

Estimación de factores de riesgo para *Neospora caninum* (Apicomplexa: *Sarcocystidae*) usando un modelo predictivo supervisado con informaciones publicadas en los últimos cinco años



Estimation of risk factors for *Neospora caninum* (Apicomplexa: *Sarcocystidae*) using a supervised predictive model with information published in the last five years

Pile, Edwin; Chang, Andrés; Chang, Euribiades

 Edwin Pile

edwin.pilem@up.ac.pa

Universidad de Panamá, Panamá

 Andrés Chang

andres.chang@up.ac.pa

Universidad de Panamá, Panamá

 Euribiades Chang

euribiades.chang@up.ac.pa

Universidad de Panamá, Panamá

Guacamaya

Universidad de Panamá, Panamá

ISSN-e: 2616-9711

Periodicidad: Semestral

vol. 6, núm. 2, 2022

solismu@yahoo.com

Recepción: 17 Diciembre 2021

Aprobación: 09 Enero 2022

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/212/2123306002/>

Resumen: Usando un modelo predictivo, se identifican factores de riesgo que podrían estar relacionados con la presencia de *Neospora caninum* (Apicomplexa: *Sarcocystidae*). El trabajo fue realizado a partir de datos no estructurados obtenidos de los resúmenes de las publicaciones en revistas indexadas de los últimos cinco años. El proceso estadístico fue realizado en el ambiente de computación estadística R, usando paquetes para la minería de textos. Los resultados demostraron que la presencia de cánidos, domesticados o silvestres, es imprescindible para la continuación del ciclo de vida de *N. caninum*. La distribución del agente es amplia, pero heterogénea. Su prevalencia depende de la especie a la que pertenece el huésped intermediario. La especie con resultados más detallados a nivel de publicación es la ovina, y para ella se indica que la edad de los animales, el manejo del rebaño (alimentación, fuentes de agua, ausencia de cuarentena, ausencia de estercoleras, presencia de animales de reproducción) y la presencia de animales silvestres son elementos facilitadores de la diseminación del agente, además de la presencia y manejo de los canes. La presencia de ovinos y caprinos en fincas de producción bovina podrían facilitar la diseminación del agente al ganado vacuno.

Palabras clave: *Neospora caninum*, factores de riesgo, modelo predictivo, estimación.

Abstract: Using a predictive model, risk factors that could be related to the presence of *Neospora caninum* (Apicomplexa: *Sarcocystidae*) are identified. The work was carried out from unstructured data obtained from the abstracts of the publications in indexed journals of the last five years. The statistical process was carried out in the statistical computing environment R, using packages for text mining. The results showed that the presence of canids, domesticated or wild, is essential for the continuation of the life cycle of *N. caninum*. The distribution of the agent is wide, but heterogeneous. Its prevalence depends on the species to which the intermediate host belongs. The ovine species is the one with the most detailed results at the publication level, and for this it is indicated that the age of the animals, the herd management (feeding, water sources, absence of quarantine, absence of manure, presence of breeding

animals) and the presence of wild animals are elements that facilitate the spread of the agent, in addition to the presence and handling of dogs. The presence of sheep and goats on cattle farms could facilitate the spread of the agent to cattle.

Keywords: *Neospora caninum*, risk factors, predictive model, estimation.

INTRODUCCIÓN

Neospora caninum es un protozooario que fue identificado como especie en 1988. Antes de eso, esta especie era confundida con *Toxoplasma gondii* debido a su similaridad estructural (J. Dubey, 1999). Su secuencia genómica ha sido determinada por Wellcome Trust Sanger Institute y la Universidad de Liverpool (Reid *et al.*, 2012).

Este parásito es una causa importante de abortamiento espontáneo en el ganado infectado. Su ciclo de vida es heteroxeno con un estadio reproductivo sexuado que ocurre en el intestino del hospedador definitivo, el perro doméstico (*Canis familiaris*). Esta especie era el único hospedador definitivo conocido hasta finales de la década del 90 (McAllister *et al.*, 1998). Nuevas investigaciones han determinado que otros cánidos, como los coyotes (*C. latrans*), lobo gris (*C. lupus*), y los dingos australianos (*C. lupus dingo*) también lo son (J. P. Dubey *et al.*, 2011; Gondim, M M McAllister, W C Pitt, & D E Zemlicka, 2004; King *et al.*, 2010).

