Veterinary Clinical Pathology, Vol.17, No. 65, Spring 2023

"Review article" **DOI: 10.30495/JVCP.2023.1987470.1417**

A review of the occurance of bovine neosporosis in Iran

Nematollahi, A.[1*], Foroozanfar, N.[2]

1- Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
2- D.V.M Graduate, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
*Corresponding author's email: anemat@tabrizu.ac.ir
(Received: 2023\6\3 Accepted: 2023\8\16)

Abstract

Neosporosis is a disease caused by a protozoan called *Neospora caninum*, which is characterized by abortion in cows and nerve and muscle paralysis of various organs, especially the hind limbs of dogs. This disease was identified for the first time in 1984 in Norway. The dog is the only definitive host and also the intermediate host of protozoa and contamination can also be seen in cattle, sheep, goats, horses, and deer. The importance of neosporosis disease is related to causing abortion in ruminants (especially cows) and the economic losses caused in industrial livestock farming, which has caused many studies to be conducted in Iran and rest of the world. The disease was first reported in Iran in 2004, and since that year, many studies have been conducted about it. In this review article, an attempt has been made to introduce the protozoa that causes the disease and its evolution, as well as the methods of diagnosing the disease, and provide an overview of the studies conducted on this disease in Iran, from the beginning to the present day.

Conflict of interest: None declared.
Keywords: Cow, Iran, Neosporosis, Review studies.

"مقاله پژوهشی" DOI: 10.30495/JVCP.2023.1987470.1417

مروری بر رخداد نئوسپوروزیس گاوی در ایران

احمد نعمت‌الهی[1*]، نگار فروزانفر[2]

۱-استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۲-دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: anemat@tabrizu.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۳/۱۳ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۵/۲۵)

چکیده

نئوسپوروزیس (Neosporosis) بیماری است که توسط تک‌یاخته‌ای به‌نام *نئوسپورا کانینوم* (*Neospora caninum*) ایجاد می‌شود و با وقوع سقط جنین در گاو و نیز ایجاد فلج عصبی و عضلانی اندام‌های مختلف، مخصوصاً فلجی اندام‌های خلفی در سگ شناخته می‌شود. بیماری نئوسپوروزیس برای اولین بار در سال ۱۹۸۴ در نروژ مورد شناسائی قرار گرفت. سگ تنها میزبان اصلی و همچنین میزبان واسط تک‌یاخته *نئوسپورا کانینوم* می‌باشد، ولی آلودگی در گاو، گوسفند، بز، اسب و گوزن نیز دیده می‌شود. اهمیت بیماری نئوسپوروزیس در ارتباط با ایجاد سقط جنین در نشخوارکنندگان (مخصوصاً گاو) و خسارات اقتصادی ایجادشده در دامداری‌های صنعتی می‌باشد که این مسئله باعث شده، مطالعات فراوانی در ایران و جهان در مورد آن انجام پذیرد. برای اولین بار گزارش بررسی بیماری مذکور در ایران در سال ۲۰۰۴ انجام گرفته و از آن سال به بعد، مطالعات فراوانی در مورد آن انجام شده‌است. در مقاله مروری حاضر، سعی شده است که ضمن معرفی تک‌یاختهٔ عامل بیماری و سیر تکاملی آن و روش‌های تشخیص بیماری، مروری بر مطالعات انجام‌یافته در مورد این بیماری در ایران، از ابتدا تا به امروز، ارائه شود.

کلیدواژه‌ها: نئوسپوروزیس، گاو، مطالعات مروری، ایران.

- معرفی بیماری

نئوسپوروزیس (Neosporosis) بیماری است که توسط تک‌یاخته‌ای به‌نام *نئوسپورا کانینوم* (*Neospora caninum*) ایجاد می‌شود و با سقط جنین در گاو و فلج عصبی و عضلانی اندام‌های مختلف به‌خصوص اندام‌های خلفی در سگ شناخته می‌شود. این بیماری برای اولین بار در سال ۱۹۸۴ در نروژ مورد شناسائی قرار گرفت. سگ تنها میزبان اصلی و همچنین میزبان واسط تک‌یاخته می باشد ولی آلودگی در گاو، گوسفند، بز، اسب و گوزن نیز دیده می‌شود. اهمیت این بیماری در ارتباط با ایجاد سقط جنین در نشخوارکنندگان (مخصوصاً گاو) و خسارات اقتصادی ایجادشده در دامداری‌های صنعتی می‌باشد(Dubey *et al*., 2004).

- تاریخچه بیماری

در سال ۱۹۸۴ در نروژ یک آنسفالومیلیت و میوزیت در سگ‌ها و متعاقباً میلوآنسفالیتی در گوساله‌ها مشاهده شد که دلیل رخداد آن تک‌یاخته‌ای ناشناس شبیه به *توکسوپلاسما گوندهای* (*Toxoplasma gondii*) بود که به آنتی‌بادی‌های ضد توکسوپلاسما پاسخ نمی‌داد. این انگل بعداً به عنوان یک جنس و گونه جدید یعنی *Neospora caninum* نام‌گذاری و توصیف شد (Bjerkas *et al*., 1984). متعاقباً در سال ۱۹۸۸ دیوبی و همکاران در ۱۰ قلاده سگ در ایالات متحده آمریکا با بررسی‌های آسیب‌شناسی بافت‌های دچار جراحت و انجام تست‌های ایمونولوژیک برای اولین بار به توصیف نئوسپوروزیس ناشی از *نئوسپورا کانینوم* پرداختند و اعلام نمودند که تک‌یاخته مزبور عامل سقط جنین در نشخوارکنندگان بزرگ به‌خصوص گاو بوده و در سگ نیز باعث فلج عصبی– عضلانی (Neuro-muscular paralysis) می‌گردد (Dubey, 2003a).

- ساختمان سلولی تک‌یاخته *نئوسپورا کانینوم*

در چرخه زندگی *نئوسپورا کانینوم* سه شکل اصلی: تاکی زوئیت (Tachyzoite)، برادی زوئیت (Bradyzoite) و کیست بافتی (tissue cyst)، شناسایی شده‌است (Dubey *et al*., 2007).

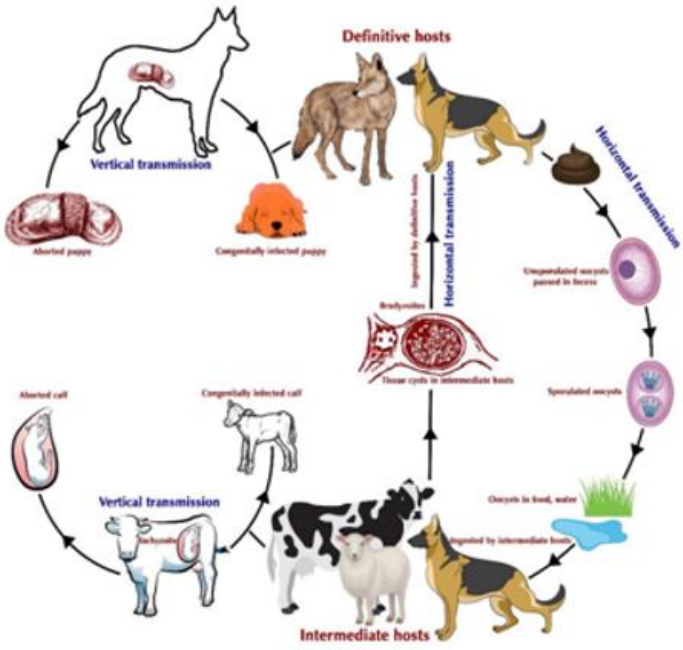
- تاکی زوئیت: تاکی‌زوایت‌ها مراحل غیرجنسی انگل هستند که در سلول‌ها و اندام‌های مختلف میزبان آلوده (میزبان واسط و نهایی)، خصوصاً مغز و نخاع یافت می‌شوند. این فرم انگل به اشکال بیضی، کروی یا هلالی دیده می‌شود و اندازه آن برابر ۵-۱ × ۷-۳ میکرون می‌باشد و به روش اندودیوژنی (endodyogeny) به ۲ زوئیت یا بیشتر تقسیم می‌گردد. تاکی‌زوایت‌ها در جفت گاوهای آبستن شناسایی شده‌اند. آن‌ها به سرعت در سلول‌ها تکثیر می‌شوند و می‌توانند سلول‌های عصبی، سلول‌های عضلانی، سلول‌های کلیوی، سلول‌های آندوتلیال عروقی، ماست سل‌ها، سلول‌های کبدی و تروفوبلاست‌های جفتی را آلوده کنند و در فاصله زمانی بسیار کوتاه (حدود ۵ دقیقه) به درون سلول‌های دلخواه نفوذ کرده و در سیتوپلاسم آن‌ها و در داخل واکوئل پارازیتوفوروس (parasitophorus vacuole) جایگزین شوند (Dubey *et al*., 2007).

