de ellos lo hacen en el monte o barranco debido a la ubicación de los predios y en el restante los llevan a una fosa donde los animales se tiran junto algunos otros animales productivos como bovinos, cerdos, aves o conejos (Figura 12). De los tres que expresaron que entierran la mortalidad, cada uno lo hace a diferente profundidad que va de los 30 a 50 centímetros. (Figura 13)

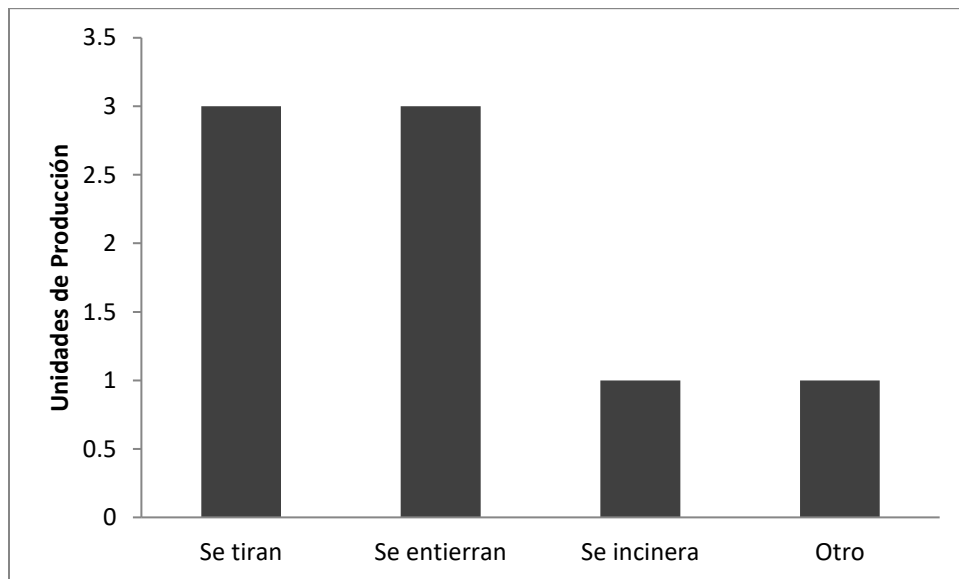


Figura 11. Manejo de abortos y desechos

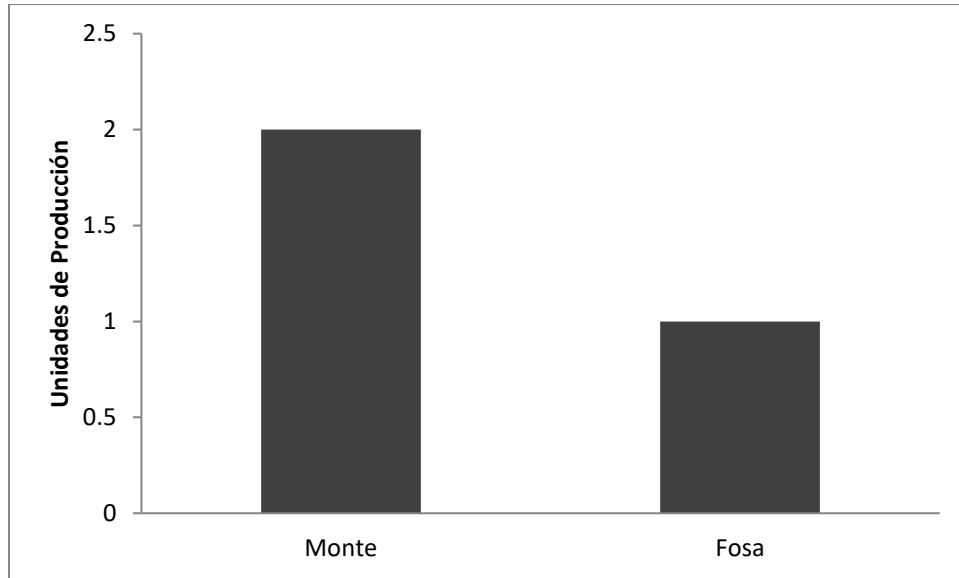


Figura 12. Destino de la mortalidad que se tira

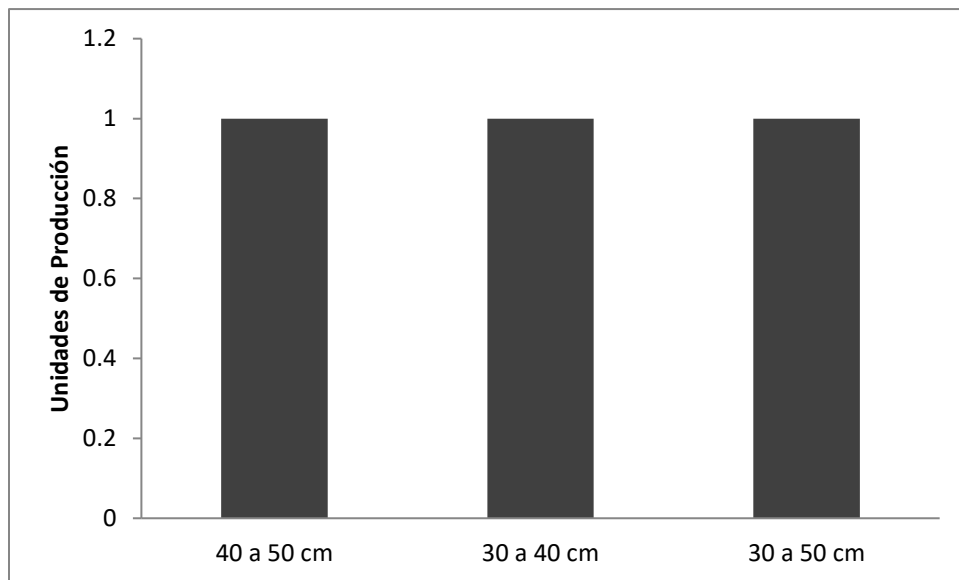


Figura 13. Profundidad a la que se entierran abortos y desechos

6.2.11 Alimentación

La alimentación de los ovinos consiste en pasto, concentrado y rastrojo con maíz, realizando combinaciones y en algunos casos manejando solo un tipo de alimento (Figura 14). En cuatro ranchos la alimentación que se da es pasto y concentrado, en uno se ofrece pasto, concentrado y rastrojo con maíz en dos unidades se alimentan de pasto y rastrojo y solamente una se alimentan únicamente de pasto.

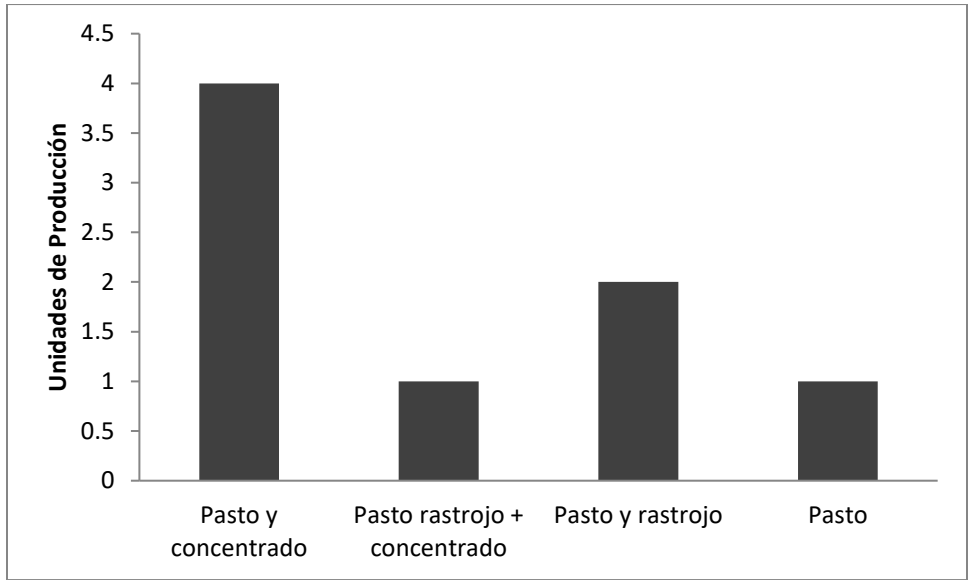


Figura 14. Alimentación de los ovinos

6.2.12 Animales de compañía propios

Uno de los criterios de interés que se tomó en cuenta fue la presencia de animales de compañía propios, principalmente perros y gatos, (Figura 15.) encontrando que de ocho ranchos solo uno no cuenta con animales de compañía propios al interior del predio, mientras que, en dos, únicamente tienen perros y en cinco la dupla perros y gatos.