A pesar de tener una vida intracelular obligada (Yagoob, Yaghuob, & Mohammad, 2017), amplia distribución geográfica (Nourollahi-Fard, Khalili, Fazli, Sharifi, & Radfar, 2017) y ser responsable por grandes pérdidas económicas en el rebaño bovino (De Melo *et al.*, 2017), poco se conoce sobre la interacción del parásito con el rebaño en algunos países.

Así, usando como base esta información y considerando el trabajo de Franco, Jaén, & González (2015) quienes indicaron la presencia del agente en la provincia de Coclé, Panamá, trazamos como objetivo estimar, a través de modelo predictivo supervisado, los factores de riesgo que podrían estar envueltos en el proceso infeccioso.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fue realizado un levantamiento bibliográfico de las publicaciones registradas sobre Neosporacanium en revistas indizadas de los últimos cinco años. Para el levantamiento fue usado el gestor bibliográfico Mendeley (version 1.19.8). La información sobre la ocurrencia de la enfermedad en el rebaño nacional fue obtenida a partir de revista no indizada. Estos datos (no estructurados) fueron tratados a través de técnicas en minería de texto usando el paquete quanteda (Benoit *et al.*, 2018). La manipulación de datos, análisis en componentes principales y elaboración de gráficas fueron hechas usando los paquetes dplyr (Wickham, François, Henry, & Müller, 2021), ggplot2 (Wickham, 2016) y factoextra (Kassambara & Mundt, 2020; Lê, Josse, & Husson, 2008), respectivamente. La elaboración y validación del modelo fue realizada usando los paquetes topicmodels (Grün & Hornik, 2011) y RandomForest (Liaw & Wiener, 2002). Todo el proceso estadístico fue realizado en el ambiente de computación estadística R (R Core Team, 2021).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de los datos indica que la búsqueda de los factores de riesgos y aquellos asociados con la seroprevalencia del agente ha sido realizada de forma pro-activa en las publicaciones realizadas durante los

cinco últimos años. Por el mismo camino han venido siendo realizadas evaluaciones con la finalidad de registrar otros hospedadores que pueden ser afectados y su relación con la presencia de otros parásitos (Figura 1).

Los atributos que se destacaron en los tópicos identificados se encuentran en la Tabla 2. Solo fueron destacados seis atributos para los primeros seis tópicos relevantes. Entre ellos fueron escogidos los siguientes: “abortion,” “exposure,” “gondii,” “dogs” y “sheep,” como los más relevantes.

Los resultados de la elaboración del modelo, hecho en función de la seroprevalencia, demostraron que la presencia de perros infectados es un factor de riesgo para la ocurrencia de infección por *N. caninum*. El nivel de desigualdad entre los grupos fue definido por la presencia de cánidos, principalmente, seguido por la de ovinos y del *T. gondii*. En términos de factores de riesgo, la precisión de los resultados se da principalmente en ovinos. La presencia de abortos fue el factor que contó con la menor precisión entre los atributos evaluados (precisión $\approx 80\%$, min=73%, max = 84%, sensibilidad = 100% [Tablas 2 y 3]) (Figuras 2 y 3).

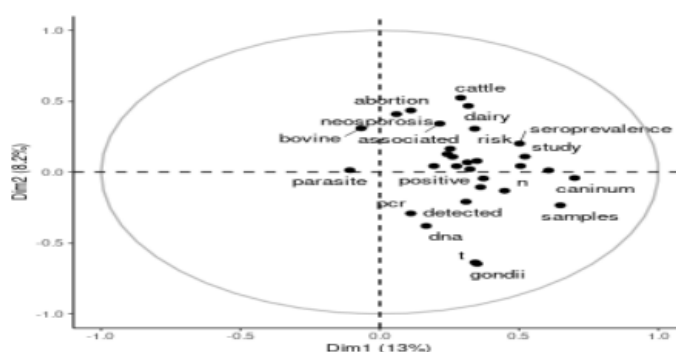


FIGURA 1.

*Representación gráfica de la inter-relación de los 30 atributos de destaque para *N. caninum* entre las publicaciones rescatadas haciendo uso del gestor bibliográfico Mendeley y publicadas en los últimos 5 años.*

TABLA1.

