

مطالعه فراوانی گله های گاوهای هلشتاین دارای آنتی بادی ضد نئوسپوراکنینوم در شیر مخزن در گرمسار و شاخص های تولید مثلی مرتبط با آن

محمد صالح متقی^۱، مجید محمدصادق^{۲*}، مرتضی گرجی دوز^۳

۱- دانش آموخته دکتری عمومی گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار،

ایران

۲- دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران

۳- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۰۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۰۳

چکیده

به منظور تعیین شیوع سرواید میولوژیک نئوسپوراکنینوم در گرمسار از ۷۲ گله بزرگ گاو شیری در شهرستان گرمسار (حدوداً ۱۰ درصد از کل مزارع دامپروری این شهرستان) نمونه شیر مخزن برای انجام آزمایش ELISA (الایزا) تهیه شد. همچنین از ۱۱ قلاده سگ متعلق به گله های با نتایج الایزا مثبت خونگیری بعمل آمد و به آزمایشگاه ارسال شد تا به وسیله کیت الایزا مورد بررسی قرار گیرد. نتایج نشان داد که در ۵۵ دامپروری (۷۵/۴٪) نتایج آزمایش الایزا مثبت شد. در میان ۱۱ قلاده سگ گله های آزمایش شده با الایزای سرم خون نمونه ۹ قلاده نتایج مثبت نشان دادند. در میان ۱۱ قلاده سگ گله آزمایش شده با الایزای سرم خون، نمونه ۹ قلاده نتیجه مثبت نشان داد. منطقه جغرافیایی، تعداد گاوهای گله، زایمان تا آبستنی، میزان گیرایی تلقیح و درصد دام آبستن در گله در بین گله های آلوده و سالم تفاوتی نداشت ($P>0.05$). میانه تعداد گوساله های ماده در گله های الایزا منفی ۲ راس و در الایزا مثبت ۳ راس بود ($P=0.01$). همچنین میانه تولید شیر هر گاو در گله های منفی ۲۷/۸ کیلوگرم و در گله های مثبت ۲۶/۹ کیلوگرم بود ($P=0.026$). میان حضور سگ در گله و مثبت بودن نتیجه مثبت آزمایش الایزای شیر مخزن گله ارتباط معنی دار یافت شد. ($P=0.00, r=0.47$). از این تحقیق نتیجه گیری شد در شهرستان گرمسار ۷۵/۴٪ از مخازن شیر گله های بررسی شده نتیجه الایزای مثبت داشتند و میزان تولید شیر در این گله ها کمتر و حضور سگ بیشتر بود.

کلمات کلیدی: نئوسپوراکنینوم، الایزا، گاو شیری، گرمسار

* نویسنده مسئول: مجید محمدصادق

آدرس: گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران.

ایمیل: Dr.msadeg@gmail.com

مقدمه

نئوسپورا کنینوم انگل کوکسیدیایی تک یاخته ای درون سلولی از شاخه Apicomplexa و کلاس Coccidia است (۱۲). این انگل برای اولین بار در سال ۱۹۸۴ در سگ‌هایی با اختلالات عصبی قبل از کشف *نئوسپورا* مشاهده شد و در سال ۱۹۸۸ توسط دابی و همکاران به عنوان یک جنس و گونه جدید شناسایی شد (۹ و ۶). بیماریزایی اصلی *نئوسپورا کنینوم* آسیب های دستگاه تولید مثل در گاوهای مناطق مختلف جهان در ارتباط است (۱۱ و ۱۳ و ۲۴). قبل از تشخیص قطعی آن با توکسو پلازما گوندی اشتباه گرفته می شد. چند سال بعد *نئوسپورا کنینوم* در گاو نیز کشف شد (۲۹ و ۵). در طول دهه ۱۹۹۰، چندین مطالعه نشان داده اند که این انگل علت مهم سقط جنین گاوی در بسیاری از نقاط جهان و آن هم به صورت حاد است که به آن طوفان سقط می گویند. گاوهای آلوده مزمن در معرض خطر سقط جنین هستند. *نئوسپورا کنینوم* می تواند در اشکال مختلف در سلول های سگ و گاو وجود داشته باشد که شامل: مرحله تکثیر فعال عامل بیماری، مرحله تاکی زوئیت و مرحله پنهان در کیست های بافتی که مرحله برادی زوئیت است. شکل سوم انگل، مرحله اووسیست است که شامل تولید مثل جنسی و محیطی *نئوسپورا* می باشد. فرم مقاوم مسئول انتقال عفونت از حیوانی به حیوان دیگر است. شرح پاتوژنز و نشانه های بالینی عفونت *نئوسپورا کنینوم* و همچنین ساختار و بیولوژی انگل، و رابطه میزبان-انگل، به وسیله دابی و لیندسی در سال ۱۹۹۶ بررسی شده است (۱۰). *نئوسپوروزیس* از طریق سقط جنین، کاهش باروری، کاهش تولید شیر، وزن گیری نامطلوب و حذف زود هنگام دامها باعث کاهش بازدهی صنعت دامپروری کشور می شود (۲۸). از این رو هدف از این تحقیق

