

Prevalencia de neosporosis y calidad seminal en ganado bovino en la Costa Chica de Guerrero

Neosporosis prevalence and semen quality in cattle in the Costa Chica region of Guerrero, Mexico

Bottini Luzardo, M. B.¹ , Núñez Martínez, G.² , Sánchez Santillán, P.¹ ,
Saavedra Jiménez, L. A.^{1*} 

¹ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 2. Universidad Autónoma de Guerrero. Km. 197 Carretera Acapulco – Pinotepa Nacional. C.P. 41940. Cuajinicuilapa, Guerrero, México.
² Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. Calle 21 sur 1103, Barrio de Santiago, Heroica Ciudad de Puebla de Zaragoza. C.P. 72410. Puebla, Puebla, México.



Please cite this article as/Como citar este artículo: Bottini Luzardo, M. B., Núñez Martínez, G., Sánchez Santillán, P., Saavedra Jiménez, L. A. (2025). Neosporosis prevalence and semen quality in cattle in the Costa Chica region of Guerrero, Mexico. *Revista Bio Ciencias*, 12, e1777. <https://doi.org/10.15741/revbio.12.e1777>

Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: October 16th 2024.

Accepted/Aceptado: December 30th 2024.

Available on line/Publicado: March 04th 2025.

RESUMEN

La neosporosis bovina es una enfermedad con consecuencias reproductivas e impacto económico negativo. El objetivo fue determinar la prevalencia de neosporosis en bovinos y la calidad espermática de sementales positivos a *Neospora caninum* en Cuajinicuilapa y Ometepec, municipios de la Costa Chica de Guerrero, México. Se visitaron 38 unidades de producción en las cuales se muestrearon 300 vacas y 100 sementales en edad reproductiva. Se tomaron 10 mL de sangre de la vena coccígea. Las muestras fueron centrifugadas a 3500 rpm por 15 min para obtener el plasma, el cual fue depositado en viales tipo Eppendorf de 1.5 mL y mantenidos a -20 °C hasta su análisis. Los anticuerpos contra *N. caninum* se determinaron utilizando el kit ID Screen® *Neospora caninum* Competition para ELISA. Las características espermáticas evaluadas fueron motilidad individual, concentración y morfología. La prevalencia de *N. caninum* en general fue de 15.3 % (58/378), en hembras fue 17.5 % (50/286) y en el caso de los sementales fue de 8.7 % (8/92). Los machos positivos a *N. caninum* pueden presentar problemas de fertilidad debido a que la concentración espermática se vio disminuida. En conclusión, la prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en ganado bovino de los municipios de Cuajinicuilapa y Ometepec puede considerarse baja, y su presencia puede disminuir la concentración espermática.

PALABRAS CLAVE: Factores de riesgo, *Neospora caninum*, suroeste mexicano, vacas, toros.

*Corresponding Author:

Luis Antonio Saavedra Jiménez. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 2. Universidad Autónoma de Guerrero. Km. 197 Carretera Acapulco – Pinotepa Nacional. C.P. 49140. Cuajinicuilapa, Guerrero, México. Teléfono: (741) 414 0783.
E-mail: 19188@uagro.mx

ABSTRACT

Bovine neosporosis can have negative reproductive consequences and economic impacts. Developing effective control strategies requires extensive data on its presence and prevalence in cattle herds. The present study objective was to quantify neosporosis prevalence in cattle and sperm quality in *Neospora caninum*-positive bulls in the municipalities of Cuajinicuilapa and Ometepec, in the Costa Chica region of the Guerrero state, Mexico. Blood samples (10 mL) were collected from 300 cows and 100 bulls of reproductive age from 38 production units. Samples were taken from the coccygeal vein and centrifuged at 3500 rpm for 15 min to separate the plasma, which was placed in 1.5 mL Eppendorf vials and stored at -20 °C until analysis. Antibodies against *N. caninum* were identified with the ID Screen® *Neospora caninum* Competition kit for ELISA. Sperm individual motility, concentration, and morphology were evaluated. Overall *N. caninum* prevalence was 15.3 % (58/378), 17.5 % (50/286) in cows, and 8.7 % (8/92) in bulls. Bulls positive for *N. caninum* exhibited sperm concentrations slightly lower than levels deemed fertile. The observed *N. caninum* prevalence in the sampled animals is low, although its presence in bulls may cause lower sperm concentrations.