Distribución de atributos de acuerdo a tópicos identificados a partir de las publicaciones realizadas en los últimos cinco años.

Topic 1	Topic 2	Topic 3	Topic 4	Topic 5	Topic 6
caninum	infection	caninum	cattle	gondii	herds
seroprevalence	neospora	samples	abortion	caninum	exposure
risk	using	dogs	dairy	risk	associated
study	animal	positive	neosporeosis	sheep	herd
prevalence	detected	antibodies	cows	associated	infections
farms	parasites	presence	seropositive spp		pathogens

TABLA2.
Parámetros resultados del establecimiento de modelo supervisado (RandomForest, $p<0.05$).

	Índice
Accuracy	0.8
Kappa	0
AccuracyLower	0.74
AccuracyUpper	0.85
AccuracyNull	0.8
AccuracyPValue	0.54
McnemarPValue	0

TABLA3.
Parámetros resultados del establecimiento de modelo supervisado(RandomForest, $p<0.05$) (continuación).

	Indices
Sensitivity	1
Specificity	0
Pos Pred Value	0.8
Neg Pred Value	NaN
Precision	0.8
Recall	1
F1	0.89
Prevalence	0.8
Detection Rate	0.8
Detection Prevalence Balanced Accuracy	1 0.5

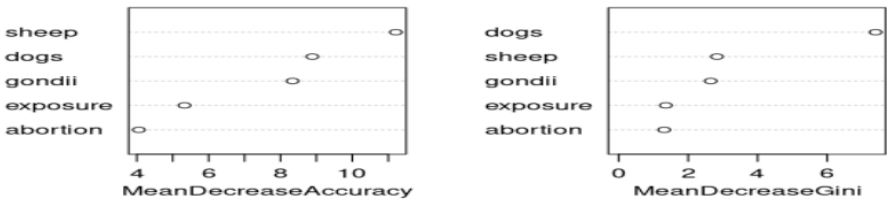


FIGURA2.
Índices de precisión (Accuracy) y desigualdad (Índice de Gini) de los atributos identificados comomejor asociados con los factores de riesgos para la exposición a N. caninum.

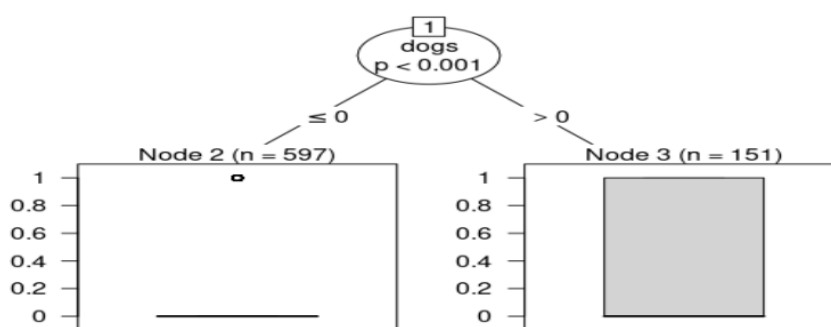


FIGURA 3.

*Representación del atributo que mejor se identifica como factor de riesgo para la exposición a *N. caninum*.*

Prevalencia

Franco, Jaén, & González (2015) registraron una seroprevalencia de 28% para *N. caninum* en corregimientos de la provincia de Coclé, Panamá, relacionando la presencia del agente con la de perros y con la ocurrencia de abortamientos en el ganado bovino. Estos resultados fueron corroborados por los informes de Yıldız, Gökpınar, Sürsal, & Değirmenci (2017) en Turquía, quienes determinaron una seroprevalencia de 23.4% del agente entre bovinos lecheros con problemas de fertilidad. Sin embargo, además de relacionar los casos con historia de abortos (33.3%), Yıldız, Gökpınar, Sürsal, & Değirmenci (2017) mencionaron que por lo menos 7.8% de los animales clínicamente saludables también fueron seroprevalentes.

Diker & Ipek (2020) también comentaron que el problema es una de las mayores causas de abortos en bovinos. La seroprevalencia puede ser verificada en animales clínicamente saludables, en todo el mundo. Según los autores, las seroprevalencias mundiales rondan entre los 6% y 76%.