تعیین شیوع سرواپیدمیولوژیک این بیماری در گاوداری های بزرگ شهرستان گرمسار بود.

مواد و روش کار:

طبق استعلام از شرکت گاوداران شهرستان گرمسار بیش از ۷۰۰ گاوداری در این شهرستان و اطراف آن فعال هستند. از این تعداد حدود ده درصد از بزرگترین گاوداری هایی که در جهت های جغرافیایی مختلف بودند به روش تصادفی-خوشه ای انتخاب شد که شامل ۷۲ گاوداری صنعتی، نیمه صنعتی و روستایی از نژاد هلشتاین، دورگ و بومی بودند. با مراجعه به بخش جمع آوری شیر شرکت دامداران شهرستان، نمونه ها از شیر مخزن متعلق به این گاوداری ها اخذ شد. سپس نمونه های شیر همراه یخ به آزمایشگاه ارسال شد. و در آنجا با دور RPM3600 به مدت ۴ دقیقه سانتریفیوژ شدند و مایع رقیق شده روی محلول جدا گردید. در این آزمایش از کیت الیزا (ID .VET, France) ساخت کشور فرانسه استفاده شد. طبق بروشور کیت رنج نرمال آنتی بادی اگر برابر یا کمتر از ۲۵ بود نتیجه آزمایش منفی و اگر بین ۲۵ تا ۳۰ بود مشکوک و اگر بیشتر یا برابر با ۳۰ بود نتایج آزمایش، مثبت در نظر گرفته شد. پس از یافتن گله های الیزا مثبت، ۱۱ قلاده سگ از ۱۱ گله که در آنها با گاوها در ارتباط بودند انتخاب گردیدند و نمونه خون آنها به آزمایشگاه ارسال شد. نمونه های خون با دور RPM 4000 به مدت ۴ دقیقه سانتریفیوژ شدند و توسط کیت الیزا مورد بررسی قرار گرفتند. در نهایت میزان گیرایی آبهستی، روزهای باز (فاصله زایمان تا آبهستی)، میزان تولید شیر در گله، تعداد دام های گله، ارتباط حضور سگ ها در دامداری در گروه مبتلا و سالم مقایسه شد. از نرم افزار IBM SPSS (2018)version 26 و آزمون های آماری مربع

یافته‌ها نشان داد از ۷۲ گله گاو شیری تحت آزمایش تعداد ۵۵ گله (۷۵/۴٪) در آزمایش الایزای نتوسپورا کینیوم مثبت بودند. آزمون کولموگرو-اسمیرنو نشان داد بیشتر داده‌های کمی از توزیع نرمال برخوردار نبودند و فقط Days open توزیع نرمال داشت ($P>0.05$). همچنین میانگین تولید شیر هر گاو در گله‌های منفی ۲۷/۸ و در گله‌های مثبت ۲۶/۹ بود ($P=0.026$) (جدول شماره ۱).