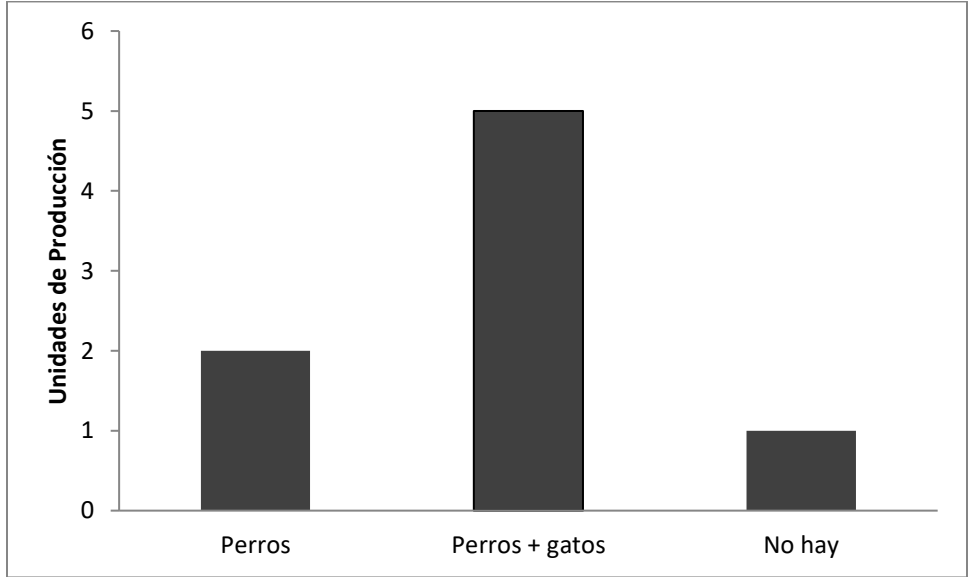


Figura 15. Animales de compañía propios en el predio

6.2.13 Animales externos

En todos los ranchos mencionaron que ingresan animales ajenos a la propiedad, domésticos o salvajes. los principales son perros, gatos, coyotes, venados, pumas y roedores (ratas, ratones y ardillas) destacando por una mayor presencia gatos y roedores (Figura 16.)

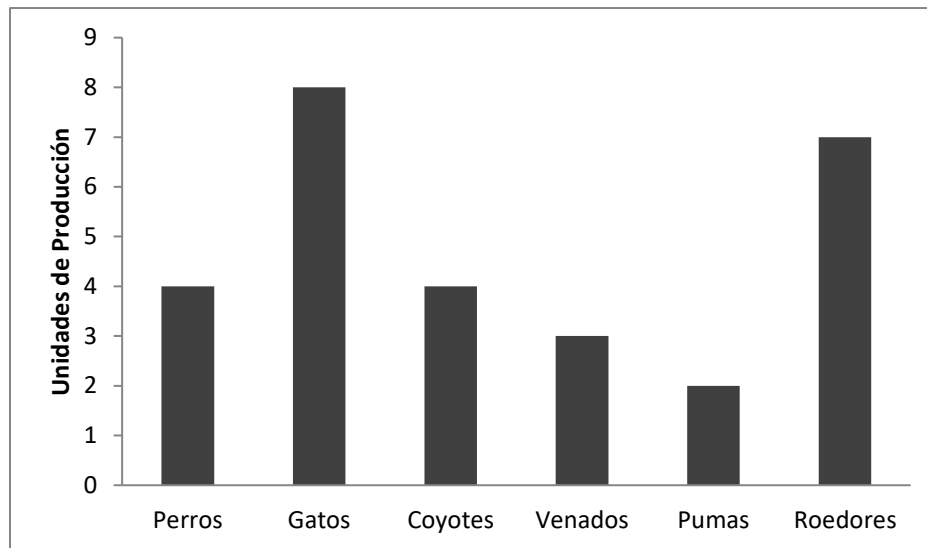


Figura 16. Principales animales externos que entran al predio

6.2.14 Contacto de otros animales con los abortos

De los animales externos que llegan a las instalaciones se preguntó si alguno de estos llega a tener contacto con los abortos, placentas o desechos en general, se observa que en siete de los ranchos encuestados se da el contacto con abortos o desechos y solo en un rancho no se ha observado este tipo de contacto. Los animales que tuvieron mayor contacto fueron los perros en siete zonas de muestreo, seguido de gatos en 5, coyotes en dos y roedores en dos, cabe señalar que estos últimos logran el contacto cuando los ovinos se encuentran en los corrales (Figura 17).

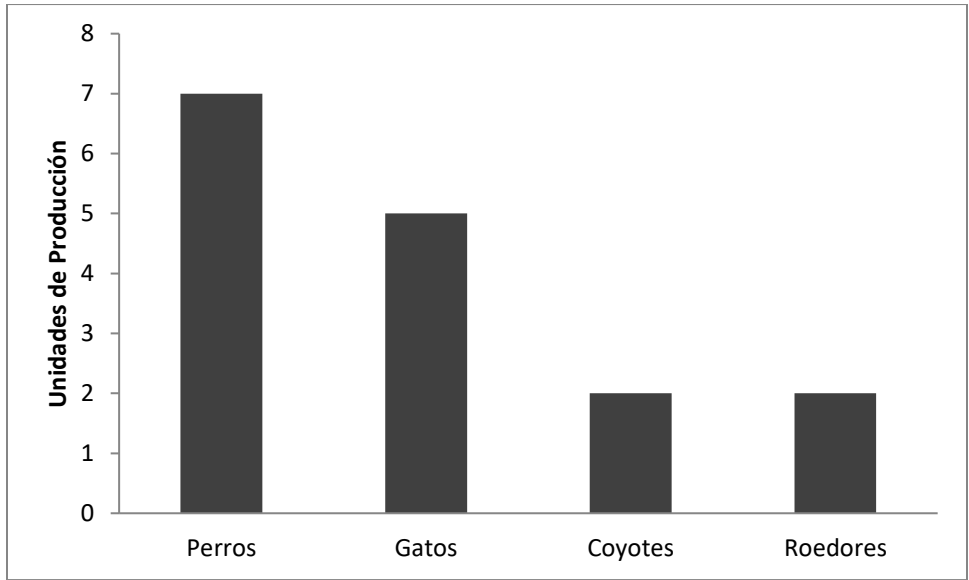


Figura 17. Contacto de animales con abortos y recién nacidos

6.2.15 Otras unidades y sistemas productivos

De los ocho puntos seleccionados para muestreo cuatro de estos mencionan que están cerca de otras unidades de producción ovina. Todos expresaron que hay presencia de otros sistemas de producción, se observaron, bovinos, porcinos, aves y conejos (Figura 18.)

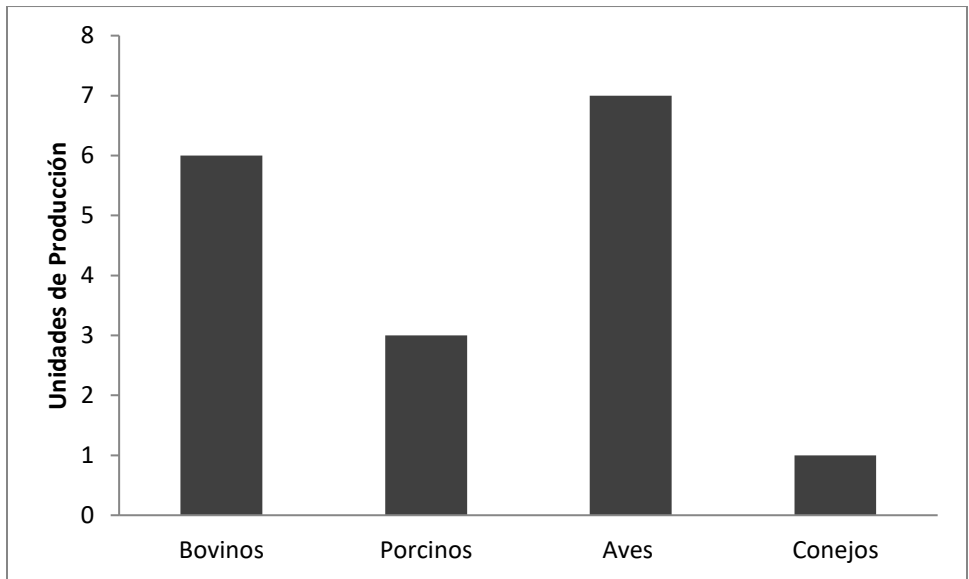


Figura 18. Animales productivos en el interior de la unidad de producción

6.2.16 Contacto con otros animales productivos

Existen ranchos en los cuales los ovinos llegan a tener contacto o conviven con otros animales productivos, esto se presenta en siete de ocho sitios, los animales con los que se tiene contacto son bovinos y aves. En dos sitios, el contacto se da con bovinos, en uno con aves y en 4 bovinos y aves (Figura 19.)

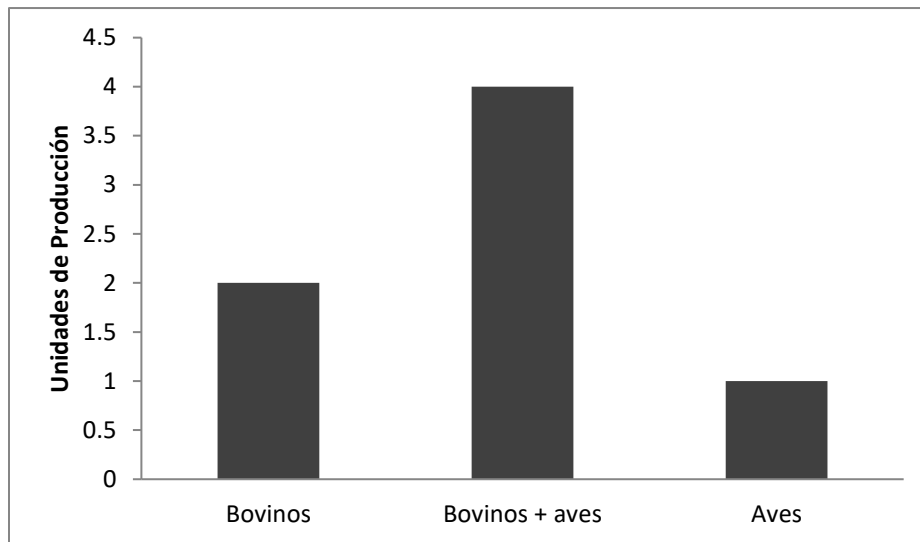


Figura 19. Contacto de ovinos con otros animales productivos

6.3 Pruebas de Elisa

Se realizaron 184 pruebas de ELISA para *N. caninum* y *T. gondii* utilizando kits comerciales siguiendo las indicaciones y recomendaciones del fabricante Figura 20.



