

بررسی سرولوژیکی *Neospora caninum* در گاوهای شیری هلشتاین منطقه خرم آباد

• غلامعلی سبزواری نژاد

دانشجوی دکترای تخصصی، گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

• عبدالحسین دلیمی اصل (نویسنده مسئول)

استاد، گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

• فاطمه غفاری فر

دانشیار، گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

• مهدی فروزنده مقدم

دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: دی ماه ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ماه ۱۳۹۲

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۳۰۴۷۹۳۱

Email: dalimi_a@modares.ac.ir

چکیده

N. caninum انگل تک یاخته ای درون سلولی است که در سراسر جهان باعث سقط جنین در گاو می گردد. این انگل حیواناتی مانند گاو، گوسفند و سگ را مبتلا می سازد. و یکی از مهمترین عوامل سقط جنین گاو محسوب می شود. شیوع این انگل بر حسب گله، منطقه، کشور و نوع تست مورد استفاده متفاوت گزارش شده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی میزان شیوع پادتن ضد *N. caninum* در سرم گاوهای شیری نژاد هلشتاین خرم آباد می باشد. در این مطالعه از ۱۸۱ راس گاو شیری خون گیری انجام و پس از جداسازی سرم، آلودگی به وسیله کیت تشخیصی ELISA اختصاصی *N. caninum* مورد شناسایی قرار گرفت. طبق نتایج حاصله، تیتراپادتن ضد *N. caninum* در ۵۰ راس گاو (۲۷/۶۲ درصد) مثبت بوده است. با استفاده از آزمون مجذور کای هیچ گونه رابطه معنی داری بین میزان شیوع پادتن ضد *N. caninum* با سن گاوها مشاهده نشد. بعلاوه میزان آلودگی در گاوهای دارای سابقه سقط جنین حدود دو برابر گاوهای فاقد سابقه سقط جنین بوده است. با توجه به حضور سگ در همه گاوداری های مورد مطالعه، احتمال آلودگی گاوها به *N. caninum* از طریق سگ های نگهبان وجود دارد.

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 101 pp: 48-54

Serological survey of *Neospora caninum* infection in Holstein dairy cattle from Khoramabad region

By: Sabevarinejad, Gh. Department of Medical Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. Dalimi, A. (Corresponding Author; Tel: +989123047931), Department of Medical Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University. Ghafarifar F. Department of Medical Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University. Forouzandeh-Moghadam, M. Department of Medical Biotechnology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Received: January 2013

Accepted: May 2013

Neospora caninum is an intracellular parasite which causes abortion in cattle worldwide. This organism infects a range of host species, including cattle, sheep and dogs. It is most important and a major cause of bovine abortion. Seroprevalence of infection in cattle appears to differ between herds, countries and regions, depending on the type of serologic test used. The aim of the present study was to determine the seroprevalence of *N. caninum* in cattle in Khoramabad region, west of Iran. Blood samples were collected from 181 cattle for determining the seroprevalence of *N. caninum*. A total of 181 serum samples were tested for anti-*Neospora* antibodies using a commercial *N. caninum* ELISA kit. Antibody against *N. caninum* was detected in 50 of 181 total cattle (27.62%). No significant difference was observed among *N. caninum* infection of different age groups of cattle. Furthermore, the infection rate in cows with a history of abortion was about twice the cows without history ($P < 0.01$). Regarding the prevalence of infection and the presence of dogs in the whole dairy farms, the probability of transmission of *Neospora* infection from the guard dogs to cattle is estimated to be high.