کای، آزمون دقیق فیشر در مقایسه داده‌های اسمی استفاده شد. آزمون کولموگرو-اسمیرنو و سپس من ویتنی - یو برای مقایسه داده‌های کمی در موارد نرمال نبودن توزیع و آزمون تی در موارد نرمال بود توزیع داده استفاده شد. برای ارتباط سنجی ضریب پیرسون و اسپرمن برآورد شد.

نتایج:

جدول ۱- مقایسه شاخص‌های کمی تحت بررسی در بین دو گروه گله گاو الایزا مثبت و منفی

نتایج الایزا			داده‌ها		
مثبت		منفی			
میانگین	خطای معیار	میانگین	خطای معیار	میانگین	خطای معیار
۱۲۵	۱/۷	۱۲۸/۲	۱۲۵	۳	۱۲۷/۱
۲	۰/۵	۳/۴	۲	۰/۴	۱/۹
۳	۱/۱	۵/۹	۲	۰/۴	۲/۴
۲۷	۰/۳	۲۷/۳	۲۷/۸	۱	۲۹
۴	۱	۶/۲	۵	۰/۹	۴/۳
۱۷	۲/۷	۲۳	۱۴	۱/۴	۱۴/۸
۴۵	۱/۱	۴۶/۷	۵۰	۲	۴۶/۹
۲/۵	۰/۱	۲/۵	۲/۵	۰/۱	۲/۶

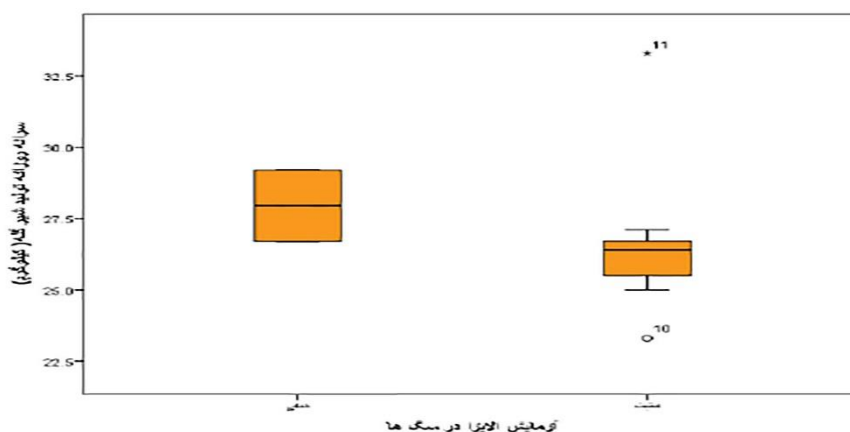
بود ($P>0.05$). در مقایسه داده‌های کمی در گله‌هایی ELISA مثبت و منفی فقط تعداد گوساله‌های ماده به طور معنی داری اختلاف داشت. میانگین تعداد گوساله ماده در گله‌های ELISA مثبت ۵ و در گله‌های الایزا منفی ۰ بود ($P=0.036$) (جدول شماره ۲).

همچنین در ۱۱ نمونه گرفته شده از سگ گله‌های مثبت، ۹ قلاده در آزمایش ELISA سرم خون نتایج مثبت نشان دادند. از سوی دیگر مقایسه توزیع مطلق و نسبی حضور سگ در گله‌های الایزا مثبت و منفی با آزمون مربع کای و ضریب دقیق فیشر اختلاف را معنی دار دانست ($P=0.001$). میانگین درصد گاو آستن در گله الایزا مثبت ۴۵٪ و در گله‌های الایزا منفی ۵۰٪