Figura 20. Kits comerciales de ELISA y procesamiento de muestras

6.3.1 Seroprevalencia *Neospora caninum*

El diagnóstico de seroprevalencia para *N. caninum* se realizó mediante el análisis de dos placas del kit de ELISA, considerando controles positivo y negativo. Los porcentajes de prevalencias obtenidas se muestran en el Cuadro 6. Donde se consideró la prevalencia general de la enfermedad en los seis municipios en estudio donde se obtuvo 15.22% (28/184), y posteriormente se analizó de manera individual por municipio iniciando con Ixtlahuacán que se observa una seroprevalencia de 29.17% (7/24), La Barca 13.89% (10/72), Tepatitlán 13.04 (3/23), Tlajomulco sin casos reportados, Yahualica 16.67% (3/18), y Zapopan con 26.32% (5/19). Al comparar estos datos con lo reportado por Ferreira y col., (2016), se observa que detectaron una seroprevalencia de 8.55%, inferior a lo que aquí se reporta, sin embargo, se observa que existe una variación entre las granjas incluidas en el estudio reportando valores desde 33.3% a 0%, esto coincide con lo que se observa en el Cuadro 6. Donde los valores oscilan entre 29.17% y 0%. Sin embargo, al analizar los valores reportados por Sun y col., (2019), existe una coincidencia, ya que reportan 16% de animales positivos a la enfermedad. En contraste, se observa una gran diferencia entre lo mostrado en el presente, comparado con los resultados obtenidos por Dahourou y col., (2019) que reportan una seroprevalencia de 41.9%. Se debe considerar que diversos factores pueden afectar la seroprevalencia reportada, entre estos podemos considerar las condiciones y características climáticas

de las áreas de estudio, así como los sistemas de manejo y los factores de riesgo que pueden influir en la presencia o ausencia de la enfermedad, al analizar el estudio de Romo-Gallegos y col., (2019) realizado en la región altos norte del estado de Jalisco, identificaron que existe una coincidencia plena entre los datos de seroprevalencia, ya que ambos casos se obtuvo una seroprevalencia de 15.2 %, es importante señalar que aunque se tenga coincidencia entre ambos estudios, se debe de considerar cuales variables pueden influir en la presencia de la enfermedad, ya que se puede ver involucrado desde la raza del animal, edad y sistemas de manejo, hasta el tipo de alimentación que reciben.

Cuadro 6. Seroprevalencia general y por municipio de *N. caninum*

| <i>N. caninum</i> | | | | | |
|-----------------------------|-----------|-----------|-------|-----------------|------------------|
| Municipio | Positivos | Negativos | Total | Prevalencia (%) | Positivos /Total |
| Ixtlahuacán del Rio | 7 | 17 | 24 | 29.17 | 7/24 |
| La Barca | 10 | 62 | 72 | 13.89 | 10/72 |
| Tepatitlán de Morelos | 3 | 20 | 23 | 13.04 | 3/23 |
| Tlajomulco de Zúñiga | 0 | 28 | 28 | 0.00 | 0 |
| Yahualica de González Gallo | 3 | 15 | 18 | 16.67 | 3/18 |
| Zapopan | 5 | 14 | 19 | 26.32 | 5/19 |
| Prevalencia General | 28 | 156 | 184 | 15.22 | 28/184 |

6.3.2 Seroprevalencia *Toxoplasma gondii*

Una vez realizadas las pruebas mediante la técnica de ELISA con los resultados obtenidos se procedió a la determinación de los animales positivos y negativos a la enfermedad, al contabilizarlos se pudo determinar la prevalencia en porcentaje como se puede observar en el Cuadro 7. Los datos fueron ordenados tomando en cuenta los animales muestreados por municipio con una prevalencia general de 61.96% (114/184). Por municipio encontramos en Ixtlahuacán 58.33% (14/24) para La Barca 45.83% (33/72), Tepatitlán de Morelos 95.65% (22/23) siendo este el municipio con el porcentaje de prevalencia más elevado hasta el momento, en Tlajomulco se determinó 82.14% (23/28), Yahualica 61.11% (11/18) y por último en Zapopan los valores fueron de 57.89% (11/19). En el estado de Jalisco, Cruz-Vázquez y col., (2020), reportan una seroprevalencia de 17.8%, la cual difiere con los datos aquí mostrados, a pesar de que

el estudio se realiza en el mismo estado, con respecto a la distribución del parásito en los diferentes sitios de muestreo, se tiene coincidencia en identificar animales positivos en todas las granjas seleccionadas. En el estado de Jalisco, son pocos los trabajos que mencionan la presencia de *T. gondii* en borregos, sin embargo, en otros estados de la república se ha identificado la seroprevalencia en rebaños, tal es el caso de lo descrito por Suazo-Cortez y col., (2020), donde obtuvieron una seroprevalencia de 35.90% en rebaños ovinos del estado de Veracruz, debido a estos valores, la consideran como una enfermedad común en el estado, y se tiene coincidencia en la presencia de este protozoario en todas las áreas donde se colectaron muestras. Ali y col., (2021), realizaron un estudio en diversas especies productivas, en el caso de los ovinos, identificaron una seroprevalencia del 49% considerándolo como un valor elevado, además de observar que todas las zonas donde se incluyeron animales para el estudio, se presentaron animales positivos al parásito, estos valores también coinciden con lo descrito por Romanelli y col., (2021), que reportan el 42.7% de seroprevalencia. Por lo anterior ambos estudios presentan concordancia con lo reportado en el presente estudio. Estos resultados indican que *T. gondii* es un parásito que presenta una amplia distribución.

Cuadro 7. Seroprevalencia general y por municipio de *T. gondii*

| <i>T. gondii</i> | | | | | |
|-----------------------|-----------|-----------|-------|-----------------|------------------|
| Municipio | Positivos | Negativos | Total | Prevalencia (%) | Positivos /Total |
| Ixtlahuacán del Rio | 14 | 10 | 24 | 58.33 | 14/24 |
| La Barca | 33 | 39 | 72 | 45.83 | 33/72 |
| Tepatitlán de Morelos | 22 | 2 | 23 | 95.65 | 22/24 |
| Tlajomulco de Zúñiga | 23 | 5 | 28 | 82.14 | 23/28 |
| Yahualica de | | | | | |
| González Gallo | 11 | 7 | 18 | 61.11 | 11/18 |
| Zapopan | 11 | 8 | 19 | 57.89 | 11/19 |
| Prevalencia General | 114 | 71 | 184 | 61.96 | 114/184 |

6.3.3 Seroprevalencia *N. caninum* + *T. gondii*

Se determinó la prevalencia asociada a las dos enfermedades, en donde los mismos animales resultaron positivos a ambos parásitos, de esta forma se comprueba que existe la posibilidad de la presencia simultanea de *N. caninum* y *T. gondii*. En el Cuadro 8. se pueden apreciar los datos obtenidos. Se observó una seroprevalencia general de 7.07% (13/184) De los cuales en el municipio de Ixtlahuacán presentó el 16.67% (4/24), La Barca

4.17 (3/72) Tepatitlán 13.04% (3/23), Tlajomulco no presentó casos positivos a ambas enfermedades, Yahualica 5.56% (1/18) y Zapopan 10.53% (2/19). Se observa que los datos obtenidos, son similares a los reportados por Ferreira y col en 2016, donde identificaron una coinfección en un 8% de los ovinos considerados, un dato similar lo reportan Sun y col., (2019) en el estudio realizado en China, donde identifican animales positivos a *N. caninum* y *T. gondii* en un 8.55% de la población. Por otra parte, estos valores difieren de lo que determinan Dahouru y col., (2019), que obtuvieron un 29.4% de animales positivos a las dos enfermedades, estos valores son superiores a lo reportado en el presente estudio y los que pudieran estar influenciados por diversos factores considerando algunos como los sitios donde se ubican las áreas productivas en conjunto con las condiciones climáticas y geográficas que predominan, hasta el manejo que reciben los animales dentro de las granjas. Gharekhani y col., (2018) obtuvieron un porcentaje de coinfección de 21.6% y mencionan que las diferencias en los valores reportados por otros estudios se pueden relacionar con los distintos factores de riesgo presentes en las granjas, además de las técnicas implementadas para el diagnóstico. En México existen varios reportes en los que se menciona la epidemiología de *N. caninum* y *T. gondii* en diversas especies productivas incluidos los ovinos, sin embargo, en la actualidad no se ha reportado la presencia simultánea de ambos parásitos en ovinos de México, por lo que los resultados de la presente investigación nos brindan una idea del estatus actual en la región que se considera en el estudio.