Yagoob, Yaghuob, & Mohammad (2017), en Irán, detectaron que la presencia del agente en búfalos no fue diferente en términos de sexo y edad de los animales. Y en Chile, Tuemmers *et al.* (2017) mostraron que por lo menos 21.1% del ganado de la región de La Araucanía era seroprevalente a *N. caninum*, sugiriendo que el problema se encontraba diseminado en la zona.

Diferentes evaluaciones vienen siendo realizadas para averiguar la posibilidad de infección en otras especies. Así, se pueden citar los trabajos que demostraron la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en camellos (Feng, Lu, Wang, Zhang, & Yang, 2017; Mohammed, Amor, Omer, & Alagaili, 2020) y mapaches (Kornacka, Cybulska, Popiolek, Kuśmierk, & Moskwa, 2018). Sin embargo, Kornacka, Cybulska, Popiolek, Kuśmierk, & Moskwa (2018), a pesar de registrar la seroprevalencia en mapaches, no detectaron la presencia del parásito.

Factores de riesgo

Oliveira *et al.* (2017) demostraron la relación entre canes y caballos procedentes del área rural y urbana del municipio de Pauliceia, Sao Paulo, Brasil, al momento de la ocurrencia de *N. caninum*. Igual Zhou *et al.* (2016), en Turquía, registraron la seroprevalencia del agente en caballos, pequeños y grandes rumiantes, y perros.

En el nordeste brasileño, Arraes-Santos *et al.* (2016) y Gharekhani *et al.* (2018) detectaron que el problema fue más frecuente en ovinos jóvenes, dependiendo de la región de estudio. El factor región también destacado por Maganga *et al.* (2016) en Gabon. Arraes-Santos *et al.* (2016) destacaron la circulación conjunta de anticuerpos de *T. gondii*, principalmente en ambientes degradados. Sun *et al.* (2020), en China, incluyeron

entre los factores al sexo y a la especie de los animales, al trabajar con cabras y ovejas. Y Luo *et al.* (2016), también trabajando en China, en este caso con cabras, registraron diferencias al considerar los periodos del año.

Wang *et al.* (2018), en China, indicaron que además de la incidencia de la edad en ovinos y la presencia de canes sobre la seroprevalencia, también el sistema de crianza de los animales debería ser considerado al momento de identificar los factores de riesgo. Y Rizzo *et al.* (2017) agregaron también como factores las fuentes naturales de aguas, ausencia de cuarentena, ausencia de estercoleras, presencia de canes, presencia de animales silvestres y presencia de animales de subsistencia o de reproducción como factores riesgo significativos para la presencia de *N. caninum* en ovinos en Brasil.

En Kenia, Okumu, Munene, Wabacha, Tsuma, & Van Leeuwen (2016) evidenciaron que al mantener los perros sueltos podrían aumentar los casos de neosporosis canina. Y Venturoso *et al.* (2021), en Brasil, trabajando con bovinos lecheros, corroboraron esa información y reforzaron que el sistema de manejo de los animales también debería ser considerado al momento de establecer medidas preventivas.

La presencia del agente también ha sido determinante en otras especies. Así, se puede mencionar los registros en camellos, registrándose la circulación conjunta con anticuerpos de *T. gondii* (Mohammed, Amor, Omer, & Alagaili, 2020). Razmi & Barati (2017) también detectaron presencia de anticuerpos contra *T. gondii* y *N. caninum* en la leche de bovinos en Irán, y Ciuca *et al.* (2020) en búfalos en el sur de Italia. Por su parte, Abdoli *et al.* (2018) demostraron la seroprevalencia en *Corvus cornix*, indicando que las aves pueden tener un papel putativo en la transmisión de los agentes.

La relevancia en ciclos silvestres ha sido demostrada trabajando en Portugal, al registrar la presencia de zorros y conejos afectados en las mismas áreas de pastoreo de bovinos (Waap, Nunes, Vaz, & Leita, 2017). Cerqueira-Cézar *et al.* (2016), en USA, demostraron la presencia del agente en cánidos domesticados (*Canis familiaris*) y silvestres (*Canis latrans*, *Canis lupus*), con diversas especies sirviendo como hospedadores intermediarios, incluyendo suínos silvestres. Nazir *et al.* (2017) también mencionaron la presencia del agente entre animales domésticos y silvestres, e identificaron su presencia en camellos, indicando que la presencia de anticuerpos se relacionó con la edad, el sistema de alimentación y la historia de abortos. La presencia de anticuerpos también fue demostrada en ratos silvestres en la India (Dhandapani, Sreekumar, Sangaran, & Porteen, 2017) y en gallinas en Irán (Sayari, Namavari, & Mojaver, 2016).