جدول ۲- مقایسه داده های کمی تحت بررسی در گله هایی با سگ های ELISA مثبت و منفی

داده ها	نتایج الایزا					
	مثبت		منفی			
	میانگین	خطای معیار	میانگین	میانگین	خطای معیار	
روزهای باز گله	۱۳۵	۳/۳	۱۳۳/۹	۱۲۷/۵	۲۲/۵	۱۲۷/۵
تعداد گاوهای خشک	۲	۰/۷	۲/۸	۰/۵	۰/۵	۰/۵
تعداد گاوهای ماده	۵	۰/۷	۴/۵	۰	۰	۰
میانگین تولید شیر	۲۶	۱	۲۶/۷	۲۸	۱/۳	۲۸
تعداد گاوهای نر	۴	۱/۷	۵/۵	۱/۵	۰/۵	۱/۵
تعداد گاوهای شیری	۱۵	۳/۱	۱۸/۷	۹	۱	۹
درصد آبستنی در گله	۴۵	۲	۴۳	۴۷/۵	۱۲/۵	۴۷/۵
تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی	۲	۰/۱	۲/۶	۲/۴	۰/۶	۲/۴

از سوی دیگر در گله هایی الایزا مثبت میانگین تولید شیر ۲۶ کیلوگرم در هر راس گاو و در گله هایی الایزا منفی ۲۸ کیلوگرم در هر راس گاو بود (نمودار شماره ۱).



نمودار ۱- مقایسه میانگین تولید شیر گاو در گله هایی با سگ های الایزا مثبت و منفی ($P < 0.05$)

آزمون‌های ارتباط سنجی ضریب پیرسون میان حضور سگ و مثبت شدن نتیجه الیزا ارتباط مثبت معنی داری یافت. (جدول شماره ۳) ($P=0.00, r=0.47$)

جدول ۳- مقایسه توزیع مطلق و نسبی حضور سگ در گله‌های الیزا مثبت و منفی ($P=0.00$)

نتایج الیزا	داده	سگ در مزرعه		
		سگی در گله وجود ندارد	سگ وجود دارد ولی آزاد نیست	سگ وجود دارد و آزاد هست
منفی	تعداد	۸	۹	۰
	درصد در نتایج الیزا	۴۷٪/۱	۵۲٪/۹	۰٪/۰
	درصد در سگ در مزرعه	۷۲٪/۷	۱۸٪/۰	۰٪/۰
	درصد از کل تعداد	۱۱٪/۱	۱۲٪/۵	۰٪/۰
مثبت	تعداد	۳	۴۱	۱۱
	درصد در نتایج الیزا	۵٪/۵	۷۴٪/۵	۲۰٪/۱۰
	درصد در سگ در مزرعه	۲۷٪/۳	۸۲٪/۱۰	۱۰۰٪/۱۰
	درصد از کل تعداد	۴٪/۲	۵۶٪/۹	۱۵٪/۳
کل	تعداد	۱۱	۵۰	۱۱
	درصد در نتایج الیزا	۱۵٪/۳	۶۹٪/۴	۱۵٪/۳
	درصد در سگ در مزرعه	۱۰۰٪/۱۰	۱۰۰٪/۱۰	۱۰۰٪/۱۰
	درصد از کل تعداد	۱۵٪/۳	۶۹٪/۴	۱۵٪/۳

بحث

یافته‌ها نشان داد از ۷۲ مورد گله گاو شیری تحت آزمایش تعداد ۵۵ گله (۷۵/۴٪) در آزمایش الیزای نئوسپورا کنینوم مثبت بودند. مثبت بودن آزمایش الیزا در حد یک آزمایش غربالگری ارزش دارد زیرا تنها وجود آنتی بادی ضد نئوسپورا کنینوم را نشان می‌دهد و در صورتی که آزمایش ملکولی PCR نیز انجام شده بود نتیجه گیری قطعی‌تر از حضور یا عدم حضور این

تک یاخته ممکن می‌شد. در مدت اجرای این تحقیق منتظر بروز مواردی از سقط جنین به ویژه جنین‌های مرده ای که در داخل محوطه بطنی مایعات خونی داشته باشند بودیم تا از آن‌ها نمونه تازه برای ارسال به آزمایشگاه به منظور انجام آزمایش ملکولی PCR تهیه شود ولی هیچ موردی رخ نداد. با این حال آزمایش الیزای نئوسپورا کنینوم توسط محققین بسیاری استفاده شده است. میرلا ایمره و همکاران در مطالعه ای که در