Key words: *Neospora caninum*, Cattle, Khoramabad area, Iran

مقدمه

شوند [Campero و همکاران، ۱۹۹۸؛ Dubey و همکاران، ۲۰۰۷؛ Innes و همکاران، ۲۰۰۵]. سقط های ناشی از *N. caninum* در هر زمان از آبستنی رخ می دهد ولی بیشتر موارد سقط، در ماه های ۵ تا ۶ آبستنی است. [Dubey، ۱۹۹۹؛ Wouda، ۲۰۰۳؛ Dubey و همکاران (۱۹۹۷)]. تنها نشانه بالینی مشخص نئوسپوروزیس در بالغین، سقط جنین در گاوهای آبستنی می باشد و علائم بالینی فقط در گوساله های کمتر از دو ماه گزارش شده است [Lindsay و Dubey، ۱۹۹۶؛ Dubey و همکاران، ۲۰۰۶؛ Gondim و همکاران، ۲۰۰۲؛ Jensen و همکاران، ۱۹۹۹]. با توجه به عدم تشخیص نئوسپوروزیس از نظر بالینی در گاوهای آلوده، بهترین روش تشخیص و شناسایی بیماری، تکیه بر روش های سرولوژیکی می باشد [Schaes، ۲۰۰۶؛ Dubey و Dubey، ۱۹۹۹؛ Anderson و همکاران، ۲۰۰۰]. معمولاً تشخیص بیماری در گاوهای زنده به وسیله روش های سرولوژیکی IFAT (Immunofluorescence Assay Test NAT (Neospora Agglutination Test, ELISA (Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

N. caninum تک یاخته ای از شاخه اپی کمپلکسا و عامل سقط جنین در گاو به خصوص گاوهای شیری می باشد و اهمیت جهانی آن ناشی از انتشار وسیع آن در جهان و خسارات اقتصادی فراوان آن در صنعت گاوداری می باشد. این تک یاخته قادر است طیف وسیعی از گونه های مختلف حیوانات را آلوده کند که شامل سگ، گاو، گوسفند، بز، اسب و گوزن می شود [Dubey و Lindsay، ۱۹۹۶؛ Dubey و همکاران، ۲۰۰۶؛ Schares و Dubey، ۲۰۰۶]. سگ میزبان اصلی این تک یاخته است و مراحل جنسی انگل در بدن این حیوان رخ می دهد. سگ اووسیت انگل را از طریق مدفوع خود دفع می کند و موجب آلودگی محیط می گردد. سایر حیوانات میزبان واسط انگل هستند که مراحل غیر جنسی انگل در بافت های مختلف آن ها رشد و توسعه می یابند. آلودگی در گاو ها ممکن است با خوردن اووسیت یا انتقال از طریق جفت گاو آلوده به جنین صورت گیرد [McAllister و همکاران، ۱۹۹۸؛ Dubey، ۱۹۹۹؛ Lindsay و Dubey، ۱۹۹۶]. گاوهای آلوده به انگل ۳ تا ۷ بار ممکن است دچار سقط جنین

OD کلیه نمونه ها در دستگاه الیزا در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شدند و S/P بزرگتر یا مساوی با ۵۰ درصد به عنوان نمونه مثبت تلقی خواهد شد. نتایج بدست آمده در سه گروه سنی با روش مربع کای با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

پادتن ضد *N. caninum* در ۵۰ راس (۲۷/۶۲ درصد) گاو از ۱۸۱ راس گاو شیری تحت مطالعه شناسایی شد (جدول ۱). با استفاده از آزمون مجذور کای هیچ گونه رابطه معناداری بین میزان شیوع با سن گاوها مشاهده نشد ($P\text{-value}=0/4127$).

میزان آلودگی گاوهای دارای سابقه سقط جنین ۴۶/۴۳ درصد و گاوهای فاقد سابقه سقط جنین ۲۴/۱۸ درصد بوده است (جدول شماره ۲). اختلاف این دو گروه از لحاظ آماری معنی دار بوده است ($P<0/01$).

بحث

میزان آلودگی گاوها به نئوسپورا بر حسب عواملی مانند منطقه جغرافیایی، نوع تست و کات آف (Cut-off) مورد استفاده، متفاوت گزارش شده است. در برخی از گله ها میزان آلودگی تا ۸۷ درصد گزارش شده است (Dubey, 2003). علاوه بر گاو علائم بالینی این بیماری در گوسفند، بز، گوزن و اسب و پادتن ضد *N. caninum* در سرم گاو میش، روباه قرمز و خاکستری، کایوت، شتر و گربه سانان گزارش شده است (Dubey, 2003). خسارات اقتصادی سالانه نئوسپوروز در استرالیا در گاوهای گوشتی و شیری به ترتیب ۸۵ و ۲۵ میلیون دلار برآورد شده است در نیوزلند زیان اقتصادی ناشی از نئوسپوروزیس، سالانه حدود ۱۷/۸ میلیون دلار تخمین زده می شود و طبق تخمین Dubey زیان اقتصادی سالانه ناشی از *N. caninum* در ایالت کالیفرنیا ۳۵ میلیون دلار می باشد (Dubey, 2005). بر اساس گفته Dubey میزان تولید روزانه شیر در گاوهای سرم مثبت ۲/۵ لیتر کمتر از گاوهای دارای سرم منفی می باشد (Dubey, 2005).