CONCLUSIÓN

La presencia de cánidos, domesticados o silvestres, es imprescindible para la continuación del ciclo de vida de *N. caninum*. La distribución del agente es amplia, pero heterogénea. Su prevalencia depende de la especie a la que pertenece el huésped intermediario. La especie con resultados más detallados a nivel de publicación es la ovina, y para ella se indica que la edad de los animales, el manejo del rebaño (alimentación, fuentes de agua, ausencia de cuarentena, ausencia de estercoleras, presencia de animales de reproducción) y la presencia de animales silvestres son elementos facilitadores de la diseminación del agente, además de la presencia y manejo de los canes. La presencia de ovinos y caprinos en fincas de producción bovina podrían facilitar la diseminación del agente al ganado vacuno.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdoli, A., Arbabi, M., Pirestani, M., Mirzaghavami, M., Ghaffarifar, F., Dalimi, A., & Sadraei, J. (2018). Molecular assessment of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in hooded crows (*Corvus cornix*) in Tehran, Iran. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 57. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2018.06.008>

- Arraes-Santos, A. I., Araújo, A. C., Guimarães, M. F., Santos, J. R., Pena, H. F. J., Gennari, S. M., ... Horta, M. C. (2016). Seroprevalence of anti-Toxoplasma gondii and anti-Neospora caninum antibodies in domestic mammals from two distinct regions in the semi-arid region of Northeastern Brazil. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 5. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2016.08.007>
- Benoit, K., Watanabe, K., Wang, H., Nulty, P., Obeng, A., Müller, S., & Matsuo, A. (2018). Quanteda: An R package for the quantitative analysis of textual data. *Journal of Open Source Software*, 3(30), 774. <https://doi.org/10.21105/joss.00774>
- Cerqueira-Cézar, C. K., Pedersen, K., Calero-Bernal, R., Kwok, O. C., Villena, I., & Dubey, J. P. (2016). Seroprevalence of *Neospora caninum* in feral swine (*Sus scrofa*) in the United States. *Veterinary Parasitology*, 226. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.06.023>
- Ciucă, L., Borriello, G., Bosco, A., D'Andrea, L., Cringoli, G., Ciaramella, P., ... Guccione, J. (2020). Seroprevalence and clinical outcomes of neospora caninum, toxoplasma gondii and besnoitia besnoiti infections in water buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Animals*, 10(3). <https://doi.org/10.3390/ani10030532>
- De Melo, L. R. B., Feitosa, T. F., Vilela, V. L. R., Athayde, A. C. R., De Azevedo, S. S., & De Jesus Pena, H. F. (2017). Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle and dogs from the Agreste region of the State of Paraíba. *Acta Veterinaria Brasilica*, 11(1). <https://doi.org/10.21708/avb.2017.11.1.6677>
- Dhandapani, K., Sreekumar, C., Sangaran, A., & Porteen, K. (2017). Investigations into the role of rats as intermediate hosts for *Neospora caninum* in Chennai, India. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 7. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2016.12.004>
- Diker, A. I., & Ipek, D. N. S. (2020). A study on serostatus of neosporosis in dairy cattle in the Diyarbakir Province of Turkey. *Indian Journal of Animal Research*, 54(8). <https://doi.org/10.18805/ijar.B-826>
- Dubey, J. (1999). "Neosporosis—the first decade of research". *Int J Parasitol.*, (10), 1485–1488. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(99\)00134-4](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(99)00134-4)
- Dubey, J. P., M C Jenkins, C Rajendran, K Miska, L R Ferreira, Martins, J., ... S Choudhary. (2011). "Gray wolf (*canis lupus*) is a natural definitive host for neospora caninum". *Veterinary Parasitology.*, 181(2 - 4), 382–387. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.018>
- Feng, Y., Lu, Y., Wang, Y., Zhang, L., & Yang, Y. (2017). *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in farm-reared ostriches (*Struthio camelus*) in China. *BMC Veterinary Research*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1221-2>
- Franco, S., Jaén, M., & González, O. (2015). Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a enfermedades reproductivas en vacas lecheras. *Ciencia Agropecuaria*, 23, 142–155.
- Gharekhani, J., Yakhchali, M., Esmailnejad, B., Mardani, K., Majidi, G., Sohrabi, A., ... 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). <https://doi.org/10.22092/ari.2017.109958.1119>
- Gondim, L. F. P., M M McAllister, W C Pitt, & D E Zemlicka. (2004). "Coyotes (*canis latrans*) are definitive hosts of neospora caninum". *International Journal for Parasitology.*, 34(2), 159–161. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2004.01.001>
- Grün, B., & Hornik, K. (2011). topicmodels: An R package for fitting topic models. *Journal of Statistical Software*, 40(13), 1–30. <https://doi.org/10.18637/jss.v040.i13>
- Kassambara, A., & Mundt, F. (2020). Factoextra: Extract and visualize the results of multivariate data analyses. Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/package=factoextra>
- King, J. S., Slapeta, J., Jenkins, D. J., Al-Qassab, S. E., Ellis, J. T., & Windsor, P. A. (2010). "Australian dingoes are definitive hosts of neospora caninum". 40(8), 945–950. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.01.008>
- Kornacka, A., Cybulska, A., Popiolek, M., Kuśmirek, N., & Moskwa, B. (2018). Survey of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in raccoons (*Procyon lotor*) from the Czech Republic, Germany and Poland. *Veterinary Parasitology*, 262. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.09.006>
- Lê, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). FactoMineR: A package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1–18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>