Cuadro 8. Porcentaje de seroprevalencia *N. caninum* + *T. gondii*

| Municipio | <i>N. caninum</i> + <i>T. gondii</i> | | | | |
|-----------------------------|--------------------------------------|-----------|-------|-----------------|------------------|
| | Positivos | Negativos | Total | Prevalencia (%) | Positivos /Total |
| Ixtlahuacán del Rio | 4 | 20 | 24 | 16.67 | 4/24 |
| La Barca | 3 | 69 | 72 | 4.17 | 3/72 |
| Tepatitlán de Morelos | 3 | 20 | 23 | 13.04 | 3/23 |
| Tlajomulco de Zúñiga | 0 | 0 | 28 | 0.00 | 0 |
| Yahualica de González Gallo | 1 | 17 | 18 | 5.56 | 1/18 |
| Zapopan | 2 | 17 | 19 | 10.53 | 2/19 |
| Prevalencia General | 13 | 143 | 184 | 7.07 | 13/184 |

6.4 Análisis de riesgos

Con la información que se obtuvo de la encuesta aplicada durante la toma de muestras, se realizó un análisis para identificar los principales factores de riesgo asociados. En el Cuadro 9 se observan los principales factores de riesgo asociados a *N. caninum* sobresalen por ser estadísticamente significativos ($p < 0.05$) historial de abortos, manejo de desechos y presencia de roedores. Relacionado a el historial de abortos y cuidados veterinarios, se ha reportado como un punto importante relacionado con la presencia de *N. caninum* como lo mencionan Rizzo y col., (2018); Gharekhani y col., (2018) Dahouru y col., (2019). Otro de los puntos considerados como riesgo es el manejo de los desechos de la granja, donde se incluyen abortos, placentas y mortinatos, este factor es considerado como un riesgo, ya que los hospederos definitivos tienen acceso (Romo-Gallegos y col., 2019). Es importante mencionar que este es uno de los principales factores de riesgo asociados a *N. caninum* además de coincidir con Romo-Gallegos y col., (2019) en la importancia que presenta este manejo en la zona, ya que ambos estudios se desarrollaron en el estado de Jalisco. Se observa que la alimentación a base de pastos que se desarrolla bajo un sistema de producción extensivo representa un factor de riesgo, donde se coincide con lo reportado por Wang y col., (2018), que identifican que los ovinos que se desarrollan en un sistema con pastoreo extensivo tienen mayor posibilidad de infectarse y generar anticuerpos contra *N. caninum*. Uno de los factores de riesgo con el que concuerdan varios autores, incluido el presente proyecto, es la presencia de hospederos definitivos, donde se incluyen caninos domésticos y salvajes ya que, sin la presencia de estos, se vería una baja en la seroprevalencia de la enfermedad y los problemas asociados (Ferreira y col., 2016; Rizzo y col., 2018; Romo-Gallegos y col., 2019), además de los factores que se mencionaron con anterioridad, están documentados otros que se relacionan con el lugar o ubicación de las unidades productivas, tal como lo menciona Kouman y col., (2019) donde sugiere que las región o zona donde se realicen los análisis puede tener relación con la seroprevalencia, además de la edad de los animales, el tamaño y sexo (Gharekhani y col., 2018). Por su parte, Dubey y Schares., (2011), realizan un análisis sobre la prevalencia de neosporosis en diversas partes del mundo, donde identifican como factores de riesgo además de la presencia del hospedero definitivo, el manejo que reciben los animales, como tipo de alimentación, y densidad poblacional, el estado serológico de las hembras, humedad

relativa y la presencia de otras enfermedades, por lo que se presentan coincidencias entre estos elementos y los que se reportan en este documento.

Asociado a *T. gondii* Cuadro 10, observamos que todos los factores fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$) y entre estos sobresalen: condiciones pobres de higiene (OR 12.5), presencia de gatos (OR 9.5) y entorno urbano (OR 9.5). Se puede observar que algunos de estos factores se replican en unidades productivas en México y otros países.

Al analizar los factores de riesgo que se obtuvieron en el presente estudio, comparado con otros similares realizados en México y el mundo, encontramos que se presentan similitudes como diferencias que pueden variar principalmente dependiendo de la región o país, así como las prácticas de manejo asociadas al sistema de producción ovino. Ferreira y col., (2016) identificaron diversos factores asociados a la presencia de la toxoplasmosis como: problemas reproductivos, agua de bebida, roedores y presencia de caninos y felinos domésticos y salvajes. Por su parte Tegegne y col., (2016) señalan a la especie ovina como un factor de riesgo, al compararlo con cabras, además de mencionar la edad de los animales, el sexo y altitud en la que se desarrollan los sistemas de producción. Rizzo y col., (2017) destacan el hecho de manejar un sistema de producción extensivo en el que las ovejas se alimentan únicamente de pasto, además del manejo reproductivo al implementarse monta directa, de igual forma consideran los problemas reproductivos que presentan los animales, además se agrega la presencia de otras especies productivas que conviven con los rebaños, este último punto coincide con parte de los resultados mostrados en el presente estudio donde algunos de los animales incluidos en el estudio conviven con otras especies domésticas. A pesar de realizar la identificación de este parásito en diversas regiones, los porcentajes de seroprevalencia varían, así como los factores de riesgo. Sun y col., (2019) reportan la especie, edad y sexo como factores de riesgo importantes, además de coincidir con Kouam y col., (2019) y el presente estudio, ya que se menciona que las condiciones climáticas de las regiones, favorecen la supervivencia de los oquistes de *T.gondii*. En México, algunos reportes coinciden con los autores antes mencionados al asociar la presencia del parásito con las

condiciones climáticas que predominan en las zonas de estudio, como lo mencionan Caballero-Ortega y col., (2008), en el estado de Colima, México, donde encontraron diferencias entre los rebaños ubicados en las zonas de costa donde se ha reportado temperaturas superiores a los 37.7°C y las granjas de áreas con montañas, además de considerar los tamaños de rebaño y edad. En el estado de Veracruz, México, Suazo-Cortez y col., (2019) mencionan una gran cantidad de factores asociados a *T. gondii*, encontrando coincidencias con algunos de los que aquí se reportan, y otros que no fueron significativos para el presente, se señala la edad, tipo de sistema, condición corporal, origen de los animales, uso de concentrados minerales, estatus productivos y la presencia de animales como gatos y roedores. En el estado de Jalisco, se realizó un análisis de riesgos para ovinos de la región altos norte, donde Cruz-Vázquez y col., (2020) reportan como los principales riesgos la presencia de perros y gatos, por lo que se tiene plena coincidencia en la presencia del hospedero definitivo como un punto fundamental para el desarrollo de la toxoplasmosis, al incluir en el presente estudio la presencia del huésped definitivo como un riesgo. Stelzer y col., (2019) realizan una revisión que recopila información sobre factores de riesgo e importancia económica en distintas especies de interés pecuario con la infección por *T. gondii*. Referente a la especie ovina, se menciona la edad, género, región o municipio, altitud, temperatura, precipitación, entorno rural o urbano, manejo del sistema productivo, propósito de los animales (reemplazo, abasto) tamaño del rebaño, contacto con otros rebaños y animales productivos, además de condiciones pobres de higiene, tomando en cuenta que este último factor es el que mostró un riesgo más elevado dentro del presente estudio.

Cuadro 9. Factores de riesgo y OR a *N. caninum*

| Variables asociadas | | | | | | |
|-----------------------|-----------|-------|------------------------|------|-----------|--------------|
| Variable | Categoría | Total | (%) Seroprevalencia | OR* | 95% C.I.* | P-value |
| Historial de abortos | Si | 82 | 19.5 | 1.05 | 3.2-3.4 | 0.001 |
| Manejo de desechos | Si | 97 | 16.4 | 8.4 | 1.7-4.12 | 0.001 |
| Alimentación pastoreo | Si | 161 | 15.5 | 1.3 | 0.2-7.5 | 0.74 |
| Presencia de perros | Si | 38 | 15.7 | 3 | 0.6-14.8 | 0.17 |
| Roedores | Si | 176 | 15.3 | 1.3 | 2-8.8 | 0.001 |

Cuadro 10. Factores de riesgo y OR a *T. gondii*

| Variables asociadas | | | | | | |
|---------------------------------------|-----------|-------|------------------------|------|-----------|---------|
| Variable | Categoría | Total | (%) Seroprevalencia | OR* | 95% C.I.* | P-value |
| Condiciones pobres de higiene | Si | 87 | 74.7 | 12.5 | 3.4-45.1 | 0.001 |
| Presencia de gatos | Si | 140 | 58.5 | 9.5 | 1.9-45.7 | 0.005 |
| Presencia de otros animales de granja | Si | 100 | 55 | 5.7 | 1.5-21.3 | 0.009 |
| Entorno urbano | Si | 47 | 72.3 | 9.5 | 2.5-35.4 | 0.001 |
| Agua de bebida | Si | 39 | 79.4 | 5.3 | 1.0-26.1 | 0.04 |

*Odds ratio (OR)

* Intervalo de confianza (C.I.)

6.5 Pruebas moleculares

Se realizó la extracción de ADN genómico de todas las muestras de sangre, con un kit comercial de la marca Zymo Research, siguiendo las recomendaciones del fabricante, posterior a la extracción el ADN se visualizó en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio sobre una lámpara de luz ultravioleta Figura 21.