- برادی‌زوئیت: برادی‌زوئیت‌ها موزی شکل هستند و اندازه آن‌ها به حدود ۱/۵-۱ × ۶/۵ میکرون می‌رسد. کلیه ارگانل‌های تاکی‌زوئیت در برادی‌زوئیت‌ها نیز مشاهده می‌گردند و دارای چند گرانول آمیلوپکتین هستند که با اسید پریودیک شیف (Periodic Acid Schiff; PAS) واکنش می‌دهند و قرمز رنگ می‌شوند.

برادی‌زوایت‌ها به‌آرامی (برخلاف تاکی‌زوئیت‌ها) تکثیر می‌شوند و کیست‌هائی را ایجاد می‌کنند که باریک هستند (Dubey *et al.*, 2004).

- **کیست بافتی (Tissue cysts)**: کیست‌های بافتی غالباً بیضی شکل و یا گرد بوده و می‌توانند با توجه به تعداد برادی‌زوایت‌های درون‌شان، به‌طور قابل توجهی از نظر اندازه متفاوت باشند، ولی به‌طور متوسط اندازه آن‌ها به حدود ۱۰۷ میکرون می‌رسد و در بافت‌های عصبی (مغز، نخاع و رشته‌های عصبی شبکیه) دیده می‌شوند. دیواره کیست از بافت نرم تشکیل شده و ضخامت آن به حدود ۴ میکرون می‌رسد. تفاوت ضخامت دیواره کیست‌های بافتی بستگی تام به زمان تشکیل آن‌ها دارد، به‌طوری که این دیواره در عفونت‌های تازه ایجاد شده کمتر، ولی در عفونت‌هایی که مدت زمان بیشتری از آن‌ها گذشته باشد، بیشتر می‌باشد. کیست‌های بافتی می‌توانند با توجه به تعداد برادی‌زوایت‌های درون‌شان، به‌طور قابل توجهی از نظر اندازه متفاوت باشند (Dubey *et al.*, 2004).

- **سیر تکاملی**: مطابق نمودار ۱، سگ‌های اهلی و برخی سگ‌سانان وحشی، به‌عنوان تنها میزبان قطعی *نئوسپورا کانینوم*، با خوردن بافت یا جفت گاو آلوده به انگل آلوده می‌شوند و اووسیست‌های بدون اسپور را در طی ۲ هفته پس از آن، همراه مدفوع خود دفع می‌کنند که اووسیست‌های مذکور، در عرض ۲۴ ساعت در خارج از بدن میزبان اسپوردار می‌شوند. اندازه اووسیست‌ها تقریباً ۱۰×۱۲ میکرون است که پس از اسپورزایی، هر اووسیست شامل ۲ اسپوروسیست است که هر کدام ۴ اسپوروزویت دارند (Dubey *et al.*, 2011a).



نمودار ۱- سیرتکاملی انگل تک‌یاخته *نئوسپورا کانینوم*

البته علی‌رغم این‌که سگ تنها میزبان اصلی تک‌یاخته *نئوسپورا کانینوم* می‌باشد، ولی تک‌یاخته می‌تواند طیف وسیعی از گونه‌های مختلف حیوانات را آلوده نماید. در طبیعت آلودگی در سگ، گاو، گوسفند، بز، اسب و گوزن دیده شده‌است و به‌طور تجربی نیز عفونت ناشی از *نئوسپورا کانینوم* را در موش، موش‌صحرایی، سگ، روباه، بز، گربه، گوسفند، کایوت (coyotes)، خوک، ژربیل (gerbils)، خرگوش و میمون ایجاد کرده‌اند. سگ می‌تواند به‌عنوان میزبان واسط نیز در چرخه زندگی تک‌یاخته نقش داشته باشد. پرندگان گوشت‌خوار همانند باز شکاری، کرکس و جغد می‌توانند به‌عنوان مخزن و منشأ انتشار نئوسپوروزیس در مزرعه باشند. انتقال *نئوسپورا کانینوم* توسط حیوان آبستن از طریق جفت به جنین صورت می‌گیرد و انتقال عامل بیماری در آبستنی‌های بعدی نیز تکرار می‌گردد (Hashemi Fesharaki, 2009).

نئوسپورا کانینوم می‌تواند هم به صورت افقی (پس از زایمانی یا جانبی) و هم به صورت عمودی (مادرزادی یا جفتی) منتقل شود. دو شکل از انتقال عمودی نشان داده شده که شامل انتقال جفتی برون‌زا (اگزوژن) و انتقال جفتی درون‌زا (اندوژن) می‌باشد (Williams *et al*., 2009). انتقال افقی از طریق خوردن بافت حاوی تاکی‌زوایت‌ها و یا کیست‌های بافتی (برادی‌زوایت‌ها) یا مصرف غذا و آب آشامیدنی آلوده به اووسیست‌های اسپوردار رخ می دهد، در حالی که انتقال عمودی زمانی اتفاق می‌افتد که تاکی‌زوایت‌ها از جفت عبورکنند، که برای چندین سال نیز در یک گله پخش می‌شوند. انتقال جفتی برون‌زا به دنبال خوردن اووسیست‌های اسپوردار توسط گاوهای معمولی رخ می‌دهد و با طوفان‌های سقط جنین اپی‌زوتیک در گله همراه است (Williams *et al*., 2009). انتقال جفتی درون‌زا در گاوهایی که به‌طور دائم آلوده‌اند با عود مجدد عفونت در بارداری اتفاق می‌افتد. انتقال افقی عفونت به نوزادان پس از تولد، برای ماندگاری عفونت در گله ضروری است و انتقال عمودی که به عنوان راه اصلی انتقال در گاو و سایر گونه های اهلی خانواده Bovidae مانند گاومیش آبی (*Bubalus bubalis*) شناخته شده، به‌تنهایی نمی‌تواند عفونت را در گله حفظ کند (Chryssafidis *et al*., 2011).

پس از اینکه کیست‌های بافتی توسط میزبان اصلی (سگ) خورده می‌شوند، تقسیمات جنسی انگل در درون سلول‌های پوششی روده سگ آغاز شده و در نهایت اواوسیت‌های غیراسپورولە (بدون هاگ) تشکیل می‌شود. این اواوسیت‌های تولید شده، همراه با مدفوع سگ دفع می‌شوند و در صورت مساعد بودن محیط (دما و رطوبت مناسب)، هاگ‌دار می‌شوند. هر اووسیست کامل شامل ۲ اسپوروسیست و هر اسپوروسیست شامل ۴ اسپوروزوئیت می‌باشد. زمانی که میزبان‌های واسط همانند گاو با خوردن غذا و آب آلوده، به اووسیست‌های موجود در مدفوع سگ آلوده شوند، در دستگاه گوارش آن‌ها اواوسیست‌ها پاره شده و اسپوروزوئیت‌های عفونت زا آزاد می‌شوند و سپس اسپوروزوئیت‌ها به سرعت تغییر فرم پیدا کرده و به تاکی‌زوئیت تبدیل می‌شوند و به سلول‌های میزبان نفوذ می‌کنند. همراه با رشد و تکثیر انگل در سلول‌های آلوده میزبان واسط و متلاشی شدن سلول‌های واجد تک‌یاخته، تاکی‌زوئیت‌های آزاد شده به دیگر سلول‌های میزبان واسط، حمله می‌نمایند. تاکی‌زوئیت‌ها بیشتر در