KEY WORDS : Bulls, cows, *Neospora caninum*, risk factors, southwest Mexico.

Introducción

La neosporosis en bovinos es reconocida como una enfermedad de importancia mundial con efectos negativos sobre la reproducción (van Velsen, 2021), causando pérdidas en la ganadería bovina estimadas en 1,298 mil millones de dólares año⁻¹ (Reichel *et al.*, 2013). En México, la presencia de esta enfermedad se ha registrado en Chihuahua, Durango, Coahuila, Aguascalientes, Hidalgo, Querétaro, Jalisco (García-Vázquez *et al.*, 2009), Nuevo León, Tamaulipas, Chiapas, Veracruz, Yucatán (Salinas *et al.*, 2005; Romero-Salas *et al.*, 2010) y recientemente en el estado de Guerrero (Ascencio-Díaz *et al.*, 2020). En este último estado, el 45 % de la población vive de la producción bovina (Periódico Oficial del Estado de Guerrero, 2023), siendo una de las actividades agropecuarias de mayor importancia.

La neosporosis bovina es una enfermedad producida por el protozoo *Neospora caninum* (Marugan-Hernandez, 2017). Diversas especies de mamíferos (cabras, ovejas, venados, caballos, bovinos) pueden ser hospederos intermediarios, mientras que los canidos (zorro, coyote, perro),

se comportan como hospederos definitivos (Gondim *et al.*, 2004). La transmisión del parásito a los hospederos intermediarios puede ocurrir de manera horizontal, por la ingesta de ooquistes, o verticalmente por vía transplacentaria. La transmisión vertical a su vez puede subclasificarse como endógena o exógena. La vía endógena es ocasionada por la reactivación de quistes tisulares en un animal infectado y se asocia a un patrón de fallas reproductivas. La transmisión exógena tiene lugar después de una infección horizontal primaria causada por la ingesta de ooquistes por un animal preñado y se asocia a un patrón epidémico de abortos (Marugan-Hernandez, 2017).

En bovinos, el signo clínico más importante de la neosporosis es el aborto e infertilidad en la hembra (Reichel *et al.*, 2020), aunque pueden presentarse casos de muerte embrionaria o neonatal (Marugan-Hernandez, 2017). Los abortos son ocasionados por el daño tisular que ocasiona el parásito en la placenta, como consecuencia de procesos inflamatorios y fallas en la irrigación (Cantón *et al.*, 2014). En sementales se ha reportado la presencia del parásito en el semen (Jafari *et al.*, 2012) y en los epidídimos (Gharekhani *et al.*, 2023). Lo que implica la presencia del parásito en el testículo, pudiendo causar procesos inflamatorios que afecten la calidad seminal.

En el trópico mexicano, uno de los principales problemas que afecta la eficiencia reproductiva de la hembra es que no producen un becerro vaca⁻¹ año⁻¹, y a pesar de que puede tener un origen multifactorial, el desconocimiento de alguno de ellos evita que puedan crearse estrategias para mejorarla. En Guerrero, la presencia de *N. caninum* ha sido reportada en los municipios de Ometepec y Cuajinicuilapa (Ascencio-Díaz *et al.*, 2020), y como posible origen de los abortos es necesario no sólo conocer si este parásito está presente en el hato, sino también que porcentaje del hato está afectado. Por lo que el objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia de neosporosis en bovinos y la calidad espermática de sementales positivos a *N. caninum* en dos municipios de la Costa Chica de Guerrero.

Material y Métodos

Área de estudio

El estudio se realizó en tres localidades del municipio de Cuajinicuilapa y cinco localidades del municipio de Ometepec (Figura 1), donde se muestrearon 38 unidades de producción al azar, siguiendo las mismas áreas muestreadas en el estudio de Ascencio-Díaz *et al.* (2020). El estudio se llevó a cabo de febrero de 2019 a diciembre de 2021.