- Liaw, A., & Wiener, M. (2002). Classification and regression by randomForest. *R News*, 2(3), 18–22. Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/doc/Rnews/>
- Luo, H. Q., Li, K., Zhang, H., Wu, B., Wang, J., Shahzad, M., ... Sun, S. W. (2016). Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goats in Hubei Province, China. *Tropical Biomedicine*, 33(2).
- Maganga, G. D., Abessolo, A. L., Mikala Okouyi, C. S., Labouba, I., Mbeang Beyeme, A. M., Mavoungou, J. F., ... Akue, J. P. (2016). Seroprevalence and risk factors of two abortive diseases, toxoplasmosis and neosporosis, in small ruminants of the Mongo County, southern Gabon. *Small Ruminant Research*, 144. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.07.022>
- McAllister, M. M., Dubey, J. P., Lindsay, D. S., Jolley, W. R., Wills, R. A., & McGuire, A. M. (1998). "Dogs are definitive hosts of *neosporea caninum*". *Int J Parasitol.*, 28(9), 1473–1478. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(98\)00138-6](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(98)00138-6)
- Mohammed, O. B., Amor, N., Omer, S. A., & Alagaili, A. N. (2020). Seroprevalence of *toxoplasma gondii* and *neosporea caninum* in dromedary camels (*Camelus dromedarius*) from Saudi Arabia. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 29(1). <https://doi.org/10.1590/s1984-296120200008>
- Nazir, M. M., Oneeb, M., Ayaz, M. M., Bibi, F., Ahmad, A. N., Waheed, A., ... Lindsay, D. S. (2017). Prevalence of antibodies to *Neosporea caninum* in the serum of camels (*Camelus dromedarius*) from central Punjab, Pakistan. *Tropical Animal Health and Production*, 49(5). <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1300-1>
- Nourollahi-Fard, S. R., Khalili, M., Fazli, O., Sharifi, H., & Radfar, M. H. (2017). Seroprevalence of *neosporea caninum* in cattle of Neishabour, northeast Iran. *Slovenian Veterinary Research*, 54(1).
- Okumu, T. A., Munene, J. N., Wabacha, J., Tsuma, V., & Van Leeuwen, J. (2016). Seroepidemiological survey of *Neosporea caninum* and its risk factors in farm dogs in Nakuru district, Kenya. *Veterinary World*, 9(10). <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.1162-1166>
- Oliveira, S., Silva, N. Q. B., Silveira, I., Labruna, M. B., Gennari, S. M., & Pena, H. F. J. (2017). Ocorrências de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, *Neosporea* spp. E *Sarcocystis neurona* em equinos e cães do município de Pauliceia, São Paulo, Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 54(3). <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2017.123956>
- R Core Team. (2021). *R: A language and environment for statistical computing*. Retrieved from <https://www.R-project.org/>
- Razmi, G., & Barati, M. (2017). Prevalence of *neosporea caninum* and *toxoplasma gondii* antibodies in bulk milk of dairy cattle, Mashhad, Iran. *Archives of Razi Institute*, 72(4). <https://doi.org/10.22092/ari.2017.113304>
- Reid, A. J., Vermont, S. J., Cotton, J. A., Harris, D., Hill-Cawthorne, G. A., Konen- Waisman, S., ... Wastling, J. M. (2012). "Comparative genomics of the apicomplexan parasites *toxoplasma gondii* and *neosporea caninum*: *Coccidia* differing in host range and transmission strategy". *PLOS Pathogens.*, 8(3). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002567>
- Rizzo, H., Jesus, T. K. S. de, Gaeta, N. C., Carvalho, J. S., Pinheiro Júnior, J. W., Gregory, L., ... Villalobos, E. M. C. (2017). Pesquisa de anticorpos IgG para *Neosporea caninum* e avaliação dos fatores de risco em ovinos do Estado de Sergipe. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 37(8). <https://doi.org/10.1590/s0100-736x2017000800006>
- Sayari, M., Namavari, M., & Mojaver, S. (2016). Seroprevalence of *Neosporea caninum* infection in free ranging chickens (*Gallus domesticus*). *Journal of Parasitic Diseases*, 40(3). <https://doi.org/10.1007/s12639-014-0590-8>
- Sun, L. X., Liang, Q. L., Nie, L. B., Hu, X. H., Li, Z., Yang, J. F., ... Zhu, X. Q. (2020). Serological evidence of *Toxoplasma gondii* and *Neosporea caninum* infection in black- boned sheep and goats in southwest China. *Parasitology International*, 75. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.102041>
- Tuermers, C., Valenzuela, G., Nuñez, C., De La Cruz, R., Meyer, J., Andaur, M., ... Mora, C. (2017). Seroprevalence of *neosporea caninum* in cattle in a livestock fair in the araucania region, Chile. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 28(3). <https://doi.org/10.15381/rirep.v28i3.12680>
- Venturoso, P. de J. S., Venturoso, O. J., Silva, G. G., Maia, M. O., Witter, R., Aguiar, D. M., ... Dos Santos-Doni, T. R. (2021). Risk factor analysis associated with *neosporea caninum* in dairy cattle in western brazilian amazon. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 30(1). <https://doi.org/10.1590/s1984-296120201088>