N. caninum عامل سقط جنین در گاوها است. در آرژانتین ۱۲/۱ درصد، در استرالیا ۲۱ درصد، در برزیل ۳۹/۱ درصد، در آلمان ۱۲/۶، در مکزیک ۷۷ درصد، در سوئیس ۲۱ درصد، در هلند ۱۷ درصد و در ایالات متحده آمریکا ۴۲/۵ درصد گاوهای دارای سابقه سقط جنین از لحاظ ابتلا به نئوسپورا مثبت گزارش شده اند [Anderson و همکاران ۱۹۹۵؛ Boulton و همکاران ۱۹۹۵؛ Moore و همکاران ۲۰۰۲؛ Morales و همکاران ۲۰۰۱؛ Sager و همکاران ۲۰۰۱؛ Söndgen و همکاران ۲۰۰۱؛ Wouda و همکاران ۱۹۹۷]. در ایران مطالعات محدودی در نواحی مختلف کشور صورت گرفته است که اکثرا در مورد شیوع آلودگی در گله گاوهاست. میزان شیوع پادتن ضد *N. caninum* در گله گاوهای ایران از ۱۰/۵ درصد تا ۵۳/۷۱ درصد گزارش شده است. در مطالعه Sadre bazzaz و همکاران (۲۰۰۴) شیوع پادتن *N. caninum* در گاوهای هلشتاین ۱۶/۳۹ درصد در مطالعه Razmi و همکاران (۲۰۰۶) این میزان در

و وسترن بلات (Western blotting) انجام می گیرد که از این میان، روش ELISA به علت حساسیت و ویژگی بالای آن ارجحیت دارد [Bartels و همکاران ۲۰۰۶؛ Davison و همکاران ۱۹۹۹؛ Lindsay و Dubey (۱۹۹۶)]. در مطالعات سرواپیدمیولوژیکی و تعیین شیوع عفونت نئوسپوروزیس و ارتباط آن با سقط جنین از آن ها استفاده می شود [Dubey و Schares ۲۰۰۷ و ۲۰۰۶؛ Hernandez و همکاران ۲۰۰۲؛ Paré و همکاران ۱۹۹۷؛ Thurmond و همکاران ۱۹۹۷].

از زمان تشخیص نئوسپوروزیس در سال ۱۹۸۰ تاکنون مطالعات سرولوژیکی زیادی در کشورها و نواحی مختلف جهان صورت گرفته است. شیوع پادتن ضد *N. caninum* در گاوهای شیری اروپا، بین ۰/۵ درصد (سوئد) و ۳۶/۸ درصد (اسپانیا) می باشد که این میزان در ایالات متحده آمریکا از ۱۴/۱ درصد تا ۴۰/۴ درصد متغیر بوده است و در آسیا از ۵ درصد تا ۴۶/۲۹ درصد بوده است و همچنین در اقیانوسیه از ۶ درصد تا ۲۱/۱ درصد می باشد در برزیل از ۱۱ درصد تا ۴۶ درصد شیوع داشته است [Dubey و Lindsay ۱۹۹۶؛ Dubey و Schares (۲۰۰۶)].