ساساری و نورو (به ترتیب ۴۱ و ۴۰ درصد) بود (p<0.01). آن‌ها آزمایش الیزا را برای بررسی - های اپیدمیولوژیک بزرگ و افزایش سطح ایمنی زیستی در مزارع گاوهای شیری مناسب و مقرون به صرفه دانستند (۳۵). قره خانی و همکاران در سال ۲۰۲۱ در گاو‌داری‌های استان همدان ۱۴۹ نمونه از شیر مخزن این گاو‌داری‌ها را با روش الیزا مورد بررسی قرار دادند و از این تعداد ۵۵ درصد مثبت بودند. بیشترین آلودگی *نئوسپورا* در مزارع با سابقه سقط در پاییز و زمستان مشاهده شد. در این تحقیق ارتباط معناداری بین آلودگی *نئوسپورا* و حضور سگ و جوندگان در مزارع، اندازه گله و سن حیوانات وجود داشت. آن‌ها آزمایش شیر مخزن را یک ابزار غربالگری قابل اعتماد برای نظارت بر کیفیت شیر در مزارع دانستند (۱۵). این در حالیست که در تحقیق پیش رو همانند تحقیق ورکاسیا و دیگران (۲۰۰۶) از آزمایش الیزای شیر مخزن استفاده شده است ولی حساسیت و ویژگی الیزا بررسی نشد.

با توجه به ضررهای اقتصادی وارده به صنعت دامپروری در اثر سقط جنین و کاهش تولید شیر ناشی از *نئوسپورا کنینوم*، فراوانی این تک یاخته در مناطق مختلف ایران مطالعه شده است. گاوهای شیری منطقه شهریار توسط طاهری لک و دیگران (۱۳۹۶) مورد ارزیابی قرار گرفته است. با توجه به پراکندگی دامی ۱۵۰ نمونه شیرخام از ۵ دامداری گاو شیری از ۴ منطقه شهریار جمع آوری و با روش الیزای غیر مستقیم از لحاظ وجود آنتی بادی ضد *نئوسپورا کنینوم* آزمایش شد. از مجموع ۱۵۰ نمونه، ۲۲٪ از لحاظ وجود آنتی بادی ضد *نئوسپورا کنینوم* مثبت بود و بیشترین میزان شیوع در گاوهایی با سن بالاتر از ۴ سال مشاهده شد (P=0.039).

سال ۲۰۰۹ انجام دادند، برای مطالعات اپیدمیولوژیکی آزمایش ELISA را روشی کارآمد معرفی کردند (۲۰). هالبور و هسلر در سال ۲۰۰۷ در مطالعه ای، به منظور غربالگری جمعیت‌های مشخص و یا شناسایی عامل سقط‌های مجهول، بدون دسترسی به جنین‌های سقط شده و بافت‌های جنینی، روش الیزا را به عنوان روشی کارآمد، سریع و ارزان پیشنهاد کردند (۱۸). چنلوم و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که از آزمایش الیزا می‌توان در شیر مخزن گاو، برای شناسایی عفونت *نئوسپورا کنینوم* استفاده کرد. ایشان همچنین نشان دادند مناطق شمال شرقی بیشتر از مناطق شمالی تایلند درگیر عفونت بود (۷). علی پور عمروآبادی و دیگران در ۱۳۹۸ چهارصد و چهل نمونه شیر خام حاصل از گاو‌داری طی چهار فصل سال از استان‌های اصفهان، چهارمحال و بختیاری، خوزستان و فارس جمع آوری و به آزمایشگاه ارسال کردند. نمونه‌های شیر جمع آوری شده از استان چهارمحال و بختیاری در فصل تابستان بیشترین (۱۵٪) و نمونه‌های اصفهان کمترین (۶/۳٪) میزان عفونت را نشان دادند (۳).