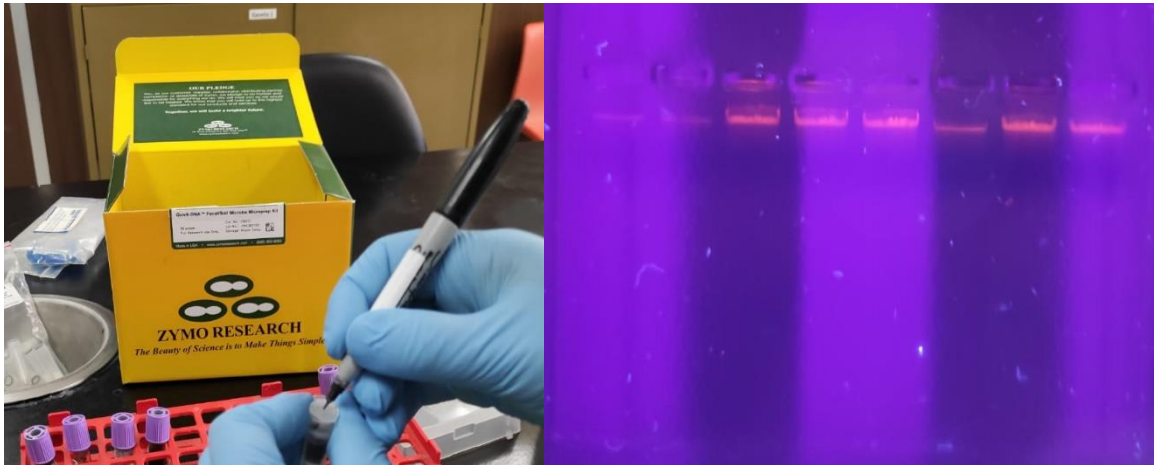


Figura 21. Kit comercial de extracción de ADN y gel de agarosa al 1% con ADN genómico

6.5.1 Prevalencia *Neospora caninum*

El diagnóstico de prevalencia para *N. caninum* se realizó mediante la técnica de PCR convencional siguiendo lo reportado por Müller y col., (1996). Las amplificaciones fueron visualizadas en un gel de agarosa al 2% teñidas con colorante gel red amplificando una banda de 328 pb Figura 22. En el Cuadro 11 se observan los porcentajes de prevalencia general de *N. caninum* para los seis municipios considerados en el estudio, la cual fue de 14.13% (26/184) encontrando una diferencia de 1.09% con respecto a lo reportado en las pruebas serológicas. Del total de individuos positivos, tres de estos mostraron anticuerpos contra *N. caninum*, lo cual puede indicar una reinfección por este parásito. Al analizar la información por municipio, podemos observar que en Tepatitlán de Morelos no se detectó la presencia de este parásito mediante PCR, sin embargo, sobresalen las unidades de producción de La Barca, ya que obtuvo la prevalencia más elevada con un 22.2% (16/72), seguido de Zapopan con 21.05% (4/19). Nunes y col., (2017), analizaron

la prevalencia de *N. caninum* en animales que presentan infección transplacentaria, reporta una prevalencia de 14.1%, al observar ADN de Neospora en 11 de 78 ovinos incluidos en su estudio, este valor concuerda con lo que se reporta en el presente, al identificar una prevalencia 14.13% mediante la presencia del ADN del parásito en sangre. Razmi y Naseri., (2017) reportan una prevalencia de 9.8%, cabe señalar que las muestras analizadas corresponden a cerebro de ovinos abortados, por lo que la diferencia en los porcentajes con el presente puede estar asociada al tipo de muestra que se tomó para el análisis. Por su parte Amdouni y col., (2018) observan una prevalencia de 19% al llevar a cabo la prueba de PCR en carne de ovino para consumo, mientras que Hecker y col., (2019) reportan la presencia de *N. caninum* en tejido de corazón y placentas de animales abortados, y Salehi y col., (2021) logran la identificación molecular en un 15.6% de la población estudiada. Esto indica la habilidad del parásito y su eficiencia para la transmisión transplacentaria, ya que no solo es posible realizar la identificación molecular en muestras sanguíneas si no en diversos órganos. En México se han reportado casos de neosporosis en diversos animales productivos, en el caso de los ovinos, la identificación molecular del parásito, se ha realizado mediante muestras de sangre periférica, como lo mencionan Castañeda-Hernández y col., (2014); Romo-Gallegos y col., (2019), en estudios llevados a cabo en el estado de Aguascalientes y en municipios de la región Altos Norte del estado de Jalisco, quienes reportan ADN de *N.caninum* en 25% y 27% respectivamente, al comparar la prevalencia mencionan con lo que se muestra en el presente, podemos identificar cierto porcentaje de diferencia, el cual puede estar relacionado con diversos factores asociados entre otras cosas a ubicación y manejo de los sistemas de producción, ya que se ha documentado que estos parámetros pueden influir de manera significativa en la prevalencia y distribución de las parasitosis en las regiones.

Cuadro 11. Prevalencia a *N. caninum* general y por municipio realizada mediante PCR

| Prevalencia <i>N. caninum</i> PCR | | | | | |
|-----------------------------------|-----------|-----------|-------|-----------------|------------------|
| Municipio | Positivos | Negativos | Total | Prevalencia (%) | Positivos /Total |
| Ixtlahuacán del Rio | 2 | 22 | 24 | 8.33 | 2/24 |
| La Barca | 16 | 56 | 72 | 22.2 | 16/72 |
| Tepatitlán de Morelos | 0 | 23 | 23 | 0.00 | 0/23 |
| Tlajomulco de Zúñiga | 3 | 25 | 28 | 10.71 | 3/28 |
| Yahualica de González Gallo | 1 | 17 | 18 | 5.55 | 1/18 |
| Zapopan | 4 | 15 | 19 | 21.05 | 4/19 |
| Prevalencia General | 26 | 158 | 184 | 14.13 | 26/184 |

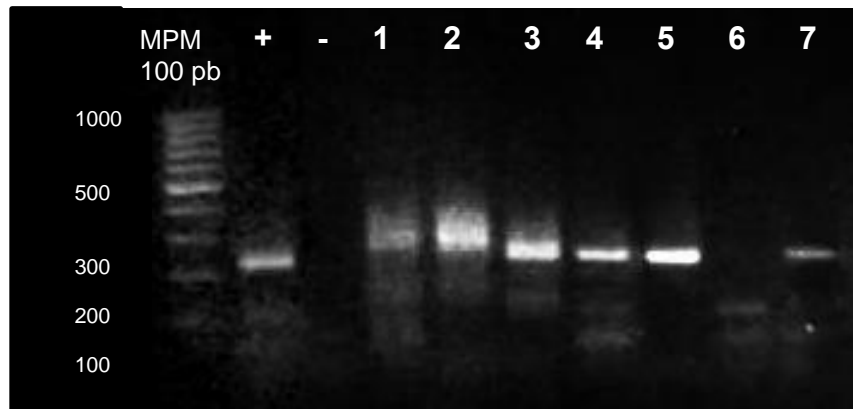


Figura 22. Gel de agarosa al 2% con productos amplificados de PCR para *N. caninum*. De izquierda a derecha. Marcador de pesos molecular 100pb, control positivo, control negativo, carril 1 a 7 muestras ovinos

6.5.2 Prevalencia *Toxoplasma gondii*

Con respecto a la identificación del DNA de *T. gondii* en sangre, no se obtuvieron resultados positivos mediante la técnica de PCR convencional. Sin embargo, Abudalbouh y col., (2012) identificaron DNA de *T. gondii* en sangre mediante PCR tiempo real, en la cual se ha reportado un umbral de ciclos Ct (threshold cycles) por sus siglas en inglés de 21.38 (Lin y col., 2000). La colecta de muestras de sangre se debe realizar posterior a la presencia de abortos, lo que aumenta la probabilidad de identificar el parásito, ya que se ha demostrado que solo las infecciones recientes, pueden ser

detectadas por medio de PCR (Opsteegh y col., 2010). A diferencia de lo anterior, en el presente estudio no se identificaron animales con historial de aborto reciente al momento de realizar la toma de muestras, lo que puede influir en el diagnóstico. Luptakova y col., (2015) detectaron la presencia de DNA de *T. gondii* en sangre periférica de ovinos, mediante la implementación de PCR tiempo real, con una prevalencia de 20%, pero señalan, que es importante que la infección esté activa en los animales al momento de tomar la muestra. Ibrahim y col., (2017) implementaron técnicas serológicas y moleculares para determinar la presencia de *T. gondii*, colectando muestras de sangre periférica, donde identifican una seroprevalencia elevada; sin embargo, no detectan animales positivos al realizar el diagnóstico con PCR tiempo real, lo cual coincide con lo que se reporta en esta investigación. Es importante mencionar que se deben considerar algunos cuidados al momento de realizar el diagnóstico por PCR tiempo real usando muestras sanguíneas; ya que, si bien al tomar la muestra posterior a un aborto aumentamos la probabilidad de identificar el parásito, las células sanguíneas pueden contener grandes cantidades de DNA no específico. Esto puede provocar que disminuya la sensibilidad del ensayo al producirse una unión inespecífica de las moléculas del marcador, lo que produce una señal de fondo alta al unirse al DNA, evitando que se distingan las señales de detección. Debido a lo anterior, es importante considerar métodos de extracción con diversos ensayos de PCR, para poder garantizar el mejor diagnóstico (Edvinsson y col., 2004). Sah y col., (2019) reportan una prevalencia de 15.52% mediante diagnóstico con PCR, sin embargo, a diferencia del presente estudio, las muestras colectadas se obtuvieron de abortos de borregos, tomando tejidos de cerebro, corazón y placenta. Al realizar el análisis en este tipo de muestras se puede evitar la presencia de inhibidores que alteren la sensibilidad del ensayo. Razmini y Naseri, (2017), obtienen una prevalencia de 9.8% en fetos abortados de borregos, al igual que otros autores, las muestras usadas para el diagnóstico, fueron de cerebro, esto puede aumentar la posibilidad de identificar la presencia del parásito mediante técnicas moleculares. A pesar de que la toxoplasmosis es reconocida como una de las principales causas de aborto, es difícil determinar las pérdidas ya que la enfermedad es usualmente esporádica por lo que en un bajo número de fetos abortados se practican análisis de laboratorio para determinar la causa (Dubey y col., 2020).