در مورد این بیماری گرچه مطالعات سرولوژیکی محدودی در نواحی مختلف ایران انجام گرفته است [Hajikolaie و همکاران ۲۰۰۸؛ Nourollahi Fard و همکاران ۲۰۰۸؛ Razmi و همکاران ۲۰۰۶؛ Sadrebazzaz و همکاران ۲۰۰۴؛ Sadrebazzaz و همکاران ۲۰۰۷؛ Salehi و همکاران ۲۰۱۰؛ Sattari و همکاران ۲۰۱۱؛ Youssefi و همکاران ۲۰۱۰]. ولی در استان لرستان هیچ سابقه ای از انجام مطالعه در این زمینه وجود ندارد با توجه به اینکه میزان شیوع بیماری در نواحی مختلف جغرافیایی متفاوت است لذا این مطالعه با هدف بررسی سرولوژیکی *N. caninum* در گاوهای شیری نژاد هلشتاین در خرم آباد لرستان صورت گرفت.

مواد و روش کار

جمع آوری نمونه

در سال ۱۳۹۰، ابتدا تعداد ۱۲ گاوداری نیمه صنعتی شهرستان خرم آباد لرستان بصورت تصادفی انتخاب و با مراجعه به گاوداری های انتخاب شده، تعداد ۱۸۱ نمونه خون از سنین مختلف گاوهای شیری نژاد هلشتاین جمع آوری گردید. حدود ۵ تا ۸ میلی لیتر خون از هر گاو به وسیله سرنگ و نوجکت جمع آوری شد و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شدند. سپس در $G1200$ به مدت ده دقیقه سانتریفیوژ گردیدند سرم آن ها جداسازی و در میکروتیوب های دو میلی لیتری ریخته شد.

آزمایش سرولوژی

برای شناسایی پادتن ضد نئوسپورا کانینوم در سرم ها از کیت (Neospora caninum Indirect Multi-Species ELISA ID Screen^R شرکت ID. Vet فرانسه) بر اساس دستورالعمل کیت استفاده شد.

جدول ۱- فراوانی نسبی و مطلق آلودگی گاوهای مورد مطالعه به نئوسپورا کانینوم بر حسب سن

سن (سال)	نتیجه تست الایزا					
	مثبت		منفی		جمع	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
کمتر از ۳	۱۶	۲۳/۵۳	۵۲	۷۶/۴۷	۶۸	۱۰۰
۳ الی ۴	۲۴	۲۷/۹	۶۲	۷۲/۱	۸۶	۱۰۰
بیش از ۴	۱۰	۳۷/۰۴	۱۷	۶۲/۹۶	۲۷	۱۰۰
جمع	۵۰	۲۷/۶۲	۱۳۱	۷۲/۳۷	۱۸۱	۱۰۰

$$X^2=1/77 \quad P\text{-value}=0/4127$$

جدول ۲- فراوانی نسبی و مطلق آلودگی گاوهای مورد مطالعه به نئوسپورا کانینوم بر حسب سابقه سقط جنین

سن (سال)	نتیجه تست الایزا					
	مثبت		منفی		جمع	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
دارد	۱۳	۴۶/۴۳	۱۵	۵۳/۵۷	۲۸	۱۰۰
ندارد	۳۷	۲۴/۱۸	۱۱۶	۷۵/۸۱	۱۵۳	۱۰۰
جمع	۵۰	۲۷/۶۲	۱۳۱	۷۲/۳۷	۱۸۱	۱۰۰

$$X^2=5/858 \quad P\text{-value}=0/1550$$

تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر بخشی از پایان نامه تخصصی انگل شناسی بوده و کلیه هزینه های آن توسط دانشگاه تربیت مدرس تامین شده است. نویسندگان مقاله از معاونت محترم پژوهشی دانشکده و دانشگاه نهایت تشکر را دارند. همچنین از آقای دکتر صدراپی و دکتر پیرستانی و کارشناسان گروه انگل شناسی دانشکده تشکر و قدردانی می شود.