غلامرضا رزمی و مهدی براتی از تیرماه ۱۳۹۳ تا خرداد ۱۳۹۴ بر روی شیرهای مخزن گاو‌داری‌های مشهد مطالعه‌ای انجام دادند. در این مطالعه ۱۲۳ نمونه شیر مخزن با روش الیزا بررسی شد و از این تعداد ۴۴ (۳۵٪) مورد مثبت بود (۲). ورکاسیا و همکاران در سال ۲۰۰۶ در ایتالیا ۶۲۴ گله را مورد بررسی قرار دادند و شیر فله آن‌ها را با انجام روش الیزا آزمایش کردند. تجزیه و تحلیل نمونه‌های شیر مخزن، شیوع ۵۵٪ برای *نئوسپورا کنینوم* در ساردینیا را نشان داد. در استان‌های اوریستانو و کالیاری شیوع (به ترتیب ۶۴ و ۶۵ درصد) به طور قابل توجهی بیشتر از

میش و بز از آن چه در گاو مشاهده شده است به مراتب کمتر است. همچنین با مرور مقالات بالا و مقایسه میزان شیوع سرمی نئوسپورا در ایران به نظر می‌رسد گله‌های الایزا مثبت در گرمسار از تمام موارد مشابه گزارش شده در ایران بیشتر است (۱).

در تحقیق پیش رو از آن جا که نئوسپورا دو نوع چرخه زندگی زیست-بومی وحشی و اهلی دارد این فرضیه وجود داشت که در مناطق خنک تر و سرسبزتر مانند مناطق شمالی گرمسار که احتمال وجود روباه و سگ-های غیر اهلی زیادتر است و در نتیجه احتمال آلودگی سگ‌های اهلی موجود در گله‌های گاو بیشتر است بنابراین می‌بایست احتمال شیوع گله‌های الایزا مثبت در این مناطق بیشتر باشد. یافته‌های این تحقیق نشان داد شیوع موارد الایزا مثبت در مناطق جغرافیایی مختلف گرمسار تفاوتی نداشت. با این وجود موارد الایزا مثبت در منطقه شمالی ۷۳٪ در منطقه جنوبی ۵۷٪ در منطقه شرقی ۸۹٪ در منطقه غربی ۶۳٪ در منطقه مرکزی ۷۵٪ بود. با وجود آن که احتمال خطای نوع اول ($P=0.075$) و نزدیک به معنی داری برآورد شد نتیجه گیری شد که اختلاف توزیع گله‌های الایزا مثبت در مناطق مختلف معنی دار نبود ولی کاملاً تمایل به معنی داری داشت. و این به آن معنی است که احتمالاً با افزایش میزان نمونه گیری احتمال مثبت شدن اختلاف زیاد خواهد بود. در مطالعه انجام شده در گله‌های الایزا مثبت میزان تولید شیر کاهش معنی داری نشان داد. در دیگر مطالعات نیز کاهش تولید شیر علاوه بر سقط جنین، کاهش باروری، کاهش وزن گیری و حذف زود هنگام گزارش شده است (۲۸). همچنین تورموند و هیتالا در سال ۱۹۹۷ بر روی ۱۱۸ تلیسه سرم مثبت مطالعه کردند و پی‌بردند ۲/۵ پوند (۱/۱ کیلوگرم) در هر روز شیر آن‌ها کاهش یافت. (۳۲) هرناندز و همکاران

به نظر می‌رسد آزمون الایزای غیر مستقیم بکار رفته در شیر برای نظارت بر برنامه‌های استراتژی کنترل نئوسپورا کینیوم در مزارع پرورش گاو شیری مفید و مقرون به صرفه باشد.