سلول‌های عصبی، ماکروفاژها، فیبروبلاست‌ها، سلول‌های پوششی مویرگ‌ها، سلول‌های عضلانی قلب و جفت حیوانات حساس و آبستن جایگزین می‌شوند. همچنین تاکی‌زوئیت‌ها می‌توانند از طریق جفت به جنین وارد شده و در اعضاء مختلف جنین نیز نفوذ نمایند. پس از گذشت مدت زمان نامشخصی، دستگاه ایمنی دام شروع به فعالیت نموده و با ایجاد پاسخ ایمنی درصدد متلاشی‌کردن تاکی‌زوئیت‌ها برمی‌آید. لذا تاکی‌زوئیت‌ها به‌منظور فرار از تاثیر سوء پاسخ ایمنی دام، تبدیل به برادی‌زوئیت‌ها شده و سپس جدار آن‌ها را پوشش نسبتاً ضخیمی فرا گرفته و تبدیل به کیست‌های بافتی می‌گردند. زمانی که به دلایل مختلف سیستم ایمنی دام تضعیف گردد، برادی‌زوئیت‌ها مجدداً تبدیل به تاکی‌زوئیت‌ها شده و پس از آزاد شدن از کیست، به سلول‌های مختلف حمله کرده و در آن‌ها جایگزین شده و تکثیر می‌یابند و در نهایت باعث متلاشی‌شدن سلول‌ها و آزردگی‌های نسجی می‌گردند. به‌دنبال سقط جنین و خورده‌شدن جفت و یا جنین آلوده توسط سگ سالم، کیست‌ها پاره شده و برادی‌زوئیت‌ها تبدیل به تاکی‌زوئیت‌ها شده و پس از طی مراحل جنسی، در مرحله نهایی اواوسیت‌ها تشکیل می‌گردند و چرخه زندگی تک‌یاخته با دفع اواوسیت‌های آلوده ادامه می‌یابد (Dubey, 2003a; Dubey, 2003b).

- علائم بیماری

تنها نشانه بالینی مشخص در بیماری نئوسپوروزیس، سقط جنین گاوهای آبستن آلوده می‌باشد. هر گاه گاو سالمی به عفونت با انگل تک‌یاخته *نئوسپورا کانینوم* آلوده گردد، بر حسب این‌که دام مبتلا آبستن نباشد و یا بر حسب این‌که آبستن باشد و آبستنی دام در ماه‌های اول وسوم، ماه‌های سوم و هفتم و یا ماه‌های آخر باشد، ۴ نوع پدیده مشخص بیماری ممکن است به شرح زیر، بروز نماید:

الف) گاو مبتلا فاقد علائم بالینی است.

ب) جنین ممکن است در رحم گاو تلف شده، سپس جذب یا دفع گردد.

ج) زاییده‌شدن گوساله ضعیف.

د) به‌دنیا آوردن گوساله ظاهراً سالم و بدون علائم بالینی مشخص نئوسپوروزیس(Hashemi Fesharaki., 2009).

-تشخیص بیماری نئوسپوروزیس

روش‌های مختلفی برای تشخیص نئوسپوروزیس مدنظر می‌باشند. این روش‌ها شامل روش‌های سرولوژیک، آزمون‌های هیستوپاتولوژیک و ایمونوهیستوشیمی و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction; PCR) می‌باشد.

الف) روش‌های سرولوژیک: به دلیل وجود سطوح بالای آنتی‌بادی در سرم گاوهای آلوده به انگل *نئوسپورا کانینوم* که جنین سقط کرده‌اند، گمان می‌رود که پرمصرف‌ترین نمونه‌ها برای شناسایی آنتی‌بادی‌های ضد انگل مذکور، نمونه‌های سرمی می‌باشد. گزارش شده که شناسایی آنتی‌بادی‌های ضد *نئوسپورا کانینوم* در سرم حیواناتی که دچار سقط جنین حاد شده‌اند، به‌ویژه زمانی که نمونه‌ها در عرض ۲ هفته پس از سقط جنین گرفته می‌شود، یک ابزار تشخیصی ارزشمند می‌باشد. علاوه بر این، ارزیابی سرم جنین یا مایعات بدن جنین (به ویژه مایع صفاقی) از نظر وجود آنتی‌بادی‌های ضد انگل فوق، می‌تواند به تشخیص عفونت در جنین‌های ۵ ماهه و بزرگتر کمک کند (Wouda *et al.*, 1998). همچنین می‌توان برای تشخیص آلودگی مادرزادی قبل

از تغذیه با آغوز و نیز از نمونه‌های شیر انفرادی و تانک‌شیر گاوهای شیری به عنوان نمونه‌هائی برای غربالگری یا تشخیص عفونت، از آزمون‌های سرولوژیک استفاده کرد (Varcasia *et al*., 2006). در بین آزمون‌های سرولوژیک IFA (Indirect Fluorescent Antibody) و ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) پرکاربرد ترین روش‌ها می‌باشند. آزمایش IFA در تشخیص نئوسپوروزیس آزمونی اختصاصی است که در آن، مناسب‌ترین رقت سرم برای اعلام تیتر مثبت آنتی‌بادی ضد *نئوسپورا کانینوم* نباید کمتر از ۱/۱۰۰ باشد، زیرا در رقت‌های کمتر، امکان واکنش‌های متقابل با سایر تک‌یاخته‌ها، مخصوصاً *توکسوپلاسما گوندهای* گزارش شده‌است. در واقع واکنش‌های متقابل بین *توکسوپلاسما گوندهای* و *نئوسپورا کانینوم* به‌هنگام انجام آزمایش الیزا و استفاده از آنتی‌ژن‌های ناخالص مشاهده شده، ولی در صورت استفاده از آنتی ژن‌های خالص در الیزا همراه با ایسکام (Immuno stimulating complex; ISCOM)، سرم‌های واجد آنتی‌بادی ضد *نئوسپورا کانینوم* با سرم‌های واجد آنتی‌بادی ضد *توکسوپلاسما گوندهای* واکنش متقابل نخواهند داشت (Hashemi Fesharaki.,2009). البته علاوه بر آزمون‌های سرولوژیک مذکور، آزمایش آگلوتیناسیون تغییر داده‌شده (Modified agglutination) با استفاده از رقت سرمی ۱/۲۵ و آزمون رنگی (Dye test) یا آزمون کلاسیک سابین فیلدمن (Classical sabin feldman) با استفاده از رقت سرمی ۱/۱۶، در تشخیص *نئوسپورا کانینوم* قابل استفاده می‌باشند، ضمن این‌که واکنش‌های متقابل در ۲ آزمون مذکور، با سرم‌های واجد آنتی‌بادی ضد سایر تک‌یاخته‌ها، مخصوصاً *توکسوپلاسما گوندهای* بسیار ناچیز می‌باشد (Hashemi Fesharaki., 2009).

ب) آزمون‌های هیستوپاتولوژیک و ایمونوهیستوشیمی و استفاده از میکروسکوپ الکترونیک: ارزیابی هیستوپاتولوژی جنین سقط‌شده گاوی برای تشخیص قطعی ضروری است و مغز جنین، آسیب‌پذیرترین اندام در این ارتباط می‌باشد. از آنجایی که ممکن است بیشتر جنین‌های سقط‌شده در زمان نمونه‌برداری اتولیز شده باشند، گزارش شده که حتی بافت نیمه مایع مغز اتولیز شده را هم می‌توان در فرمالین خنثی، برای تشخیص ضایعات هیستوپاتولوژیک در مقاطع رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) پایدار کرد (Dubey *et al*., 2007). مهم‌ترین ویژگی ضایعه مغزی، آنسفالیت غیرچرکی کانونی همراه با نکروز میعانی است (Nematollahi *et al*., 2013)، به‌طوری‌که ضایعات مغزی و نخاعی جنین‌های سقط شده گاوهای شیری، شامل احتقان شدید، ادم اطراف عروقی و عصبی، اسفنجی‌شدن، غلاف اطراف عروقی، گلیوز کانونی، نوروفاژی و نکروز کانونی می‌باشد (Nematollahi *et al*., 2013; Kamali *et al*., 2014). در جنین‌های سقط‌شده اغلب، ارتشاح سلولی گسترده و همچنین نکروز کانونی در قلب، کبد و ماهیچه‌های اسکلتی هم دیده می‌شود. علاوه بر این، ضایعاتی را می‌توان در جفت مشاهده کرد که البته ارزش تشخیصی کمتری دارند (Dubey *et al*., 2011). اخیراً در جفت، احتقان شدید، ترومبوز عروقی، انفیلتراسیون دور عروقی سلول‌های تک‌هسته‌ای، التهاب و نکروز کانونی در کوتیلدون‌ها، مشاهده شده‌است (Nematollahi *et al*., 2013).