منابع مورد استفاده

- 1- Anderson, M.L., Palmer, C.W., Thurmond, M.C., Picanso, J.P., Blanchard, P.C., Breitmeyer, R.E., Layton, A.W., McCallister, M., Draft, B., Kindle, H., Read, D.H., Dubey, J.P., Conrad, P.A., Barr, B.C., (1995) Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 207: 1206-1210.
- 2- Bartels, C.J.M., Arnaiz-Seco, J.I., Ruiz-Santa-Quitera, A., Bjorkman, C., Frossling, J., von Blumroder, D., Conraths, F.J.; Schares, G., vanMaanen, C., Wouda, W. and Ortega-Mora, L.M. (2006) Supranational comparison of Seroprevalence in cattle in Germany, The Netherlands, Spain and Sweden. *Veterinary Parasitology* 137: 17-27.
- 3- Boulton JG, Gill PA, Cook RW, Fraser GC, Harper PAW, Dubey JP (1995) Bovine Neospora abortion in north-eastern New South Wales. *Australian Veterinary Journal* 72: 119-120.
- 4- Campero, C. M., Anderson, M. L., Conosciuto, G., Odriozola, H., Bretschneider, G., Poso, M. A. (1998) *Neospora caninum* associated abortion in a dairy herd in Argentina. *Veterinary Record* 143:228-229.
- 5- Davison, H.C., French, N. P., Trees, A. J. (1999) Herd-specific and age-specific seroprevalence of *Neospora caninum* in 14 British dairy herds. *Veterinary Record* 144: 547-550.
- 6- Dubey, J.P., Lindsay D.S. (1996) A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Veterinary Parasitology* 67(1-2): 1-59.
- 7- Dubey, J. P. (1999) Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Veterinary Parasitology* 84: 349-367.
- 8- Dubey, J. P. (2003) Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean Journal of Parasitology* 41(1): 1-16.
- 9- Dubey, J. P. (2005) Neosporosis in cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 21: 473-483.

گاوهای شیری با سابقه سقط ۵۳/۷۹ درصد و بدون سابقه سقط ۳۹/۶۶ درصد، در مطالعه Haji kolaei و همکاران (۲۰۰۸) میزان شیوع در گاوهای هلشتاین ۵۳/۷۱ درصد گزارش شده است. سایر مطالعاتی که در ایران در زمینه تشخیص نئوسپوروزیس در گاو انجام گرفته است در مطالعه یوسفی و همکاران (۲۰۰۹) ۷ درصد گاوهای منطقه اردبیل، ۴۵/۲ درصد گاوهای منطقه گرمسار و ۵۷/۳ درصد گاوهای منطقه بابل، در مطالعه Nourollahi و همکاران (۲۰۰۸)، ۱۲/۶ درصد گاوهای کرمان، در مطالعه Sattari و همکاران (۲۰۱۱) ۳۱/۳۷ درصد و [Hajikolaei و همکاران (۲۰۰۸)، Nourollahi Fard و همکاران (۲۰۰۸) Razmi، و همکاران (۲۰۰۶)، Sadrebazzaz و همکاران (۲۰۰۴)، Sadrebazzaz و همکاران (۲۰۰۷)، Salehi و همکاران (۲۰۱۰)، Sattari و همکاران (۲۰۱۱) و Youssefi و همکاران (۲۰۱۰)]. در مطالعه صالحی و همکاران (۲۰۱۱) در تهران، ۳۸/۸ درصد گاوهای مورد مطالعه از لحاظ پادتن ضد نئوسپورا مثبت بوده اند. در مطالعه صالحی و همکاران (۲۰۱۱) میزان ابتلا گاوهای دارای سابقه سقط جنین به نئوسپورا حدود دو برابر (۲۰/۶۷ در مقابل ۱۰/۱۱ درصد) گاوهای بدون سابقه سقط بوده است (Salehi و همکاران (۲۰۱۰)).

در مطالعه حاضر، در سرم ۲۷/۶۲ درصد گاوهای شیری گله های مورد مطالعه، پادتن *N. caninum* مثبت بوده است. این میزان نسبت به نتایج سایر مطالعات انجام شده در کشور در حد متوسط می باشد. از طرفی وقوع سقط جنین در این گاو داری ها با میزان آلودگی به نئوسپورا رابطه معنی داری دارد. بدین ترتیب که میزان آلودگی در گاوهای دارای سابقه سقط جنین حدود دو برابر گاوهای فاقد سابقه سقط جنین بوده است.