VII. CONCLUSIONES

- Se identificó la presencia de *N. caninum* en cinco de los seis municipios considerados en el estudio.
- La seroprevalencia general para *N. caninum* fue de 15.22% (28/184) con un máximo de 29.17%
- Se identificó la presencia de *T. gondii* en las unidades de producción de los seis municipios incluidos en el estudio.
- La seroprevalencia general para *T.gondii* fue de 61.96% (114/184), los porcentajes por municipio presentan valores que oscilan entre 95.65% y 45.83, por lo que se considera una seroprevalencia elevada para la zona.
- Se determina que existe coinfección de *N. caninun* y *T. gondii* al identificar animales con anticuerpos para ambos parásitos, en cinco de los seis municipios evaluados, con una seroprevalencia general de 7.07% (13/184), los porcentajes muestran variaciones que van de 4.17% a 16.67%.
- Los principales factores de riesgo asociados a *N. caninum* fueron: historial de abortos, manejo de desechos, alimentación en pastoreo, presencia de perros y roedores.
- Los factores de riesgos asociados a *T. gondii* fueron: condiciones pobres de higiene, presencia de gatos, presencia de otros animales de granja, entorno urbano y agua de bebida, todos fueron estadísticamente significativos.
- Se detectó la presencia de ADN de *N. caninum* en 14.13% (26/184) del total de la población considerada en el estudio.

- No se detectó ADN de *T. gondii* en las muestras de sangre periférica de ovinos.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

- Abu-Dalbouh, M. A. A., Ababneh, M. M., Giadinis, N. D., and Lafi, S. Q. (2012). Ovine and caprine toxoplasmosis (*Toxoplasma gondii*) in aborted animals in Jordanian goat and sheep flocks. *Tropical Animal Health and Production*, *44*(1), 49-54. doi.org/10.1007/s11250-011-9885-2
- Ali, A., Omer, T., Ullah, A., Haleem, A., Naseem, M., Ullah, M., and Khan, M. N. (2021). Epidemiological Survey of *Toxoplasma gondii* and Associated Risk Factors in Ruminant Species of the Khyber Pakhtunkhwa Province of Pakistan. *Journal of Parasitology Research*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6653239>
- Al-Kappany, Y. M., Abbas, I. E., Devleesschauwer, B., Dorny, P., Jennes, M., and Cox, E. (2018). Seroprevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in Egyptian sheep and goats. *BMC veterinary research*, *14*(1), 120. doi.org/10.1186/s12917-018-1440-1
- Alvarado E, C., Howe, D. K., Yeargan, M. R., Alvarado E, D., Zamarripa B, J. A., and Dubey, J. P. (2017). Seroepidemiology of *Sarcocystis neurona* and *Neospora hughesi* infections in domestic donkeys (*Equus asinus*) in Durango, Mexico. *Parasite*, *24*. doi: 10.1051/parasite/2017030
- Alvarado E, C., Romero S, D., García V, Z., Crivelli D, M., Barrientos M, M., Lopez B, L., and Dubey, J. P. (2014). Seroprevalence and correlates of *Toxoplasma gondii* infection in domestic pigs in Veracruz State, Mexico. *Tropical animal health and production*, *46*(4), 705-709. doi.org/10.1007/s11250-014-0551-3
- Alvarez, A. R. (2006). Los protozoos: características generales y su rol como agentes patógenos. *Ciencia Veterinaria*, *8*(1), 62-71. <http://170.210.120.129/index.php/veterinaria/article/view/1917>

- Amdouni, Y., Amairia, S., Said, Y., Awadi, S., and Gharbi, M. (2018). First molecular detection and phylogenetic analysis of *Neospora caninum* DNA from naturally infected goats in Northwest Tunisia. *Acta parasitológica*, 63(4), 709-714. <https://doi.org/10.1515/ap-2018-0083>
- Artega. (2012). Publicacion electrónica consultada el día 06/11/17 del sitio: <http://www.ovinos.com.mx/descargas/CIBO%202012%20CONFERENCIAS/Tendencias,%20Oportunidades%20y%20Amenazas%20de%20MercadoFINAL.pdf>
- Bacci, C., Vismarra, A., Passeri, B., Sciarrone, F., Mangia, C., Genchi, M., and Kramer, L. (2016). Detection of *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis tenella* in indigenous Cornigliese sheep in Italy using serological and molecular methods. *Small Ruminant Research*, 135, 13-16. doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.12.025
- Bennett, R., and Ijpelaar, J. (2005). Updated estimates of the costs associated with thirty-four endemic livestock diseases in Great Britain: a note. *Journal of Agricultural Economics*, 56(1), 135-144. doi.org/10.1111/j.1477-9552.2005.tb00126.x
- Castañeda H, A., Cruz V, C., and Medina E, L. (2014). *Neospora caninum*: Seroprevalence and DNA detection in blood of sheep from Aguascalientes, Mexico. *Small Ruminant Research*, 119(1-3), 182-186. doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.03.002
- Cruz, V. C., García, V. Z., Rosario, C. R., and Solorzano, S. M., (1992). Ovine toxoplasmosis in Huitzilac, Morelos, Mexico. *Preventive Veterinary Medicine*, 12(1-2), 27-33. [doi.org/10.1016/0167-5877\(92\)90066-O](https://doi.org/10.1016/0167-5877(92)90066-O)
- Cruz-Vázquez, C., De Velasco-Reyes, I., and Vitela-Mendoza, I. (2020). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection and associated factors in sheep from Jalisco, Mexico. *The Journal of Parasitology*, 106(3), 392-394. doi.org/10.1645/19-176

- Dahourou, L. D., Gbati, O. B., Savadogo, M., Yougbare, B., Dicko, A., Combari, A. H. B., and Kamga-Waladjo, A. R. (2019). Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in households sheep “Elevage en case” in Dakar, Senegal. *Veterinary world*, 12(7), 1028. doi: 10.14202/vetworld.2019.1028-1032
- Dalla Rosa, L., de Moura, A. B., Gúths, M. F., Bellato, V., Sartor, A. A., and de Souza, A. P. (2011). Prevalência e fatores de risco para infecção por *Neospora caninum* em ovinos no município de Lages, Santa Catarina, Brasil. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 10(2), 127-137. <https://periodicos.udesc.br/index.php/agroveterinaria/article/view/5276/3486>
- Dempster, R. P., Wilkins, M., Green, R. S., and De Lisle, G. W. (2011). Serological survey of *Toxoplasma gondii* and *Campylobacter fetus fetus* in sheep from New Zealand. *New Zealand veterinary journal*, 59(4), 155-159. doi.org/10.1080/00480169.2011.579240
- Dubey, J. P., and Schares, G. (2011). Neosporosis in animals—the last five years. *Veterinary parasitology*, 180(1-2), 90-108. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.031>
- Dubey, J. P., Hemphill, A., Calero-Bernal, R., and Schares, G. (2017). *Neosporosis in animals*. CRC Press.
- Dubey, J. P., Murata, F. H. A., Cerqueira-Cezar, C. K., Kwok, O. C. H., and Su, C. (2020). Economic and public health importance of *Toxoplasma gondii* infections in sheep: 2009–2020. *Veterinary Parasitology*, 286(C). <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109195>
- Dubey, J.P., Murata, F.H.A., Cerqueira, C.K., Kwok, O.C.H., and Yang, Y.R. (2020). Public health significance of *Toxoplasma gondii* infections in cattle: 2009–2020. *J Parasitol* 106: 772-788. doi: 10.1645/20-82

- Durán, G. V., Medina, A. B., and Prado, L. O. (2001). La ganadería en México (Vol. 5). Plaza y Valdes.
- Edvinsson, B., Jalal, S., Nord, C. E., Pedersen, B. S., and Evengård, B. (2004). DNA extraction and PCR assays for detection of *Toxoplasma gondii*. *Apmis*, 112(6), 342-348. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2004.apm1120604.x>
- Etikan, I., Musa, S. A., and Alkassim, R. S. (2016). Comparison of convenience sampling and purposive sampling. *American journal of theoretical and applied statistics*, 5(1), 1-4. doi: 10.11648/j.ajtas.20160501.11
- Ferreira, M. S. T., Vogel, F. S. F., Sangioni, L. A., Cezar, A. S., and de Menezes, F. R. (2016). *Neospora* spp. and *Toxoplasma gondii* infection in sheep flocks from Rio Grande do Sul, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, 37(3), 1397-1406. doi:10.5433/1679-0359.2016v37n3p1397
- Freyre, A., Bonino, J., Falcon, J., Castells, D., Correa, O., and Casaretto, A. (1999). The incidence and economic significance of ovine toxoplasmosis in Uruguay. *Veterinary parasitology*, 81(1), 85-88. doi: 10.1016/S0304-4017(98)00215-5
- Gazzonis, A. L., Veronesi, F., Di Cerbo, A. R., Zanzani, S. A., Molineri, G., Moretta, I., and Manfredi, M. T. (2015). *Toxoplasma gondii* in small ruminants in Northern Italy—prevalence and risk factors. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 22(1). doi.org/10.5604/12321966.1141370
- Gharekhani, J., Yakhchali, M., Esmailnejad, B., Mardani, K., Majidi, G., Sohrabei, A., and Hazhir Alaei, M. (2018). Seroprevalence and risk factors of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in small ruminants in Southwest of Iran. *Archives of Razi Institute*, 73(4), 305-310. Doi: 10.22092/ARI.2017.109958.1119