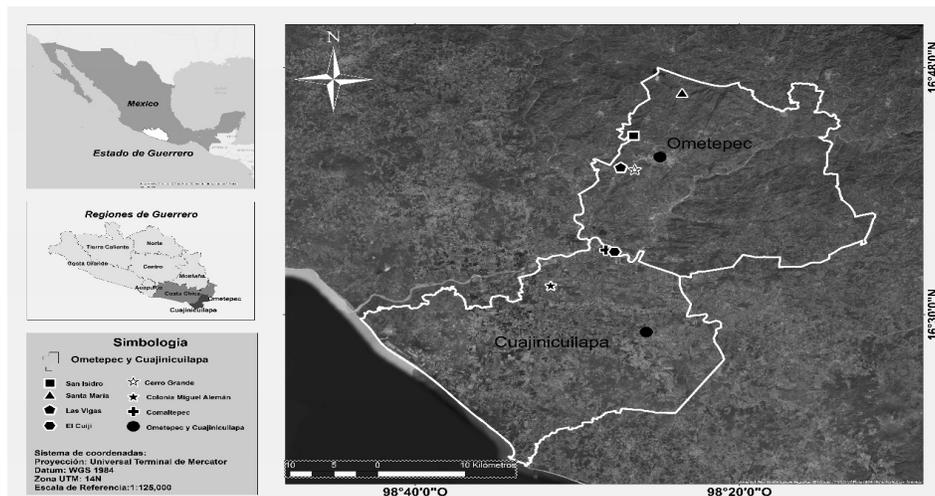


Figura 1. Área de muestreo en los municipios de Cuajinicuilapa y Ometepec, Guerrero.

Fuente: Elaboración propia a partir de datos de INEGI (2019)

Animales

Los animales muestreados se encontraban en edad reproductiva. Se evaluaron 100 sementales con edad promedio de 6 ± 2 años, 77 *Bos indicus*, 13 *Bos taurus* y 10 cruza *Bos indicus* x *Bos taurus*. Se tomaron muestras de 300 hembras con edad promedio 5 ± 3 años, siendo cruza de *Bos indicus* x *Bos taurus*. Los animales se encontraban en sistemas extensivos o semi-intensivos con suplementación mineral y agua *ad libitum*.

Registros productivos y factores de riesgo

Se cuestionó a los productores sobre los siguientes parámetros reproductivos: 1) edad al primer parto, 2) intervalo entre partos, 3) presencia de abortos, 4) becerros nacidos muertos o débiles. También se cuestionó acerca de la presencia de perros y el programa de desparasitación para los cánidos presentes en la unidad de producción; así como por el avistamiento de animales de fauna silvestre como zorros. Las respuestas fueron registradas en hojas individuales para cada unidad de producción.

Toma y procesamiento de muestra

Se tomaron 10 mL de sangre de la vena coccígea previa desinfección de la zona ubicada en la línea media ventral de la cola. La sangre fue recolectada en tubos Vacutainer® con anticoagulante EDTA. Las muestras fueron centrifugadas a 3500 rpm por 15 min para obtener el

plasma, el cual fue depositado en viales tipo Eppendorf de 1.5 mL que se mantuvieron a -20°C hasta su análisis.

Determinación de anticuerpo contra *Neospora caninum*

La identificación de anticuerpo contra *N. caninum* fue realizado mediante la prueba de ELISA indirecta, usando el kit comercial ID Screen *Neospora caninum* Indirect Kit (ID, Vet. Grabels, France), la cual tiene un 100 % de especificidad y 100 % de sensibilidad. La lectura de los resultados se hizo con el software proporcionado por Grabels, France.

Evaluación testicular y seminal

Se evaluaron machos bovinos presentes en las unidades de producción especializadas en la cría y venta de sementales. Los principales criterios de inclusión fueron que tuvieran una edad ≥ 16 meses, que no presentaran ningún defecto o patología en los órganos reproductivos y que gozaran de buena salud en general, sin presencia de fiebres o infecciones en los tres meses anteriores a la evaluación.