اکثر محققان بر این باورند که هیستوپاتولوژی، ابزار تشخیصی بسیار ارزشمندی جهت تشخیص نئوسپوروزیس بوده و حساسیت و ویژگی آزمون مذکور، در مورد بافت‌های جنین بالا است. با این حال، به‌نظر می‌رسد که آزمون ایمونوهیستوشیمی (Immunohistochemistry; IHC) نیز مورد نیاز است، زیرا معمولاً تعداد کمی انگل در بافت‌های اتولیزشده وجود دارد که اغلب در رنگ‌آمیزی‌های هماتوکسیلین-ائوزین (Haematoxylin and Eosin) معمولی قابل مشاهده نیستند. بنابراین، نشان دادن وجود *نئوسپورا کانینوم* با استفاده از روش ایمونوهیستوشیمی در ضایعات بافتی، بهترین روش موجود برای علت‌یابی سقط محسوب می‌شود (Khodakaram-Tafti *et al.*, 2012).

از طرف دیگر، تاکی‌زوئیت‌های *نئوسپورا کانینوم* و *توکسوپلاسما گوندهای* با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نیز تقریباً از یکدیگر قابل تمایز هستند، چراکه روپتری‌ها در تاکی‌زوئیت‌های *نئوسپورا کانینوم* با تراکم بالای الکترون (Electron dense) همراه می‌باشد، در حالی‌که روپتری‌های *توکسوپلاسما گوندهای*، مومی شکل بوده و حالت اسفنجی دارند و تراکم الکترون هم ندارند. تعداد روپتری‌ها و وضعیت قرار گرفتن میکرونم‌ها نیز در هر ۲ تک‌یاخته، بی‌نهایت متغیر است. همچنین کیست‌های بافتی *نئوسپورا کانینوم* از کیست‌های بافتی *توکسوپلاسما گوندهای* تقریباً قابل‌تشخیص هستند، زیرا دیواره کیست در تک یاخته *نئوسپورا کانینوم* ضخامتی برابر ۴ میکرون دارد و به‌مراتب ضخیم‌تر از ضخامت کیست‌های *توکسوپلاسما گوندهای* می‌باشند. در ضمن کیست‌های *نئوسپورا کانینوم* بیشتر در بافت‌های عصبی ظاهر می‌گردند در حالی‌که کیست‌های *توکسوپلاسما گوندهای* امکان دارد که در سایر اعضاء بدن دام نیز دیده شوند (Namavari, 2020).

ج) واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR): برای تشخیص واقع‌گرایانه سقط جنین‌های ناشی از *نئوسپورا کانینوم* تشخیص‌های مبتنی بر سرولوژی صرف، کافی نیست و احتیاج به نشان‌دادن حضور جرم انگلی در مغز جنین به روش PCR و هیستوپاتولوژی وجود دارد. امروزه روش‌های مختلف PCR برای نشان‌دادن حضور DNA انگل در بافت‌های آلوده مخصوصا مغز جنین سقط‌شده و جفت توسعه یافته است. این روش‌ها حساسیت و ویژگی بالایی در مقایسه با سایر روش‌های تشخیصی دارند. مخصوصاً تاکید شده است که کاربرد روش PCR همراه با روش‌های هیستوپاتولوژی شواهد بسیار قوی برای تشخیص این بیماری می‌تواند فراهم سازد (Nematollahi *et al.*, 2013). امروزه مشخص شده است که آنتی‌ژن‌های این انگل از طریق شیر نیز قابل شناسایی می‌باشند که به‌روش‌های سرولوژیک این کار قابل انجام است. حتی حضور DNA انگل در شیر تولید شده توسط گاوان با روش nested-PCR قابل ارزیابی است. در کاربرد آزمون PCR ژن NC5 کاربرد بیشتری دارد و باتوجه به‌این‌که این ژن تنها در *نئوسپورا کانینوم* وجود دارد احتیاجی به نمونه کنترل مثبت نیز در پروسه تشخیص وجود ندارد (Nematollahi *et al.*, 2021).

- مطالعات انجام‌شده در مورد *نئوسپورا کنینوم* در ایران

باوجود این‌که چرخه بیماری ما بین سگ (میزبان اصلی) و حیوانات مختلف (به عنوان میزبان واسط) جریان دارد، اما در این میان بروز بیماری گاو به‌خاطر سقط

جنین و خسارات اقتصادی واجد اهمیت زیادی است. به‌همین خاطر این بیماری توسط محققین ایرانی در گاو بیشتر مورد بررسی قرار گرفته است. خسارت اقتصادی جهانی ناشی از سقط جنین به علت *نئوسپورا کانینوم* ۱/۳ میلیارد دلار تخمین زده می شود (Reichel *et al*., 2013). بر پایه آخرین گزارش وزارت کشاورزی ایران در سال ۲۰۱۹ جمعت گاوی در مناطق مختلف ایران ۱۲۰۲۰۰۰ رأس گاو شیری (عمدتاً نژاد هلشتاین) در مزارع صنعتی و ۲۲۷۱۰۰۰ رأس گاو بومی در مناطق روستایی می‌باشد. میزان وسیعی از آلودگی بر حسب شرایط آب و هوایی، جغرافیایی، نوع نمونه (خون، شیر، منی و مواد سقطی)، نوع حیوان و روش تشخیص آزمایشگاهی در ایران گزارش شده است.

اولین مطالعات منتشرشده در ایران در مورد نئوسپوروزیس به سال ۲۰۰۴ بر می‌گردد. آنجا که صدربزاز و همکاران در سال ۲۰۰۴ سرواپیدمیولوژی عفونت *نئوسپورا کانینوم* در گله‌های گاو شیری ایران را در گاوداری‌های اطراف مشهد با استفاده از روش IFA به میزان ۱۵/۱۸ درصد اعلام نمودند. آن‌ها معتقد بودند که سقط جنین به‌طور قابل توجهی با مثبت شدن عفونت سرمی گاو مرتبط است (Sadrebazzaz *et al*., 2004) . در سال ۲۰۰۶ ملماسی و همکاران با به‌کارگیری روش IFA در نمونه‌های خونی ۱۰۰ قلاده سگ در تهران میزان آلودگی را در سگ‌های خانگی ۲۰ درصد و در سگ‌های خارج از خانه ۴۶ درصد گزارش نمودند (Malmasi *et al*., 2006). حدادزاده و همکاران در سال ۲۰۰۷ در بررسی سرم ۱۰۳ قلاده سگ در اطراف تهران به روش IFA میزان آلودگی را ۱۹/۴ درصد ذکر نمودند (Haddadzadeh *et al*., 2007). در جدول ۱ مطالعات انجام‌یافته در ایران درباره نئوسپوروزیس در گاو، به‌ترتیب تاریخ انتشار تا سال ۲۰۲۱ ارائه‌شده است (Sadrebazzaz *et al*., 2004; Habibi *et al*., 2005; Razmi *et al*., 2006; Razmi *et al*., 2007a; Razmi *et al*., 2007b; Sadrebazzaz *et al*., 2007; Noorollahifard *et al*., 2008; Yousefi *et al*., 2009; Salehi *et al*., 2009; Razmi *et al*., 2010; Yousefi *et al*., 2010; Ranjbar *et al*., 2010; Nematollahi *et al*., 2010; Nematollahi *et al*., 2011; Sattari *et al*., 2011; Moraveji *et al*., 2011; Namavari *et al*., 2011; Sharifzadeh *et al*., 2011; Moraveji *et al*., 2012; Jaafari *et al*., 2012; Nematollahi *et al*., 2013a; Nematollahi *et al*., 2013b; Gharekhani *et al*., 2014; Rafati *et al*., 2014; Heidari *et al*., 2014; Kamali *et al*., 2014; Adhami *et al*., 2014; Doosti *et al*., 2015; Nayebzadeh *et al*., 2015; Shakerian *et al*., 2015; Morovati *et al*., 2016; Noorollahifard *et al*., 2017; Hosseininejad *et al*., 2017; Razmi *et al*., 2017; Ansari-Lari *et al*., 2017; Tavanaee *et al*., 2017; Taheri *et al*., 2017; Hadidi *et al*., 2017; Khani *et al*., 2018; Alipour *et al*., 2018; Hosseini *et al*., 2019; Yakhchali *et al*., 2019; Noori *et al*., 2019; Nooman *et al*., 2020; Binaee *et al*., 2021).