Gobierno del Estado de Jalisco (2019) Publicación electrónica consultada el día 27/05/19 del sitio: <https://www.jalisco.gob.mx/es/jalisco/municipios>

Gomez-Rios, A., Ortega-Pacheco, A., Gutierrez-Blanco, E., Acosta-Viana, K. Y., Guzman-Marin, E., Guiris-Andrade, M. D., and Jiménez-Coello, M. (2019). *Toxoplasma gondii* in Captive Wild Felids of Mexico: Its Frequency and Capability to Eliminate Oocysts. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 19(8), 619-624.. doi.org/10.1089/vbz.2018.2385

Guevara, S., and Lira-Noriega, A. (2011). De los pastos de la selva a la selva de los pastos: la introducción de la ganadería en México. *Pastos*, 34(2), 109-150. <http://polired.upm.es/index.php/pastos/article/view/1331>

Hamilton, C. M., Katzer, F., Innes, E. A., and Kelly, P. J. (2014). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in small ruminants from four Caribbean islands. *Parasites & vectors*, 7(1), 1-4. doi.org/10.1186/1756-3305-7-449

Hecker, Y. P., Morrell, E. L., Fiorentino, M. A., Gual, I., Rivera, E., Fiorani, F., and Moore, D. P. (2019). Ovine abortion by *Neospora caninum*: first case reported in Argentina. *Acta parasitologica*, 64(4), 950-955. <https://doi.org/10.2478/s11686-019-00106-z>

Hernández C, I. B., Jiménez C, M., Acosta V, K. Y., Guzmán M, E., Torres A, J. F. J., Rodríguez B, J. C., and Ortega P, A. (2014). Comparing the dynamics of *Toxoplasma gondii* seroconversion in growing sheep kept on raised slatted floor cages or floor pens in Yucatan, Mexico. *Small Ruminant Research*, 121(2-3), 400-403. doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.06.011

Hernández-Marín, J. A., Valencia-Posadas, M., Ruíz-Nieto, J. E., Mireles-Arriaga, A. I., Cortez-Romero, C., and Gallegos-Sánchez, J. (2017). Contribución De La Ovinocultura

Al Sector Pecuario en México. *Agroproductividad*, 10(3), 87–93.
<https://web.s.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=1&sid=fc43cbd2-30c2-4eae-8aba-ec519bf03165%40redis>

Homan, W. L., Vercammen, M., De Braekeleer, J., and Verschueren, H. (2000). Identification of a 200-to 300-fold repetitive 529 bp DNA fragment in *Toxoplasma gondii*, and its use for diagnostic and quantitative PCR. *International journal for parasitology*, 30(1), 69-75. doi.org/10.1016/S0020-7519(99)00170-8

Horcajo, P., Jiménez-Pelayo, L., García-Sánchez, M., Regidor-Cerrillo, J., Collantes-Fernández, E., Rozas, D., and Ortega-Mora, L. M. (2017). Transcriptome modulation of bovine trophoblast cells in vitro by *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*, 47(12), 791-799. doi.org/10.1016/j.ijpara.2017.08.007

Ibrahim, H. M., Mohamed, A. H., El-Sharaawy, A. A., and El-Shqanqery, H. E. (2017). Molecular and serological prevalence of *Toxoplasma gondii* in pregnant women and sheep in Egypt. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(10), 996-1001. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.09.012>

Iowa State University, College of Veterinary Medicine (2005). Publicación electrónica consultada el día 07/11/17 del sitio: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/sarcocistosis.pdf>

Izadyar, N., Nikfarjam, B. A., Rastaghi, A. R. E., Alizadeh, S. A., Heydarian, P., and Saraei, M. (2019). A serologic study on *Toxoplasma gondii* infection in slaughtered sheep and goats in Qazvin Province, Iran. *Tropical animal health and production*, 1-5. doi.org/10.1007/s11250-019-01832-2

- Jaramillo Arango, C. J., and Martínez Maya, J. (2010). *Epidemiología veterinaria*. Editorial El Manual Moderno.
- Jiménez, P, L., García, S, M., Regidor, C, J., Horcajo, P., Collantes, F, E., Gómez, B, M., and Ortega, M, L. M. (2017). Differential susceptibility of bovine caruncular and trophoblast cell lines to infection with high and low virulence isolates of *Neospora caninum*. *Parasites & Vectors*, *10*(1), 463. doi.org/10.1186/s13071-017-2409-9
- Kouam, M., Kantzoura, V., Cabezón, O., Nogareda, C., Almeria, S., and Theodoropoulos, G. (2019). Comparative cross-sectional study of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*: Seroprevalence in sheep of Greece and North-Eastern Spain. *Sustain. Dev. Cult. Tradit. J*, 1-7. DOI: 10.26341/issn.2241-4002-2019-sv-1
- Lahmar, I., Lachkhem, A., Slama, D., Sakly, W., Haouas, N., Gorcii, M., and Babba, H. (2015). Prevalence of toxoplasmosis in sheep, goats and cattle in Southern Tunisia. *Journal of Bacteriology & Parasitology*, *6*(5), 1. doi:10.4172/2155-9597.1000245
- Lin, M. H., Chen, T. C., Kuo, T. T., Tseng, C. C., and Tseng, C. P. (2000). Real-time PCR for quantitative detection of *Toxoplasma gondii*. *Journal of clinical microbiology*, *38*(11), 4121-4125. https://doi.org/10.1128/JCM.38.11.4121-4125.2000
- Liu, Z. K., Li, J. Y., and Pan, H. (2015). Seroprevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in small ruminants in China. *Preventive veterinary medicine*, *118*(4), 488-492. doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.12.017
- Luptakova, L., Benova, K., Rencko, A., and Petrovova, E. (2015). DNA detection of *Toxoplasma gondii* in sheep milk and blood samples in relation to phase of infection. *Veterinary parasitology*, *208*(3-4), 250-253. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.12.002

- Mahittikorn, A., Thammasonthijarern, N., Roobthaisong, A., Udonsom, R., Popruk, S., Siri, S., and Sukthana, Y. (2017). Development of a loop-mediated isothermal amplification technique and comparison with quantitative real-time PCR for the rapid visual detection of canine neosporosis. *Parasites & Vectors*, *10*(1), 394. doi.org/10.1186/s13071-017-2330-2
- Martin, M., Franco, C. D., Romero, S., Carletti, T., Schnittger, L., and Florin-Christensen, M. (2016). Molecular detection of *Sarcocystis aucheniae* in the blood of llamas from Argentina. *Revista Argentina de microbiologia*, *48*(3), 200-205. doi.org/10.1016/j.ram.2016.03.009
- Marugan, H, V. (2017). *Neospora caninum* and Bovine Neosporosis: Current Vaccine Research. *Journal of Comparative Pathology*, *157*(2), 193-200. doi.org/10.1016/j.jcpa.2017.08.001
- Medina Esparza, L. E., Luna Oseguera, R. D., Vitela Mendoza, I. V., and Cruz Vázquez, C. (2018). Detección de *Neospora caninum* en ganado lechero sacrificado en Aguascalientes, México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, *9*(3), 408-419. doi.org/10.22319/rmcp.v9i3.4538
- Mendonça, C. E. D., Munhoz, A. D., de Santana Rocha, D., Guimarães, L. A., Bezerra, R. A., Albuquerque, G. R., & de Melo, C. B. (2019). Factors associated with the seroprevalence of *Neospora caninum* (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) in sheep from the State of Sergipe, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, *41*, e002819-e002819. doi:10.29374/2527-2179.bjvm002819
- Mogollón Almidón, M. V. (2016). Estandarización y evaluación de un ELISA indirecto para la detección de anticuerpos IgG anti *Toxoplasma gondii* en población peruana. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/5378>

- Mondragón, A. J., and Jaime, A. (2011). La Cadena Productiva d Carne Ovina en México Uruguay. Tacuarembó: *INIA*.
- Moraes, L. M. D. B., Raimundo, J. M., Guimarães, A., Santos, H. A., Junior, M., de Lima, G., and Baldani, C. D. (2011). Occurrence of anti-*Neospora caninum* and anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies in goats and sheep in western Maranhão, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 20(4), 312-317. doi.org/10.1590/S1984-29612011000400010
- Müller, N., Zimmermann, V., Hentrich, B., and Gottstein, B. (1996). Diagnosis of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infection by PCR and DNA hybridization immunoassay. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(11), 2850-2852. <https://doi.org/10.1128/jcm.34.11.2850-2852.1996>
- Nunes, A. C., Yamasaki, E. M., Kim, P. C., Melo, R. P., Ribeiro-Andrade, M., Porto, W. J., and Mota, R. A. (2017). Transplacental transmission of *Neospora caninum* in naturally infected small ruminants from northeastern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 37, 921-925. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017000900004>
- Opsteegh, M., Teunis, P., Züchner, L., Koets, A., Langelaar, M., and van der Giessen, J. (2011). Low predictive value of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle for detection of parasite DNA. *International journal for parasitology*, 41(3-4), 343-354. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.10.006>
- Padrón Ganadero Nacional (PGN) 2018. Publicación electrónica consultada el día 04/12/18 del sitio: http://www.pgn.org.mx/_programs/busca-action.php
- Pérez, B. S. (2010). *Cryptosporidium* y *Toxoplasma*. Dos importantes protozoos parásitos transmisibles por los alimentos y el agua. Monografías de la Real Academia Nacional

de

Farmacia.