Se midió la circunferencia escrotal, empleando una cinta testimetro, los testículos fueron descendidos completamente en la bolsa escrotal y se colocó la cinta en el ecuador testicular (Koziol & Armstrong, 2018).

Para verificar que el parénquima testicular presentara un patrón ecogénico normal, se llevó a cabo la evaluación ecográfica de los testículos recorriéndolos en sentido dorsoventral y medio lateral como lo indica la metodología señalada por Momont & Checure (2015) con un ecógrafo Chison Eco 5 (China), con transductor lineal de 7.5 MHz.

El semen fue colectado utilizando un electroeyaculador Standar Precision USA. Según la técnica y parámetros señalados por Koziol & Armstrong (2018), se determinó la motilidad individual colocando una gota de semen sobre un portaobjetos a temperatura de 37°C , y sobre ella se colocó un cubreobjetos; se observó al microscopio en aumento de 40X y se estimó el porcentaje de espermatozoides con movimiento rectilíneo uniforme. También, se evaluó la morfología espermática haciendo un frotis con la tinción eosina-negrosina, el cual fue observado con el objetivo de 100X; se contaron 100 espermatozoides y se determinó el porcentaje de espermatozoides con anomalías primarias y secundarias. La concentración espermática fue determinada mediante conteo en la cámara de Neubauer Bright line siguiendo la metodología descrita por WHO (2010). Todas las características microscópicas fueron evaluadas en un microscopio LW scientific (USA) modelo i4 infinity.

Diseño experimental y análisis estadístico

Para determinar la dispersión de los datos obtenidos, se utilizó la estadística descriptiva. Se calculó la prevalencia puntual (p) con su intervalo de confianza al 95% (IC95%) utilizando las fórmulas:

$$p = \frac{\text{Número total de casos existentes en el momento } t}{\text{Total de la población evaluada en el momento } t} * 100$$

$$IC_{95\%} = p \pm 1.96 \frac{p(1-p)}{\sqrt{n}}$$

Resultados y Discusión

Registros reproductivos y factores de riesgo

Acerca de los registros reproductivos, la totalidad de los productores no llevaban ningún tipo de registro escrito. Sin embargo, mencionaron la presencia de abortos esporádicos e intervalos entre partos mayores a un año. Otra característica señalada por los productores es que las hembras generalmente tienen su primer parto a la edad de 4 años.

En todas las unidades de producción se confirmó la presencia de perros, siendo el 98 % pertenecientes a las mismas y el 2 % propiedad de los trabajadores, estos últimos perros viajan junto a sus dueños. El 45 % de los perros presentes en las unidades de producción sólo eran tratados contra garrapatas y pulgas, pero no contra otros parásitos. Sólo el 20 % de los propietarios mencionaron haber visto zorros en los potreros, pero nunca cerca de la casa o los corrales. Pereyra et al. (2021), encontraron la presencia de perros como un factor que aumentaba el riesgo de la presencia de *N. caninum* en el hato. Estos mismos autores reportan que los animales en pastoreo fueron más propensos a infectarse, ambos factores están presentes en el área investigada, por lo que los animales evaluados podrían estar expuestos al parásito.

En cuanto a las consecuencias reproductivas ocasionadas por la presencia de *N. caninum*, a pesar de la falta de registro, puede sugerirse que la presencia de este parásito estaría contribuyendo en la ocurrencia de abortos y largo intervalos entre partos. En vacas en el trópico se ha atribuido a factores nutricionales principalmente, y aunque este no puede descartarse, es posible que en el área de estudio la presencia de *N. caninum* estaría contribuyendo al retraso del inicio de la vida reproductiva de la hembra, tal como lo señala Pulido et al. (2017).