میزان شیوع جهانی این بیماری ۲۰ درصد تخمین زده شده است. در ایران بیشترین گزارشات در گاوهای شیری انجام شده است و میزان عفونت را حداقل از ۳/۸ درصد (Noori *et al*., 2019) تا ۸۷/۲۲ درصد (Binaei *et al*., 2021) گزارش نموده‌اند. آزمایش مدفوع سگ‌ها که به روش PCR سنجش شده است میزان آلودگی را از ۱/۱ درصد (Razmi *et al*., 2009) تا ۲۱ درصد (Nematollahi *et al*., 2021) گزارش نموده‌است. در بیشتر گزارش‌ها، هیچ‌گونه استعداد جنسیتی در حیوانات مورد بررسی مشاهده نشد، اما به‌نظر می‌رسد سن و محل زندگی از عوامل خطر مهم برای عفونت *نئوسپورا کانینوم* هستند. برای مثال، تفاوت معنی‌داری از نظر آلودگی در گاوهای صنعتی (۴۳/۹ درصد) و گاوهای روستایی (۲۵/۸ درصد) مشاهده شد

(Youssefi *et al*., 2009). مطالعه دیگری نشان داد که سگ‌های خانگی نسبت به سگ‌های ولگرد و روستایی و سگ‌های پناهگاه (به‌ترتیب ۲، ۸، ۶ و ۵ درصد) میزان آلودگی کمتری داشتند (Nematollahi *et al*., 2021). در سال ۲۰۰۷، سقط جنین گاوی مرتبط با *نئوسپورا کانینوم* در ایران شناسایی شد که ابتدا با روش PCR تشخیص داده شد و سپس با روش‌های هیستوپاتولوژی و IHC تایید شد. این محققان ایرانی یک کیست با دیواره ضخیم (۲ میکرومتر) از *نئوسپورا کانینوم* با قطر ۵۰ میکرومتر در یکی از مغزهای IHC مثبت مشاهده کردند. بنابراین، بر اساس یافته‌های خود، نئوسپوروزیس را عامل اصلی سقط جنین در گاوهای شیری ایران عنوان کردند (Razmi *et al*., 2007). بعداً *نئوسپورا کانینوم* از یک جنین سقط‌شده در گاوهای سرم مثبت جدا شد که به عنوان Nc-Iran تعیین شد که با شماره دسترسی FJ655914 در بانک اطلاعاتی GenBank ثبت شد (Salehi *et al*., 2012). اخیراً پورامینی و همکاران وجود *نئوسپورا کانینوم* را در مایع مغزی-نخاعی (۲۶/۲ درصد)، مغز (۱۹ درصد) و عضلات اسکلتی (۱۳/۴۲ درصد) سگ‌های ولگرد آلوده بدون علامت در تهران گزارش کردند (Pouramini *et al*., 2017). همچنین، تماس نزدیک با سگ‌های مزرعه، گوشت‌خواران، جوندگان و طیور آلوده به‌عنوان عوامل خطر مهم برای وقوع سقط جنین *نئوسپورا کانینوم* در گاوهای شیری، بیان شد (Gharekhani and Yakhchali, 2019).

جدول ۱- مطالعات انجام‌یافته در باره نئوسپوروزیس گاوی در ایران به ترتیب تاریخ انتشار تا سال ۲۰۲۱

محقق (و همکاران)	درصد آلودگی	روش مطالعه	بافت مورد مطالعه	تعداد حیوان	منطقه	تاریخ مطالعه
صدربزاز	۱۵/۲	IFAT	سرم خون	۸۱۰	مشهد	۲۰۰۴
حبیبی	۶۶/۷	Semi-nested PCR	بافت جنین	۶	مشهد	۲۰۰۵
رزمی	۴۶	ELISA	سرم خون	۳۳۷	مشهد	۲۰۰۶
رزمی	۱۳	PCR	مغز جنین	۱۰۰	مشهد	۲۰۰۷
رزمی	۳۲	ELISA	سرم خون	۲۳۷	مازندران	۲۰۰۷
صدربزاز	۳۳	PCR	مغز جنین	۱۲	خراسان	۲۰۰۷
نورالهی‌فرد	۱۲/۶	ELISA	سرم خون	۲۸۵	کرمان	۲۰۰۸
یوسفی	۲۵/۸	ELISA	سرم خون	۲۳۷	بابل	۲۰۰۹
صالحی	۱۰۰	PCR	مغز جنین سقط شده	۱۲	تهران	۲۰۰۹
صالحی	۷۱/۴	PCR	جفت جنین سقط شده	۷	تهران	۲۰۰۹
رزمی	۱۱/۹	PCR	مغز جنین سقط شده	۱۵۱	خراسان	۲۰۱۰
رزمی	۹/۹	ELISA	مایعات جنین سقط	۱۵۱	خراسان	۲۰۱۰
یوسفی	۷	ELISA	سرم خون	۴۶	اردبیل	۲۰۱۰

رنجبر	۳۸/۵	ELISA	سرم خون	۱۰۴	گرمسار	۲۰۱۰
نعمت‌الهی	مشاهده باند ۴۱ و ۴۵ کیلو دالتون	ELISA	سرم خون	۱۱۶	تبریز	۲۰۱۰
نعمت‌الهی	۱۰/۵	ELISA	سرم خون	۲۶۶	تبریز	۲۰۱۱
نعمت‌الهی	۱۷/۱	ELISA (Domestic)	سرم خون	۷۶	تبریز	۲۰۱۱
ستاری	۱۳/۴	ELISA	سرم خون	۸۰۰	گلستان	۲۰۱۱
مروجی	۳۲	MAT	سرم خون	۲۰۰	فارس	۲۰۱۱
نام‌آوری	۳۳/۳	ELISA	سرم خون	۱۳۵	فارس	۲۰۱۲
شریف‌زاده	۱۷/۱۴	PCR	منی	۱۷۵	متعدد	۲۰۱۲
مروج	–	LAT+Recombinant	سرم خونی	–	شیراز	۲۰۱۲
جعفری	۱۰۰	PCR	منی	۳۰	تبریز	۲۰۱۲
نعمت‌الهی	۱۸/۴	ELISA	سرم خون	۷۶	تبریز	۲۰۱۳
نعمت‌الهی	۴۲/۸	PCR	مغزجنین	۱۴	آذربایجان‌شرقی	۲۰۱۳
فروغی	۲۸/۳	ELISA	سرم خون	۱۸۴	شهرکرد	۲۰۱۳
میخچی	۲۴/۳	ELISA	سرم خون	۱۱۶	مشهد	۲۰۱۳
قره‌خانی	۱۷/۴	ELISA	سرم خون	۱۰۴۶	همدان	۲۰۱۴
رفعتی	۱۱	Nested-PCR	مغز جنین	۱۰۰	شهرکرد	۲۰۱۴
حیدری	۷/۸	ELISA	سرم خون	۳۶۸	کردستان	۲۰۱۴
کمالی	۴۵	PCR	مغز جنین سقط شده	۳۹۵	نواحی مختلف ایران	۲۰۱۴
ادهمی	۱۷/۶	ELISA	سرم خون	۳۳۶	سنندج	۲۰۱۴
قهوه‌ای	۳۵/۹	ELISA	سرم خون	۹۲	کرمانشاه	۲۰۱۴
دوستی	۱۰/۵۳	PCR	منی	۵۷	نواحی متعدد	۲۰۱۵
نایب‌زاده	۹/۸	ELISA	سرم خون	۳۴۷	لرستان	۲۰۱۵
آتشگاهی	۱۸	ELISA	سرم خون	۲۵۰	نیشابور	۲۰۱۵
جوانشیر	۹	ELISA	سرم خون	۲۰۰	قم	۲۰۱۵
شاکریان	۱۰	PCR	شیر	۱۰۰	شهر کرد	۲۰۱۵
مروتی	۳۲/۱	ELISA	سرم خون	۶۱۱	اصفهان	۲۰۱۶
شهیدی	۱۶/۱	ELISA	سرم خون	۲۸۰	تربت حیدریه	۲۰۱۶
اسدی	۱۲/۹	ELISA	سرم خون	۹۳	شهربابک	۲۰۱۶
معتمدی‌پور	۹/۳	ELISA	سرم خون	۱۵۰	سیرجان	۲۰۱۶
نوراللهی‌فرد	۲۶	ELISA	سرم خون	۱۰۰	نیشابور	۲۰۱۷
حسینی‌نژاد	۲۶/۳	ELISA	سرم خون	۱۵۰۰	اصفهان	۲۰۱۷
رزمی	۳۵	ELISA	شیر	۱۲۳	مشهد	۲۰۱۷
نورالهی‌فرد	۲۶	ELISA	سرم خون	۱۰۰	نیشابور	۲۰۱۷
انصاری‌لاری	۳۰/۴	ELISA	سرم خون	۲۵۳	شیراز	۲۰۱۷
توانایی	۳۲/۱	ELISA	سرم خون	۱۸۰	فارس	۲۰۱۷