مضافاً بر این، با توجه به حضور سگ در همه گاو داری های مورد مطالعه، احتمال انتقال آلودگی *N. caninum* از طریق سگ های نگهدارنده گاو داری ها وجود دارد. آلودگی سگ های ولگرد و نگهدارنده گله و همچنین گوشتخواران وحشی از قبیل کایوت، روباه به نئوسپورا در نقاط مختلف جهان گزارش شده است [Gondim و همکاران (۲۰۰۴)، King و همکاران (۲۰۱۰)، McGarry و همکاران (۲۰۰۳)، Palavicini و همکاران (۲۰۰۷)، Sager و همکاران (۲۰۰۶)]. در انتقال و جابجایی اوسیست این انگل حیوانات مختلف می توانند نقش داشته باشند. از جمله این حیوانات می توان به گنجشگ اشاره داشت. تردد این پرنده در همه جا و تغذیه آن از روی خاک باعث انتقال فیزیکی و بیولوژیکی اوسیست های انگل می شود. آلودگی گنجشگ به این انگل توسط Gondim و همکاران (۲۰۱۰) در برزیل گزارش شده است.

در خاتمه ذکر این نکته لازم است که با توجه به محدود بودن این گونه مطالعات در کشور، ضروری است مطالعات جامع و کامل تری در زمینه تشخیص این بیماری در گاو و سایر میزبانان انگل صورت گیرد.

- 10 -Dubey, J. P., Buxton, D., Wouda, W. (2006) Pathogenesis of bovine neosporosis. *Journal of Comparative Pathology* 134: 267-289.
- 11- Dubey, J. P., Schares G. (2006) Diagnosis of bovine neosporosis. *Veterinary Parasitology* 140 (1-2): 1-34.
- 12- Dubey, J. P., Schares G., Ortegamura, M. (2007) Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews* 20(2): 323-67.
- 13- Gondim, L. F. P., Gao, L., McAllister, M. M. (2002) Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. *Journal of Parasitology* 88(6): 1159-1163.
- 14- Gondim LF, McAllister MM, Pitt WC, Zemlicka DE. (2004) Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal of Parasitology* 34(2):159-61.
- 15 -Gondim LSQ, Abe-Sandes K, Uzêda RS, Silva MSA, Santos SL, Mota RA, et al. (2010) *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in sparrows (*Passer domesticus*) in the Northeast of Brazil. *Veterinary Parasitology*, 168(1-2):121-4.
- 16- Hajikolaei, M. R., Hamidinejat, H., Ghorbanpoor, M., Goraninejad, S. (2008) Serological study of *Neospora caninum* infection in cattle from Ahvaz area, Iran. *International Journal of Veterinary Research* 2, 1:63-66.
- 17- Hernandez, J., Risco, C., Donovan, A. (2002) Risk of abortion associated with during different lactations and evidence of congenital transmission in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 221: 1742-1746.
- 18- Innes, E. A., Wright, S., Bartly, P., Maley, S., Macaldowie, C., Esteban, R.I. and Buxton, D. (2005) The host-parasite relationship in bovine neosporosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 108: 29-36.
- 19- Jensen, AM., Bjorkman, C., Kjeldsen, AM., Wedderkopp, A., Willadsen, C., Ugglå, A., Lind P. (1999) Association of *Neospora caninum* Seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine* 40: 151-163.
- 20- King JS, Šlapeta J, Jenkins DJ, Al-Qassab SE, Ellis JT, Windsor PA. (2010) Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal of Parasitology*, 40(8):945-50.
- 21- McAllister, M. M., Dubey, J. P., Lindsay, D. S., Jolly, W. R., Wills, R. A., McGuire, A. M. (1998) Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal of Parasitology*, 28(9): 1473-8.
- 22 - McGarry JW, Stockton CM, Williams DJ, Trees AJ. (2003) Protracted shedding of oocysts of *Neospora caninum* by a naturally infected foxhound. *Journal of Parasitology*, 89(3):628-30.
- 23- Moore DP, Campero CM, Odeon AC, Chayer R, Bianco MA (2002) Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. *Veterinary Parasitology*, 107: 303-316.
- 24- Morales E, Trigo FJ, Ibarra F, Puente E, Santacruz M (2001) Neosporosis in Mexican dairy herds: Lesions and immunohistochemical detection of *Neospora caninum* in fetuses. *Journal of Comparative Pathology*, 125: 58-63.
- 25- Nourollahi Fard, S. R., Khalili, M., Aminzadeh, A. (2008) Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in cattle in Kerman province, South East Iran. *Veterinary Archives*, 78 (3): 253-259.
- 26- Palavicini P, Romero JJ, Dolz G, Jimenez AE, Hill DE, Dubey JP. (2007) Fecal and serological survey of *Neospora caninum* in farm dogs in Costa Rica. *Veterinary Parasitology*, 149(3-4):265-70.
- 27- Paré, J., Thurmond, M.C., Hietala, S.K. (1997) *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *Journal of Parasitology*, 83: 82-87.
- 28- Razmi, G. R., Mohammadi, G. R., Garrosi, T., Farzaneh, N., Fallah A.H., Maleki, M. (2006) Seroepidemiology of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Mashhad area, Iran. *Veterinary Parasitology*, 135(2): 187-189.
- 29- Sadrebazzaz, A., Haddadzadeh, H., Esmailnia . K., Habibi, G., Vojgani, M. Hashemifesharaki, R. (2004) Serological prevalence of *Neospora caninum* in healthy and aborted dairy cattle in Mashhad, Iran. *Veterinary Parasitology*, 124(3-4): 201-204.
- 30- Sadrebazzaz, A., Habibi, G., Haddadzadeh, H. (2007) Evaluation of bovine abortion associated with *Neospora caninum* by different diagnostic techniques in Mashhad, Iran. *Parasitology Res*, 100(6): 1257-1260.
- 31- Sager H, Fischer I, Furrer K, Strasser M, Waldvogel A, Boerlin P, Audigé L, Gottstein B. A (2001) A Swiss case-control study to assess *Neospora caninum*-associated bovine abortions by PCR, histopathology and serology. *Veterinary Parasitology*, 102: 1-15.