Determinación de anticuerpo contra *Neospora caninum*

En el presente estudio se determinó una prevalencia general de anticuerpos contra *N. caninum* de 15.3 % (IC_{95%}: 14.0 – 16.7 %). Las hembras tuvieron una mayor prevalencia que los sementales (Tabla 1). Del total de hembras muestreadas inicialmente, solo fue posible evaluar el 95.3 %, y 50 resultaron positivas, dando una prevalencia de 17.5 % (IC_{95%}: 15.8 – 19.2 %). En el caso de los sementales se evaluó el 92 % de las muestras obtenidas, donde 8 resultaron positivos, estimando una prevalencia de 8.7 % (IC_{95%}: 7.10 – 10.3 %). El CV interensayo fue del 8 % y el intraensayo de 7 %.

Tabla 1. Prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en bovinos de acuerdo con el sexo en dos municipios de la Costa Chica de Guerrero

Sexo	Número de animales			Prevalencia	IC _{95%}
	Muestreados	Evaluados	positivos		
Hembras	300	286	50	0.175	0.158 – 0.192
Machos	100	92	8	0.087	0.071 – 0.103
Total	400	378	58	0.153	0.140 – 0.167

IC_{95%}: intervalo de confianza al 95 %

Los resultados de prevalencia contra *N. caninum* obtenidos en la presente investigación pueden considerarse similares a los valores de prevalencia reportados en estudios bajo condiciones tropicales, donde se ha estimado 11.6 % en ganado de carne (García-Vázquez *et al.*, 2009), y entre 20.8 y 26 % para ganado doble propósito (Romero-Salas *et al.*, 2010; Montiel-Peña *et al.*, 2011; Zárate-Martínez *et al.*, 2021), similitud entre resultados que podría explicarse por la alimentación, a base de pastoreo, manejo y condiciones climáticas predominantes en los sistemas de producción bovina que se desarrollan en áreas tropicales, incluso la presencia de perros en la mayoría de las unidades de producción. Por el contrario, los valores de prevalencia obtenidos en estudios desarrollados en climas secos, templados o frío en sistemas productores de leche, carne, incluso en sistemas doble propósito son superiores al valor obtenido en el presente. En ganado lechero (Salinas *et al.*, 2005; Medina *et al.*, 2006; Ojeda-Carrasco *et al.*, 2016) la prevalencia contra *N. caninum* se ha reportado entre 36 y 80 %, para ganado de carne (García-Vázquez *et al.*, 2005; Salinas *et al.*, 2005; Mondragón-Zavala *et al.*, 2011) y en sistemas doble propósito (Zárate-Martínez *et al.*, 2021) el valor de prevalencia se ha reportado en 36 %. Además de las diferencias propias de los sistemas productivos evaluados, se debe considerar el procedimiento empleado en cada estudio para determinar la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* como posibles factores generadores de diversidad en los resultados obtenidos en el presente con los reportados por otros autores.

Estimaciones de prevalencia contra *N. caninum* para machos, en particular, son escasos. En México, la prevalencia de *N. caninum* en machos ha sido reportada entre 5.6 (García-Vázquez *et al.*, 2009) y 30 % (Mondragón-Zavala *et al.*, 2011), en ambos casos en ganado productor de carne. En Bélgica, la prevalencia de *N. caninum* en sementales ha sido reportada en 9.2 % en toros Belgian Blue (Kemel *et al.*, 2022), por lo que los resultados obtenidos en el presente estudio pueden considerarse dentro del rango publicado para ganado de carne.

Evaluación testicular y seminal

La circunferencia escrotal promedio fue de 34.5 cm para animales positivos y 36 cm para animales negativos. Las imágenes ecográficas mostraron un parénquima sano sin degeneraciones, tumores u otras afecciones (Figura 2).



Figura 2. Imagen ecográfica del parénquima testicular de un toro positivo a *Neospora caninum*

Fuente: Resultados propios

En animales positivos y negativos a *N. caninum*, las características de motilidad y morfología seminal (Tabla 2) se encontraron dentro de los parámetros indicados como aceptables (Koziol & Armstrong, 2018), aunque ligeramente menores en animales con neosporosis. Este hallazgo difiere de lo reportado en estudios realizados por Bahrami *et al.* (2018, 2019), donde la motilidad y la morfología fueron significativamente menores en animales con neosporosis en su fase aguda, reportando además inflamación y daño tisular en el parénquima testicular, lo que explicaría sus hallazgos. La presente investigación detectó presencia de anticuerpos contra *N. caninum* pero no en qué fase de la infección se encontraba el animal, dada la ecogenicidad normal del parénquima testicular y la falta de elementos que indicaran inflamación, es posible que se encontraran en una fase crónica donde la motilidad y morfología no fueron gravemente afectadas.