طاهری	۲۲	ELISA	شیر	۱۵۰	شهریار	۲۰۱۷
حدیدی	۱۸/۲	ELISA	سرم خون	۱۸۷	کاشان	۲۰۱۸
خانی	۳۸	PCR	جنین سقطی	۳۸	اراک	۲۰۱۸
علی‌پور	۲۴	Nested-PCR	شیر	۱۰۰	شهر کرد	۲۰۱۸
حسینی	۴۱/۵	PCR	جنین سقطی	۸۲	مغان (اردبیل)	۲۰۱۸
یخچالی	۲۴/۸	ELISA	سرم خون	۴۷۶	همدان	۲۰۱۹
نوری	۳/۸	ELISA	سرم خون	۱۸۴	سیستان	۲۰۱۹
نعمان	۱۹	ELISA	سرم خون	۲۱۶	اصفهان	۲۰۲۰
بینایی	۸۷/۲۷	ELISA	سرم خون	۲۳۷	سمنان	۲۰۲۱

باید توجه داشت که با توجه به اطلاعات منتج از مقالات فوق ، مشخص است که خسارات اقتصادی نئوسپوروزیس که اکثراً مربوط به میزبانان واسط (گاو) می‌باشد در ایران وجود دارد. اما میزبانان اصلی (سگ) نیز در ایران نقش مهمی در انتشار بیماری بر عهده دارد. در جدول ۲ گزارشات مربوط به نتایج بررسی‌های انجام‌یافته در ایران در ارتباط با سگ آورده شده است

Malmasi *et al*., 2007; Haddadzadeh *et al*., 2007; Razmi *et al*., 2009; Hosseininejad *et al*., 2010; Yakhchali *et al*., 2010; Sharifdin *et al*., 20011; Khanmohammadi *et al*., 2011; Hamidnejad *et al*., 2011; Khordadmehr *et al*., 2012; Gharedaghi *et al*., 2012; Ghrekhani *et al*., 2013; Dalimi *et al*., 2014; Gharekhani *et al*., 2014; Pouramini *et al*., 2017; Yakhchali *et al*., 2017; Hosseininejad *et al*., 2017; Hosseininejad *et al*., 2018; Gharekhani *et al*., 2019; Gharekhani *et al*., 2020; Nematollahi *et al*., 2021).

جدول ۲- مطالعات انجام‌یافته در باره *نئوسپورا* در سگ‌های ایران به ترتیب تاریخ انتشار تا سال ۲۰۲۱

محقق(وهمکاران)	درصد آلودگی	روش مطالعه	بافت مورد مطالعه	تعداد حیوان	منطقه	تاریخ مطالعه
ملماسی	۳۳	IFAT	سرم خون	۱۰۰	تهران	۲۰۰۷
حدادزاده	۱۹/۴	IFAT	سرم خون	۱۰۳	تهران	۲۰۰۷
رزمی	۱/۱	PCR	مدفوع	۱۷۴	خراسان	۲۰۰۹
حسینی‌نژاد	۲۹	ELISA	سرم خون	۲۹	جنوب و غرب	۲۰۱۰
یخچالی	۲۶/۶	IFAT	سرم خون	۱۳۵	ارومیه	۲۰۱۰
شریف‌دین	۳۰/۴	ELISA	سرم خون	۱۷۱	اردبیل	۲۰۱۱
خان‌محمدی	۱۰/۶	ELISA	سرم خون	۳۸۴	سراب	۲۰۱۱
حمیدنژاد	۲۹	ELISA	سرم خون	۲۴۸	چهارمحال بختیاری	۲۰۱۱
حمیدنژاد	۲۹	ELISA	سرم خون	۲۰۰	اصفهان	۲۰۱۱
حمیدنژاد	۲۹	ELISA	سرم خون	۱۰۰	خوزستان	۲۰۱۱
خردادمهر	۵۴/۶۲	ELISA	سرم خون	۱۸۰	فارس	۲۰۱۲
قره‌داغی	۳۱	IFAT	سرم خون	۱۰۰	تبریز	۲۰۱۲
قره‌خانی	۵۲/۸	IFAT	سرم خون	۲۰۰	همدان	۲۰۱۳

دلیمی	۲/۱	PCR	مدفوع	۴۲۸	لرستان	۲۰۱۴
قره‌خانی	۲۷	IFAT	سرم خون	۲۷۰	همدان	۲۰۱۴
جوانشیر	۴	ELISA	سرم خون	۵۰	قم	۲۰۱۵
پورامینی	(E)۲۲ (P)۳۵	PCR و ELISA	مایع مغزی-نخاعی، مغز	۴۲	تهران	۲۰۱۷
یخچالی	۲۰	IFAT	سرم خونی	۱۵۰	نواحی مختلف	۲۰۱۷
حسینی‌نژاد	۱۷/۷	IFAT	سرم خون	۱۱۳	اصفهان	۲۰۱۷
حسینی‌نژاد	۱۸	ELISA	سرم خون	۱۰۰	اهواز	۲۰۱۸
حسینی‌نژاد	۲۰	NAT	سرم خون	۱۵۰	اهواز	۲۰۱۸
قره‌خانی	۸/۶۵	ELISA	سرم خون	۱۸۵	همدان	۲۰۱۹
قره‌خانی	۴/۹	ELISA	سرم خون	۱۸۴	همدان	۲۰۲۰
رئیسی	۲۷/۵	IFAT	سرم خون	۲۰۰	چهارمحال بختیاری	۲۰۲۰
معتمدی	۲۲	PCR	مدفوع	۱۰۰	اصفهان	۲۰۲۰
نعمت‌الهی	۲۱	PCR	مدفوع	۱۰۰	تبریز	۲۰۲۱

لذا با رعایت نکاتی تا حدودی می‌توان میزان آلودگی را به حداقل رساند که از آن جمله کنترل بیماری در سگ‌ها با داروهای ضدانگل است. می‌توان با برنامه‌ریزی سگ‌های ولگرد و بدون صاحب را ضدانگل درمانی کرد و تا حدودی خطر انتقال و انتشار بیماری را کاهش داد. نکته حائز اهمیت در این مورد گنجاندن داروهای ضد تک‌یاخته‌های گوارشی از قبیل آمپرولیوم، سولفامیدها و داروهای مشابه می‌باشد. همچنین عقیم کردن سگ‌های ولگرد با برنامه‌ریزی صحیح می‌تواند یکی دیگر از روش‌های مقابله و کنترل بیماری باشد. جلوگیری از ورود سگ‌های ولگرد در گاوداری‌ها و محل پرورش حیوانات نیز نقش مهمی در زمینه پیشگیری از بیماری نئوسپوروزیس دارد.

سپاسگزاری

این مقاله قسمتی از یک طرح پژوهشی است که با مساعدت معاونت پژوهشی دانشگاه تبریز انجام پذیرفت و نویسندگان از این بابت از آن معاونت تشکر می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع

- Adhami, G., Hoghooghi, R. and Dalimi, A. (2014). The seroepidemiological investigation into Neospora caninum in cattle in Sanandaj, Kordestan Province. Journal of Veterinary Microbiology, 10(2): 83-92. [In Persian]
- Alipour, M., Rahimi, E. and Shakerian, A. (2019). Study the prevalence of Neospora caninum in milk of ruminants by molecular method. Journal of Veterinary Microbiology, 15(2): 101-110.
- Ansari-Lari, M., Rowshan, A., Jesmani, H., Masoudian, M. and Badkoobeh, M. (2017). Association of Neospora caninum with reproductive performance in dairy cows: a prospective study from Iran. Veterinary Research Forum, 8(2): 109-114.
- Binaei, M., Changizi, E. and Staji, H. (2021). A serological study of Neospora caninum infection in dairy cattle in Semnan province, Iran. Journal of Veterinary Research, 76(1): 1-7. [In Persian]
- Chryssafidis, A.L., Soares, R.M., Rodrigues, A.A.R., Carvalho, N.A.T. and Gennari, S.M. (2011). Evidence of congenital transmission of Neospora caninumin naturally infected water buffalo (Bubalus bubalis) fetus from Brazil. Parasitology Research, 108(3): 741-743.
- Dalimi, A., Sabevarinejad, G., Ghafarifar, F. and Forouzandeh-Moghadam, M. (2014). Molecular detection of Neospora caninum from naturally infected dogs in Lorestan province, West of Iran. Archive Razi Institute, 69(2): 185-190.
- Doosti, A., Khamesipour, F., Nekoei, S. and Lutvikadic, I. (2015). Survey for the presence of Neospora caninum in frozen bull's semen samples by PCR assay. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 5(1): 7-12.
- Dubey, J.P. (2003a). Review of Neospora caninum and neosporosis in animals. Korean Journal of Parasitology, 41: 1-16.
- Dubey, J.P. (2003b). Neosporiosis in cattle. Journal of Parasitology, 89(1): 42-46.
- Dubey, J.P., Sreekumar, C., Knickman, E., Miska, K.B., Vianna, M.C.B. and Kwok, O.C.H. (2004). Biologic, morphologic, and molecular characterization of Neospora caninum isolates from littermate dogs. International Journal of Parasitology, 34(10): 1157-1167.
- Dubey, J.P., Schares, G. and Ortega-Mora, L. (2007). Epidemiology and control of neosporosis and Neospora caninum. Clinical Microbiology Reviews, 20(2): 323-367.
- Dubey, J.P., Jenkins, M.C., Rajendran, C., Miska, K., Ferreira, L.R., Martins, J., Kwok, O.C.H. and Choudhary, S. (2011a). Gray wolf (Canis lupus) is a natural definitive host for Neospora caninum. Veterinary Parasitology, 181(2-4): 382-387.
- Dubey, J.P. and Schares, G. (2011b). Neosporosis in animals—the last five years. Veterinary Parasitology, 180(1-2): 90-108.
- Gharedaghi, Y. (2012). Seroprevalence of Neospora caninum in stray dogs of Tabriz Iran. Journal of Animal and Veterinary Advanced, 11(6): 723-726.
- Gharekhani, J., Heidari, H. and Akbarein, H. (2012). Seroepidemiology of Neospora caninum in Iranian native and crossbreed cattle: across sectional study. Journal of Veterinary Research, 67(4): 325-329.
- Gharekhani, J. and Heidari, H. (2014). Detection of anti-Neospora caninum antibodies in Iranian native cattle. Journal of Advanced Veterinary and Animal Research, 1(4): 228-231.
- Gharekhani, J., Yakhchali, M. and Khaltabadi-Farahani, R. (2020). Prevalence and risk factors associated to Neospora caninum (Apicomplexa: Toxoplasmatidae) in pet dogs from Hamadan, West of Iran. Avicenna Journal of Clinical Microbiology Infection, 7(1): 22-26.
- Habibi, G.R., Hashemi-Fesharki, R., Sadrebazzaz, A., Bozorgi, S. and Bordbar, N. (2005). Semi-Nested PCR for diagnosis of Neospora caninum infection in cattle. Archive Razi Institue, 59(2): 55-64.
- Hadadi, M.R., Sherafati, R., Delavari, M., Arbabi, M., Gilasi, H.R. and Abed, A. (2018). Evaluation of anti-Neospora caninum antibody presence in cow's milk in Kashan. Feyz: (Journal of Kashan University of Medical Sciences), 22(3): 333-338. [In Persian]

- Haddadzadeh, H., Sadrebazzaz, A., Malmasi, A., Ardakani, H.T., Nia, P.K. and Sadreshirazi, N. (2007). Seroprevalence of Neospora caninum infection in dogs from rural and urban environments in Tehran, Iran. Parasitology Research, 101(6): 1563-1565.
- Hamidinejat, H., Mosalanejad, B., Avizeh, R., Jalali, R., Hosseini, M., Ghorbanpour, M. and Namavari, M. (2011) .Neospora caninum and Toxoplasma gondii antibody prevalence in Ahvaz feral cats. Iranian.Jundishapur Journal of Microbiology, 4(4): 217-222.
- Hashemi Fesharaki, S.R. (2009).Neospora caninum and neosporosis. Pasouk Publication, 1-23.
- Heidari, H., Mohammadzadeh, A. and Gharekhani, J. (2014). Seroprevalence of Neospora caninum in slaughtered native cattle in Kurdistan province, Iran. Veterinary Research Forum, 5(1): 69-72.
- Hoseini, A., Merat, E., Samani, S., Nezhad, S.S. and Danandeh, R. (2018). Comparison of Neospora caninum infected tissues in aborted fetal bovine by PCR. Journal of Veterinary Research, 73(3): 377-382.
- Hosseininejad, M., Hosseini, F., Mahzounieh, M., Nafchi, A.R. and Mosharraf, M. (2010). Seroprevalence of Neospora caninum infection in dogs in Chaharmahal-va-Bakhtiari province, Iran. Comparative Clinical Pathology, 19(3): 269-270.
- Hosseininejad, M., Hosseini, F. and Auobei, S. (2018). Seroprevalence of Neospora caninum and Toxoplasma gondii in dogs in Ahwaz, Iran. Veterinary Research and Biological Products, 122(1): 97-100. [In Persian]
- Jaafari Joozani, R.A., Asadpour, R., Nematolahi, A. and Hosseininejad, M. (2012). Detection of non-spermatozoal cells of Neospora caninum in fresh semen of naturally infected bulls. Acta Scientiae Veterinariae, 40(2): 1-7.
- Kamali, A., Seifi, H.A., Movassaghi, A.R., Razmi, G.R. and Naseri, Z. (2014). Histopathological and molecular study of Neospora caninum infection in bovine aborted fetuses. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 4(12): 990-994.
- Khani, M., Arabkhazaeli, F., Hosseini, S.D. and Shayan, P. (2018). Molecular detection of Neospora caninum in aborted fetuses of cattle farms in Arak. Journal of Veterinary Research, 73(4): 457-463. [In Persian]
- Khanmohammadi, M. and Fallah, E. (2011). Prevalence of Neospora caninum antibodies in shepherd dogs in Sarab district, EastAzerbaijan province, Iran. African Journal of Microbiology Research, 5(28): 5062-5066.
- Khodakaram-Tafti, A., Mansourian, M., Namavari, M. and Hosseini, A. (2012). Immunohistochemical and polymerase chain reaction studies in Neospora caninum experimentally infected broiler chicken embryonated eggs. Veterinary Parasitology, 188(1-2): 10-13.
- Malmasi, A., Hosseininejad, M., Haddadzadeh, H., Badii, A. and Bahonar, A. (2007). Serologic study of anti-Neospora caninum antibodies in household dogs and dogs living in dairy and beef cattle farms in Tehran, Iran. Parasitology Research, 100(5): 1143-1145.
- Moraveji, M., Hosseini, M., Amrabadi, O., Rahimian, A, Namazi, F. and Namavari, M. (2011). Seroprevalence of Neospora spp. in horses in South of Iran. Tropical Biomedicine, 28(3): 514-517.
- Moraveji, M., Hosseini, A., Moghaddar, N., Namavari, M.M. and Eskandari, M.H. (2012). Development of latex agglutination test with recombinant NcSAG1 for the rapid detection of antibodies to Neospora caninum in cattle. Veterinary Parasitology, 189(2-4): 211-217.
- Morovati, H. and Noaman, V. (2016). Seroepidemiology of Neospora caninum in dairy cattle farms with a history of abortion in Isfahan province, Iran. Journal of Veterinary Sciences and Animal Husbandry, 4(3): 304.
- Mosallanejad, B., Razi Jalali, M.H., Hamidinejat, H. and Peyghambari, E. (2018). A serological survey on Neospora caninum infection in wild rats (Rattus rattus) in Ahvaz district, Iran. Journal of Zoonotic Diseases, 3(1): 1-9.
- Motamedi, A., Keihani, P. and Momtaz, H. (2020). Molecular detection of Neospora caninum in infected dogs of Isfahan, Iran. Journal of Zoonotic Diseases, 4(1): 35-42.