- 32- Sager H, Moret CS, Muller N, Staubli D, Esposito M, Schares G, et al. (2006) Incidence of *Neospora caninum* and other intestinal protozoan parasites in populations of Swiss dogs. *Veterinary Parasitology*, 139(1-3):84-92.
- 33 -Salehi, N., Haddadzadeh, H.R., Shayan, P., Vodjgani, M., Bolourchi M. (2010) Serological study of *Neospora caninum* in pregnant dairy cattle in Tehran, Iran. *Int J of Veterinary Res*, 4: 2 113-116.
- 34 - Sanderson, M.W., Gay J.M., Baszler T.V. (2000) *Neospora caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in northwestern United States. *Veterinary Parasitology*, 90:15-24.
- 35- Sattari, A., Moshiri, F., Musavi, S. Gh. (2011) The Seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies in dairy cattle herds in Golestan province, Iran. *J Veterinary Microbiol*, 7: 60-64.
- 36 - Söndgen P, Peters M, Bärwald A, et al. (2001) Bovine neosporosis: immunoblot improves foetal serology. *Veterinary Parasitology*, 102: 279-290.
- 37 -Thurmond, M.C., Hietala, S.K. (1997) Effect of congenitally acquired infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. *Am J Veterinary Res*, 58: 1381-1385.9
- 38 -Von Blumroder, D., Schares, G., Norton, R., Williams, D. J., Esteban-Redondo, I., Wright, S., Bjorkman, C., Frossling, J., Risco-Castillo, V., Fernandez-Garcia, A., Ortega-Mora, L.M., Sager, H., Hemphill, A., van Maanen, C., Wouda, W., Conraths, F.J. (2004). Comparison and standardization of serological methods for the diagnosis of infection in bovines. *Veterinary Parasitology*, 120: 11-22.
- 39- Wouda, W., Moen, A. R., Visser, I. J. R., Knapen, F. (1997) Bovine fetal neosporosis: a comparison of epizootic and sporadic abortion cases and different age classes with regard to lesion severity and immunohistochemical identification of organisms in brain, heart and liver. *J Veterinary Diagn Invest*, 9: 180-185.
- 40 -Youssefi, M. Ebrahimpour R, S., Esfandiari, B., (2010) Survey of *Neospora Caninum* Antibody in Aborting Cattle from Three Climate Regions of Iran. *World Applied Sciences Journal*, 10(12): 1448-1451.