رحمانی و محمدصادق (۱۹۹۹) با مراجعه به ۴ مرکز نگهداری گوسفند و بز در شرق تهران ۱۴۳۰ راس میش و ۲۴۰ راس بز ماده که از این میان ۱۳۲ راس میش (۹/۲٪) و همچنین ۲۵ راس بز ماده (۱۰/۴٪) سقط کرده بودند را فراهم کردند. سپس در قالب یک تحقیق case-control از ۲۰ راس میش و ۲۰ راس بز بدون سقط و آبستن و ۲۰ راس میش و ۲۰ راس بز سقط کرده نمونه خون و داج در لوله‌های بدون ماده ضد انعقاد تهیه شد. پس از تهیه سرم تیترا آنتی بادی ضد نئوسپورا با روش الایزا تعیین شد. نتایج نشان داد در مجموع شیوع سرواپیدمیولوژیک نئوسپورا کینیوم در بین دام‌های آزمایش شده ۱۱/۳٪ (گوسفند ۱۲/۵٪ و بز ۱۰٪) بود. در میان ۲۰ راس میش بدون سقط فقط یک راس (۵٪) دارای تیترا مثبت مشاهده شد ولی در بین ۲۰ راس میش سقط کرده ۴ راس (۲۰٪) دارای تیترا مثبت و یک راس (۵٪) مشکوک مشاهده شد ($P=0.067$). همچنین در بین ۲۰ راس بز بدون سقط فقط ۲ راس (۱۰٪) دارای تیترا مثبت و یک راس مشکوک مشاهده شد و در بین ۲۰ راس میش سقط کرده نیز ۲ راس (۱۰٪) دارای تیترا مثبت و یک راس مشکوک مشاهده شد ($P=0.2$). در نهایت از آن مطالعه نتیجه گیری شد از آن جا که میزان موارد مثبت دارای تیترا آنتی بادی ضد نئوسپورا در موارد سقط کرده و سقط نکرده تفاوتی نداشت این عامل را در بروز سقط در میش و بزهای مطالعه شده نمی‌توان موثر تلقی کرد. هر چند میزان اختلاف آماری در گوسفندان به معنی نزدیک معنی دار شدن بود. یافته‌های تحقیق پیش رو نشان دادند که میزان شیوع در

در سال ۲۰۰۱ در فلوریدا کاهش ۳ الی ۴٪ شیر تولیدی گاوهای سرم مثبت نسبت به گاوهای سرم منفی گزارش کردند که باعث زیان اقتصادی ۱۲۸ دلاری برای هر راس گاو در سال شد. (۱۷) ون لیوون و همکاران در سال ۲۰۰۲ در کاستاریکا در طی ۳۰۵ روز طول دوره شیردهی میزان ۸۴/۷ لیتر کاهش شیر برای گاوهای سرم مثبت نسبت به گاوهای سرم منفی را گزارش کردند (۳۴). در کالیفرنیا معلوم شده است که میزان تولید شیر روزانه در گاوهای سرم مثبت (آن دسته از دامهایی که آنتی بادی بر علیه بیماری داشتند) و بر علیه *نئوسپورا کنینوم* آنتی بیوتیک مصرف کرده بودند، ۲/۵ لیتر کمتر از تولید شیر در گاوهای سرم منفی (آن دسته از دامهایی که آنتی بادی بر علیه بیماری نداشتند) و آنها که آنتی بیوتیک مصرف نکردند بود (۸). هابسون و همکاران در سال ۲۰۰۲ همچنین دافیلد و همکاران در سال ۲۰۰۱ و هال و همکاران در سال ۲۰۰۵ کاهش میزان تولید شیر در مبتلایان به *نئوسپورا کنینوم* را گزارش کردند. باید توجه داشت که شاخص های ارتباط سنجی استفاده شده در تحقیق پیش رو توان برقراری رابطه علت و معلوم بین دو متغیر را ندارند و به عبارت دیگر از این ارتباط منفی میان مثبت شدن نتیجه الایزای شیر گله و افت شیر نباید این نتیجه را گرفت که مثبت شدن تیترا الایزای گله به هر دلیلی می توان سبب کاهش شیر گله شود. از سوی دیگر همه علل افت شیر در مطالعه پیش رو بررسی نشدند.