- Namavari, M.M. (2020). Neosporosis in Iran; recent evidences and perspectives. Journal of Zoonotic Diseases, 4(2): 1-24.
- Nematollahi, A. and Jafari-Jozani R. (2010). Study on pattern of Neospora caninum tachyzoite proteins by SDS-PAGE and Western blotting in aborted cows. Iranian Journal of Veterinary Research, 11(4): 383-386.
- Nematollahi, A., Jaafari, R. and Moghaddam, G. (2011). Seroprevalence of Neospora caninum infection in dairy cattle in Tabriz, Northwest Iran. Iranian Journal of Parasitology, 6(4): 95-98.
- Nematollahi, A., Moghaddam, G.H., Jaafari, R., Helan, J.A. and Norouzi, M. (2013). Study on outbreak of Neospora caninum-associated abortion in dairy cows in Tabriz by serological, molecular and histopathologic methods. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 6(12): 942-946.
- Nematollahi, A. (2014). Veterinary Protozology.1st ed., University of Tabriz, pp: 25-45.
- Nematollahi, A., Shahbazi, P. and Fakheri, A. (2021). Study on Prevalence rate of Neospora caninum in dogs around Tabriz through fecal and molecular methods. Journal of Veterinary Research, 76(4): 381-388. [In Persian]
- Nourollahi Fard, S., Khalili, M. and Aminzadeh, A. (2008). Prevalence of antibodies to Neospora caninum in cattle in Kerman province, South East Iran. Veterinarski Arhiv, 78(3): 253-259.
- Norollahifard, S.R., Khalili, M., Fazli, O., Sharifi, H. and Radfar, M.H. (2017). Seroprevalence of Neospora caninum in cattle of Neishabour, Northeast Iran. Slovenian Veterinary Research, 54(1): 5-9.
- Noori, M., Rasekh, M., Ganjali, M. and Nourollahi-Fard, S.R. (2019). Seroprevalence of Neospora caninum infection and associated risk factors in cattle of Sistan areas, Southeastern Iran in 2016. Iranian Journal of Parasitology, 14(2): 340-346.
- Pouramini, A., Jamshidi, S., Shayan, P., Ebrahimzadeh, E., Namavari, M. and Shirian, S. (2017). Molecular and serological detection of Neospora caninum in multiple tissues and CSF in asymptomatic infected stray dogs. Iranian Journal of Veterinary Medicine, 11(2): 105-112.
- Rafati, N. and Jaafarian, M. (2014). The determination of prevalence of in aborted fetuses in dairy cattle of Shahrekord area, Chaharmahalva Bakhtiari province, by Nested-PCR. Journal of Veterinary Laboratory Research, 6(1): 45-50. [In Persian]
- Ranjbarbahadori, S., Motevaselian, A., Bokaie, S. and Yousefi, M. (2010). Serological study of Neospora caninum in aborted dairy cattle in Garmsar, Iran. Comparative Biopathology, 6(2): 249-254. [In Persian]
- Razmi, G.R., Mohammadi, G.R., Garrosi, T., Farzaneh, N., Fallah, A.H. and Maleki, M. (2006). Seroepidemiology of Neospora caninum infection in dairy cattle herds in Mashhad area, Iran. Veterinary Parasitology, 135(2): 187-189.
- Razmi, G.R., Maleki, M., Farzaneh, N., Garoussi, M.T. and Fallah, A. (2007). First report of Neospora caninum-associated bovine abortion in Mashhad area, Iran. Parasitology Research, 100(4): 755-757.
- Razmi, G.R. (2009). Fecal and molecular survey of Neospora caninum in farm and household dogs in Mashhad area, Khorasan province, Iran. Korean Journal of Parasitology, 47(4): 417-420.
- Razmi, G.R., Zarea, H. and Naseri, Z. (2010). A survey of Neospora caninum associated bovine abortion in large dairy farms of Mashhad, Iran. Parasitology Research, 106(2): 1419-1423.
- Razmi, G.R., Zarae, H., Norbakhsh, M.F. and Naseri, Z. (2013). Estimating the rate of transplacental transmission of Neospora caninum to aborted fetuses in seropositive dams in Mashhad area, Iran. Iranian Journal of Veterinary Medicine, 7(4): 253-256.
- Razmi, G. and Barati, M. (2017). Prevalence of Neospora caninum and Toxoplasma gondii antibodies in bulk milk of dairy cattle, Mashhad, Iran. Archive Razi Institute, 72(3): 265-269.
- Razmi, G.R. and Naseri, Z. (2017). Molecular detection of Neospora caninum infection in ovine aborted foetuses in the Mashhad area, Iran. Annal Parasitology, 63(1): 45-47.

- Reichel, M.P., Ayanegui-Alce´rreca, M.A., Gondim, L.F.P. and Ellis, J.T. (2013). What is the global economic impact of Neospora caninum in cattle—the billion-dollar question? International Journal of Parasitology, 43(2): 133-142.
- Sadrebazzaz, A., Haddadzadeh, H., Esmailnia, K., Habibi, G., Vojgani, M. and Hashemifesharaki, R. (2004). Serological prevalence of Neospora caninum in healthy and aborted dairy cattle in Mashhad, Iran. Veterinary Parasitology, 124(3-4): 201-204.
- Sadrebazzaz, A., Habibi, G., Haddadzadeh, H. and Ashrafi, J. (2007). Evaluation of bovine abortion associated with Neospora caninum by different diagnostic techniques in Mashhad, Iran. Parasitology Research, 100(6): 1257-1260.
- Salehi, N., Haddadzadeh, H.R., Shayan, P., Vojgani, M. and Bolorchi, M. (2010). Serological study of Neospora caninum in pregnant dairy cattle in Tehran, Iran. International Journal of Veterinary Research, 4(2): 113–116.
- Sattari, A., Moshiri, F. and Musavi, S. (2011). The seroprevalence of Neospora caninum antibodies in dairy cattle herds in Golestan province, Iran. Journal of Veterinary Microbiology, 7(1): 60-64.
- Shakerian, A., Sherafati, R., Rafati, N. and Sharifzadeh, A. (2015). Detection of Neospora caninum in raw milk of cattle in Shahrekord Using PCR. Journal of Tropical Infection Diseases, 20(70): 9-14. [In Persian]
- Sharifdini, M., Mohebali, M., Keshavarz, H., Hosseininejad, M., Hajjaran, H., Akhoundi, B., et al. (2011). Neospora caninum and Leishmania infantum co-infection in domestic dogs (Canis familiaris) in Meshkin-shahr district, Northwestern Iran. Journal of Arthropod-Borne Diseases, 1(3): 60-68.
- Sharifzadeh, A., Doosti, A. and Dehkordi, P.G. (2012). PCR assay for detection of Neospora caninum in fresh and frozen semen specimens of Iranian bulls. World Applied Sciences Journal, 17(6): 742-749.
- Taheri Lak, K., Sadraeii, J. and Dalimi, A. (2017). Prevalence of antibodies to Neospora caninum in milk samples from dairy farms in the Shahriyar. Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) 115(2): 142-146. [In Persian]
- Tavanaee, H.R. and Namavari, M. (2017). Evaluation of attenuated variety of Neospora caninum for diagnosis of infection in cattle by agglutination test. Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) 115(4): 153-157. [In Persian]
- Varcasia, A., Capelli, G., Ruiu, A., Ladu, M., Scala, A. and Bjorkman, C. (2006). Prevalence of Neospora caninum infection in Sardinian dairy farms (Italy) detected by iscom ELISA on tank bulk milk. Parasitology Research, 98(3): 264-267.
- Williams, D.J.L., Hartley, C.S., Björkman, C. and Trees, A.J. (2009). Endogenous and exogenous transplacental transmission of Neospora caninum–how the route of transmission impacts on epidemiology and control of disease. Parasitology, 136(14): 1895-1900.
- Wouda, W., Moen, A.R. and Schukken, Y.H. (1998). Abortion risk in progeny of cows after a Neospora caninum epidemic. Theriogenology, 49(7): 1311-1316.
- Yakhchali, M., Javadi, S. and Morshedi, A. (2010). Prevalence of antibodies to Neospora caninum in stray dogs of Urmia, Iran. Parasitology Research, 106(6): 1455-1458.
- Yakhchali, M., Bahrami, M., Asri-Rezaei, S. and Bokaie, S. (2017). The enzymes and electrolytes profiles in sera of Iranian stray dogs naturally infected with Neospora caninum. Annal Parasitology, 63(1): 63-68.
- Youssefi, M.R., Arabkhazaeli, F. and Hassan, A.T.M. (2009). Seroprevalence of Neospora caninum infection in rural and industrial cattle in northern Iran. Iranian Journal of Parasitology, 4(1): 15-18.
- Youssefi, M.R, Ebrahimpour, S. and 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.