- Waap, H., Nunes, T., Vaz, Y., & Leitao, A., O. (2017). Serological study of *Neospora caninum* in dogs and wildlife in a nature conservation area in southern Portugal. *Parasitology Open*, 3. <https://doi.org/10.1017/pao.2017.8>
- 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. <https://doi.org/10.1051/parasite/2018019>
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. Retrieved from <https://ggplot2.tidyverse.org>
- Wickham, H., François, R., Henry, L., & Müller, K. (2021). *Dplyr: A grammar of data manipulation*. Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/package=dplyr>
- Yagoob, G., Yaghuob, F., & Mohammad, H. A. (2017). Assessment of *Neospora caninum* seroprevalence in buffalo in Tabriz city, north-west of Iran. *Buffalo Bulletin*, 36(2).
- Yıldız, K., Gökpinar, S., Sürsal, N., & Değirmenci, R. (2017). Seroprevalence of *Neospora caninum* in Dairy Cattle Raised in Çiçekdağı District of Kırşehir Province. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 41(3). <https://doi.org/10.5152/tpd.2017.5218>
- Zhou, M., Cao, S., Sevinc, F., Sevinc, M., Ceylan, O., Liu, M., ... Xuan, X. (2016). Enzyme-linked immunosorbent assays using recombinant TgSAG2 and NcSAG1 to detect *Toxoplasma gondii* and *neosporea caninum*-specific antibodies in domestic animals in Turkey. *Journal of Veterinary Medical Science*, 78(12). <https://doi.org/10.1292/jvms.16-0234>