Tabla 2. Características seminales de sementales y prospectos de sementales positivos y negativos a *Neospora caninum* en dos municipios de la Costa Chica de Guerrero.

Item	Negativos	Positivos
Motilidad individual (%)	61	53
Concentración (Millones espermatozoides mL ⁻¹)	308	207
Morfología (% espermatozoides normales)	87	84

Fuente: Elaboración propia

En el caso de la concentración espermática los animales negativos tuvieron un valor superior al encontrado en animales positivos, cuya concentración está por debajo de lo indicado como mínimo 250×10^6 espermatozoides mL⁻¹ (Tabla 2) para considerar fértil a un toro (Koziol & Armstrong, 2018). Los resultados obtenidos en la presente investigación coinciden con los reportados por Bahrami *et al.* (2018, 2019) y van Velsen (2021), quienes concluyen que la presencia de *N. caninum* disminuye la concentración espermática por un efecto negativo sobre los niveles de testosterona, así como de la hormona reproductiva FSH, responsable del inicio de la espermatogénesis. Estos mismos autores señalan que más estudios son necesarios debido a que toros infectados no mostraron problemas de fertilidad. En la presente investigación el pequeño número de machos positivos no permitió hacer un análisis de correlación con la calidad seminal.

En cuanto a la calidad seminal, en el presente estudio sólo puede indicarse que la concentración espermática estuvo por debajo de lo aceptado en un toro fértil. La concentración espermática indica de manera directa la funcionalidad de los túbulos seminíferos para el desarrollo espermático, la cual puede ser afectada por razones como una deficiencia hormonal (Momont & Checure, 2015), *N. caninum* es capaz de causar una disminución de testosterona y hormonas tiroideas (Bahrami *et al.*, 2018), lo que explicaría la menor concentración espermática en el presente estudio.

El estudio de los efectos de *N. caninum* sobre sementales es escaso a nivel mundial (Polo *et al.*, 2023), por lo que más estudios en esta área son necesarios. A pesar de los resultados obtenidos en la presente investigación y los disponibles en la literatura, el papel del toro se ha pasado por alto y se debe considerar que los machos (potencialmente asintomáticos) juegan un papel fundamental en la transmisión de patógenos infecciosos que pueden afectar las tasas de fertilidad de los hatos, por lo que, las futuras investigaciones que aborden la relación entre *N. caninum* y problemas de fertilidad en bovinos deben de considerar la prevalencia y los factores de riesgo asociados a la presencia de este parásito en ambos sexos. Este es el primer trabajo, en

el estado de Guerrero, donde se indica la prevalencia de neosporosis en bovinos y se asocia con la calidad seminal de toros positivos a *N. caninum*.

Conclusiones

La prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* encontrada en ganado bovino de los municipios de Cuajinicuilapa y Ometepec, en la región Costa Chica del estado de Guerrero puede considerarse baja, siendo mayor en hembras que en machos. Los machos positivos a *N. caninum* pueden presentar problemas de fertilidad debido a que la concentración espermática se vio disminuida, sin embargo, un mayor número de estudios son requeridos para confirmar la relación observada en el presente estudio.

Contribución de los autores

Conceptualización del trabajo y desarrollo de la metodología (MBBL, GNM), manejo de software y datos, escritura y preparación del manuscrito (MBBL, LASJ), análisis de resultados, redacción, revisión y edición (MBBL, PSS, LASJ).

Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada del mismo.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada con fondos propios.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Referencias

- Ascencio-Díaz, P., Núñez-Martínez, G., Sollano-Mendieta, C., Rojas-García, R., & Bottini-Luzardo, M. (2020). Primer reporte de *Neospora caninum* en el ganado bovino de la Costa Chica de Guerrero, México. *Agroproductividad*, 13, 87-89. <https://doi.org/10.32854/agrop.vf.1641>
- Bahrami, S., Reza, A., Gooraninejad, S., & Bakrayi, O. (2018). Effect of natural neosporosis on levels of testosterone and thyroid hormone bulls. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 69, 984-990. <https://doi.org/10.12681/jhvms.18028>
- Bahrami, S., Mousavi, S. S., Alborzi, A. R., & Ghodrattollah, M. (2019). Sperm quality and hormonal levels in C57BL/6 mice infected with *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*,

- 273(1), 5-10. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.07.010>
- Periódico Oficial del Estado de Guerrero. (2023, 06 de agosto). <https://periodicooficial.guerrero.gob.mx/wp-content/uploads/2023/04/P.O-32-ALCANCE-II-21-ABRIL-2023.pdf>
- Cantón, G., Katzer, F., Maley, S., Bartley, P., Benavides-Silván, J., Palarea-Albaladejo, J., Pang, Y., Smith, S., Rocchi, M., Buxton, D., Innes, E., & Chianini, F. (2014). Inflammatory infiltration into placentas of *Neospora caninum* challenged cattle correlates with clinical outcome of pregnancy. *Veterinary Research*, 45(1), 11. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-45-11>
- García-Vázquez, Z., Rosario-Cruz, R., Ramos-Aragon, A., Cruz-Vázquez, C., & Mapes-Sanchez, G. (2005). *Neospora caninum* seropositivity and association with abortions in dairy cows in Mexico. *Veterinary Parasitology*, 134(1-2), 61-5. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.07.007>
- García-Vázquez, Z., Rosario-Cruz, R., Mejía-Estrada, F., Rodríguez-Vivas, I., Romero-Salas, D., Fernández-Ruvalcaba, M., & Cruz-Vázquez, C. (2009). Seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies in beef cattle in three southern states of Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 41, 749-753. <https://doi.org/10.1007/s11250-008-9247-x>
- Gharekhani, J., Mohammed, R., Heidari, R., Hajipour, N., Trotta, M., & Villanueva-Saz, S. (2023). Assessment of *Neospora caninum* infection in bulls using serological and molecular techniques. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 46, 100940. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2023.100940>
- Gondim, L. F. P., McAllister, M. M., Mateus-Pinilla, N. E., Pitt, W. C., Mech, L. D., & Nelson, M. E. (2004). Transmission of *Neospora caninum* between wild and domestic animals. *Journal of Parasitology*, 90, 1361:1365. <https://doi.org/10.1645/GE-341R>
- Jafari, R., Asadpour, R., Nematollahi, A., & Hosseinninejad, M. (2012). Detection of Non-spermatozoal cells of *Neospora caninum* in fresh semen of naturally infected bulls. *Acta Scientiae Veterinariae*, 40(2), 1-7. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=289023567008>
- Kemel, C., Salamone, M., Van Loo, H., Latour, C., Vandeputte, S., Callens, J., Hostens, M., & Opsomer, G. (2022) Unaffected semen quality parameters in *Neospora caninum* seropositive Belgian Blue bulls. *Theriogenology*, 191, 10-15. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.07.013>
- Koziol, J., & Armstrong, C. (2018) Evaluation of Semen Quality. In: J. Koziol & C. Armstrong (eds), *Manual for Breeding Soundness Examination of Bulls* (pp. 83-104). Society for Theriogenology.
- Marugan-Hernandez, V. (2017). *Neospora caninum* and bovine neosporosis: Current vaccine research. *Journal of Comparative Pathology*, 157,193-200. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2017.08.001>
- Medina, L., Cruz-Vázquez, C., Quezada, T., Morales, E. & García-Vázquez, Z. (2006). Survey of *Neospora caninum* infection by nested PCR in aborted fetuses from dairy farms in Aguascalientes, Mexico. *Veterinary Parasitology*, 136, 187-191. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.11.003>
- Momont, H., & Checura, C. (2015). Ultrasound Evaluation of the Reproductive tract of the Bull. In: R. Hopper (ed), *Bovine Reproduction*, (pp. 79-91). Wiley Blac.
- Mondragón-Zavala, K., Cruz-Vázquez, C., Medina-Esparza, L., Ramos-Parra, M., & García-Vázquez, Z. (2011). *Neospora caninum* infection in beef cattle reared under grazing conditions in north-central Mexico. *Revista MVZ Córdoba*, 16(2), 2484-2490. <https://revistamvz.unicordoba.edu.co/article/view/1007>