https://bibliotecavirtual.ranf.com/es/catalogo_imagenes/grupo.do?path=6025246

Perry, B. D., and Randolph, T. F. (1999). Improving the assessment of the economic impact of parasitic diseases and of their control in production animals. *Veterinary parasitology*, 84(3-4), 145-168. doi.org/10.1016/S0304-4017(99)00040-0

Portella, L. P., Cadore, G. C., Sangioni, L. A., Alves, M. E. M., Chemeris, R., Brum, L. P., and Vogel, F. S. F. (2016). Molecular detection of protozoa of the Sarcocystidae family in sheep from the State of Rio Grande do Sul, Brazil. *Ciência Rural*, 46(9), 1613-1617. doi.org/10.1590/0103-8478cr20151365

Primrose, D. M. (2014). Antigenicity of peptides from the protein ROP18, a virulence factor in *Toxoplasma gondii*. <http://hdl.handle.net/1992/7807>

Rábago-Castro, J. L., Jasso-Obregón, J. O., Zertuche-Rodríguez, J. L., Sánchez-Martínez, J. G., Loredó-Osti, J., and Domínguez-Muñoz, M. Á. (2017). Detection of *Neospora caninum* antibodies in beef cattle in Tamaulipas, Mexico. Case report. *Austral journal of veterinary sciences*, 49(3), 205-207. doi.org/10.4067/S0719-81322017000300205

Razmi, G., and Naseri, Z. (2017). Molecular detection of *Neospora caninum* infection in ovine aborted fetuses in the Mashhad area, Iran. *Annals of parasitology*, 63(1), 45-47. doi: 10.17420/ap6301.84

Regidor, C. J., Arranz, S. D., Benavides, J., Gómez, B. M., Castro, H. J. A., Mezo, M., and González, W. M. (2014). *Neospora caninum* infection during early pregnancy in cattle: how the isolate influences infection dynamics, clinical outcome and peripheral and local immune responses. *Veterinary research*, 45(1), 10. doi.org/10.1186/1297-9716-45-10

- Rizzo, H., Gaeta, N. C., HORA, J. H. C., da Silva Carvalho, J., Júnior, J. W. P., Gennari, S. M., and Gregory, L. (2017). Fatores de risco para a infecção de *Toxoplasma gondii* em ovinos da região nordeste do Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 54(2), 139-146. doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2017.117795
- Romanelli, P. R., Matos, A. M. R. N. D., Pinto-Ferreira, F., Caldart, E. T., Carmo, J. L. M. D., Santos, N. G. D., and Navarro, I. T. (2021). Anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from Paraná state, South Brazil: prevalence and associated factors. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 30. https://doi.org/10.1590/S1984-29612021021
- Romero-Salas, D., Alvarado-Esquivel, C., Domínguez-Aguilar, G., Cruz-Romero, A., Ibarra-Priego, N., Barrientos-Salcedo, C., and Hernández-Tinoco, J. (2017). Seroepidemiology of infection with *Neospora caninum*, *Leptospira*, and bovine herpesvirus type 1 in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Veracruz, Mexico. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 7(4), 278-283. doi.org/10.1556/1886.2017.00029
- Romo-Gallegos, J. M., Cruz-Vázquez, C., Medina-Esparza, L., Ramos-Parra, M., and Romero-Salas, D. (2019). Prevalence and risk factors of *Neospora caninum* infection in ovine flocks of central-western Mexico. *Acta Veterinaria Hungarica*, 67(1), 51-59. doi: 10.1556/004.2019.006
- Sah, R. P., Dey, A. R., Rahman, A. A., Alam, M. Z., and Talukder, M. H. (2019). Molecular detection of *Toxoplasma gondii* from aborted fetuses of sheep, goats and cattle in Bangladesh. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 18, 100347. https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100347

Salehi, B., Amouei, A., Dodangeh, S., Daryani, A., Sarvi, S., Safari-Kharyeki, M. R., and Hosseinijad, Z. (2021). Molecular Identification of *Neospora caninum* Infection in Aborted Fetuses of Sheep, Cattle, and Goats in Mazandaran Province, Northern Iran. *Iranian Journal of Parasitology*, 16(3), 483. doi: 10.18502/ijpa.v16i3.7102

Sandoval-Rodríguez, F. E., and Mondragón-Flores, R. (2017). 3 ciclo de vida. *Toxoplasmosis Humana*, 24. https://www.researchgate.net/profile/Ma-Galvan-Ramirez/publication/320404110_Toxoplasmosis_Humana/links/59e28780458515393d57f665/Toxoplasmosis-Humana.pdf#page=30

Secretaria de Desarrollo Rural del Estado de Jalisco (SEDER) 2014. Publicación electrónica consultada el día 30/11/18 del sitio: <https://seder.jalisco.gob.mx/fomento-ganaderoagricola-e-inocuidad/676>

Secretaria de Economía (2017) Publicación electrónica consultada el día 27/05/19 del sitio: http://mim.promexico.gob.mx/work/models/mim/Documentos/PDF/mim/FE_JALISCO_vf.pdf

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2016) Publicación electrónica consultada el día 27/05/19 del sitio: http://infosiap.siap.gob.mx/anpecuario_siapx/GanadoMpio.do;jsessionid=B50B2571625E59D784B8D1EE1FF612E2

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2018) Publicación electrónica consultada el día 27/05/19 del sitio: http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecResumen.jsp

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2018) Publicación electrónica consultada el día 27/05/19 del sitio: http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecAvanceEdo.jsp

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) 2017. Publicación electrónica consultada el día 13/08/2018 del sitio: http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecAvanceEdo.jsp

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

Stelzer, S., Basso, W., Silván, J. B., Ortega-Mora, L. M., Maksimov, P., Gethmann, J., and Schares, G. (2019). *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis in farm animals: Risk factors and economic impact. *Food and Waterborne Parasitology*, 15, e00037. doi.org/10.1016/j.fawpar.2019.e00037

Suazo-Cortez, R., Martínez-Herrera, D. I., Pardío-Sedas, V. T., Cruz-Vázquez, C. R., Morales-Álvarez, J. F., Sánchez-Viveros, G., and Galindo-Tovar, M. E. (2020). Seroprevalence and risk factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in sheep of Veracruz State, southeast Mexico. In *Veterinary Research Forum* (Vol. 11, No. 1, p. 77). Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. doi: 10.30466/vrf.2019.96751.2313

Sun, L. X., Liang, Q. L., Nie, L. B., Hu, X. H., Li, Z., Yang, J. F., and Zhu, X. Q. (2020). Serological evidence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection in black-boned sheep and goats in southwest China. *Parasitology International*, 75, 102041. doi.org/10.1016/j.parint.2019.102041

Tagel, M., Lassen, B., Viltrop, A., and Jokelainen, P. (2019). Large-scale epidemiological study on *Toxoplasma gondii* seroprevalence and risk factors in sheep in Estonia: age, farm location, and breed associated with seropositivity. *Vector-borne and Zoonotic Diseases*, 19(6), 421-429. doi.org/10.1089/vbz.2018.2343

- Tegegne, D., Abdurahaman, M., and Yohannes, M. (2016). Seroepidemiology and associated risk factors of *Toxoplasma gondii* in sheep and goats in Southwestern Ethiopia. BMC veterinary research, 12(1), 1-6. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0906-2>
- Tilahun, B., Tolossa, Y. H., Tilahun, G., Ashenafi, H., and Shimelis, S. (2018). Seroprevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* infection among domestic ruminants in East Hararghe zone of Oromia Region, Ethiopia. Veterinary medicine international, 2018. doi.org/10.1155/2018/4263470
- Torres-Castro, M. A., Medina-Pinto, R. A., Noh-Pech, H. R., Puerto, F. I., and Rodríguez-Vivas, R. I. (2019). Molecular identification of *Toxoplasma gondii* in roadkill wild animals in Yucatan, Mexico. Veterinaria México, 6(1), 1-9. DOI: doi.org/10.22201/fmvz.24486760e.2019.1.511
- Universidad Nacional de la plata. Facultad de Ciencias Veterinarias (2017). Publicación electrónica consultada el día 07/11/17 del sitio: http://www.fcv.unlp.edu.ar/index.php?option=com_content&view=article&id=1928&Itemid=1961
- Uribe Echeverry, P. T., Herrera Cañón, J. C., Orozco Clavijo, N. J., and Betancur Pérez, J. F. (2013). Uso alternativo del colorante Gelred en la tinción de ácidos nucleicos. Archivos de Medicina (Col), 13(2). <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=273829753005>
- Wang, S., Li, L., Lu, Y., Zhang, H., Xie, Q., & Zhang, Z. (2018). Seroprevalence and risk factors of *Neospora caninum* infection among domestic sheep in Henan province, central China. Parasite, 25. doi: 10.1051/parasite/2018019
- Zárate-Martínez, J. P., Rosete-Fernández, J. V., Socci-Escatell, G. A., Fragoso-Islas, A., Olazarán-Jenkins, S., Granados-Zurita, L., & Ríos-Utrera, Á. (2020). Prevalence of

Neospora caninum bovine serum antibodies in the Central and Eastern regions of Mexico. Revista MVZ Córdoba, 26(1), e1996-e1996. doi.org/10.21897/rmvz.1996