- Montiel-Peña, T., Romero-Salas, D., García-Vázquez, Z., Medina-Esparza, L., & Cruz-Vázquez, C. (2011). Neosporosis bovina en ranchos ganaderos de la zona norte del estado de Veracruz, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 13(3), 469-479. <https://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/view/1387>
- Ojeda-Carrasco, J. J., Espinosa-Ayala, E., Hernández-García, P.A. Rojas-Martínez, C., & Álvarez-Martínez, J. A. (2016). Seroprevalencia de enfermedades que afectan la reproducción de bovinos para leche con énfasis en neosporosis. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 3(8), 243-249. <https://doi.org/10.19136/era.a3n8.755>
- Pereyra, W., R., Suarez, V. R., Cardoso, N., Gual, I., Martínez, G. M., Capozzo, A. V., & Mansilla, F. C. (2021). Prevalencia sérica de *Neospora caninum* y factores de riesgo asociados a su transmisión en tambos de la provincia de Salta, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 53(2), 51-60. <https://doi.org/10.1016/j.ram.220.06.01>
- Polo, C., García-Seco, T., Díez-Guerrier, A., Briones, V., Domínguez, L., & Pérez-Sancho, M. (2023). What about the bull? A systematic review about the role of males in bovine infectious infertility within cattle herds. *Veterinary and Animal Science*, 19, 100284. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2023.100284>
- Pulido, M. O., Díaz, A. M., & Andrade, R. J. (2017). Asociación entre variables reproductivas y anticuerpos anti *Neospora caninum* en bovinos lecheros de un municipio de Colombia. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 8(2), 167-174. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v8i2.4439>
- Reichel, M., Ayanegui-Alcérreca, M. A., Gondim, L. F. P., & Ellis, J. T. (2013). What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle - The billion dollar question. *International Journal for Parasitology*, 43, 133-142. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2012.10.022>
- Reichel, M. P., Wahl, M. L., & Ellis, J. T. (2020). Research into *Neospora caninum* - What have we learnt in the last thirty years? *Pathogens*, 9(6), 505. <https://doi.org/10.3390/pathogens9060505>
- Romero-Salas, D., García-Vázquez, Z., Montiel, F., Montiel-Peña, T., Aguilar-Domínguez, M., Medina-Esparza, L., & Cruz-Vázquez, C. (2010). Seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies in cattle in Veracruz, Mexico. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10, 1445-1451. <https://doi.org/10.3923/javaa.2010.1445.1451>
- Salinas M., J. A., Mora, J. de J., Zarate, J. J., Riojas, V. M., Hernández, G., Dávalos, G., Ramírez, R., Galán, L. C., & Ávalos, R. (2005). Frecuencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en ganado bovino del noreste de México. *Veterinaria México*, 36(3), 303-311. <https://www.redalyc.org/pdf/423/42336306.pdf>
- van Velsen, C. M. (2021). Neosporosis in Bulls: potential for venereal transmission, and effect on semen quality and production. *New Zealand Veterinary Journal*, 69(4), 193-200. <https://doi.org/10.1080/00480169.2020.1854883>
- World Health Organization [WHO]. (2010). Examination and processing of human semen. 5th edition. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030787>
- Zárate-Martínez, J. J., Rosete-Fernández, J. V., Socci-Escatell, G. A., Fragoso-Islas, A., Olazarán-Jenkins, S., Granados-Zurita, L., & Ríos-Utrera, A. (2021). Prevalencia de anticuerpos séricos bovinos contra *Neospora caninum* en las zonas Central y Sur del Golfo de México. *Revista MVZ Córdoba*, 26(1), e1996. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1996>