در مطالعه حاضر امکان مقایسه میزان سقط در گله های الایزا مثبت و الایزا منفی فراهم نشد زیرا موردی از سقط تایید شده در طی فرصت مطالعه فراهم شده در این تحقیق مشاهده نشد ولی موارد سقط قبل از شروع مطالعه می توانست سبب افزایش موارد دام غیر آبستن شود به همین دلیل میزان دام آبستن در گله می توانست

مهم باشد. از سوی دیگر یافته های این تحقیق نشان داد میانه میزان دام آبستن گله در گله های الایزا مثبت ۵۰٪ و در گله های الایزا منفی ۴۵٪ بود ($P > 0.05$). از این یافته می توان نتیجه گیری کرد که *نئوسپورا کنینوم* میزان غیر آبستن بودن گاو در گله های الایزا مثبت را افزایش داده است. مشخص است که در دوران بارداری تعدیل ایمنی قابل توجهی وجود دارد که به مادر اجازه می دهد پیوند جفت را حمل کند. (۲۷) در حد فاصل بین جفت و جنین، پاسخ های التهابی مانند آنچه توسط $IFN\gamma$ کنترل می شود به طور بالقوه بسیار مضر هستند و ممکن است باعث پس زدن یا سقط جنین شوند. بنابراین، کاهش طبیعی پاسخ $IFN\gamma$ ، که در کنترل *نئوسپورا موثر* است، در دوران بارداری ممکن است میزبان و جنین را در برابر عفونت با انگل آسیب پذیرتر کند. نشان داده شده است که بارداری مقاومت موش ها را در برابر عفونت لیشمانیا که نیاز به پاسخ ایمنی نوع $TH1$ دارد، مختل می کند. (۲۱) این سرکوب $IFN\gamma$ در دوران بارداری همچنین ممکن است بر رشد مجدد عفونت مزمن قبلی تأثیر بگذارد که باعث می شود برادی زوئیت های درون کیست های بافتی از آن خارج شوند و به تاکی زوئیت ها تبدیل شوند که منجر به آلودگی انگلی می شود.

تورموند و هیتالا در سال های ۱۹۹۶ و ۱۹۹۷ عنوان کردند خسارت های ناشی از *نئوسپورا کنینوم* به صورت افزایش میزان واکلی و فحلی مجدد بروز پیدا خواهد کرد که نشان از کاهش میزان گیرایی آبستنی گاو ها در گله است. (۳۱،۳۰) هابسون و همکاران در سال ۲۰۰۲، (۱۹) همچنین دافیلد و همکاران در سال ۲۰۰۱ (۱۴) و هال و همکاران در سال ۲۰۰۵ (۱۶) افزایش میزان واکلی و تلقیح های ناموفق پس از بروز علائم فحلی در برخی از مبتلایان را گزارش کردند.

مثبت بیشتر بود و اختلاف معنی داری بین سگ‌های بالای ۲ سال، زیر ۱ سال و بین ۱ و ۲ سال وجود داشت و نتایج نشان داد که سگ‌های خانگی و سگ گله در تهران که در معرض نئوسپورا کنینوم قرار داشتند و سگ‌های گاوداری‌های گوشتی و شیری اطراف تهران نیز در معرض آلودگی با نئوسپورا کنینوم قرار داشتند (۲۳).

نتیجه گیری

از این مطالعه نتیجه گیری شد با مشاهده شیوع موارد الایزا مثبت در ۷۴/۵٪ از مخازن شیر گله‌های آزمایش شده به نظر می‌رسد گله‌های الایزا مثبت در گرمسار از تمام موارد مشابه گزارش شده در ایران بیشتر است. در گله‌های الایزا مثبت در این تحقیق درصد گاو آبستنی و میزان تولید شیر کاهش نشان داد. حضور سگ‌ها در دامپروری در شرایط این مطالعه با مثبت بودن نتیجه آزمایش الایزای شیر گله بر علیه نئوسپورا کنینوم ارتباط مستقیمی داشت.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بر خود واجب می‌دانند از تلاش‌ها و راهنمایی‌های ارزنده جناب آقای دکتر موسی خانی و همکاران آزمایشگاه مینا تشکر کنند.

منابع

۱. رحمانی رضا و محمد صادق مجید (۱۳۹۹) مقایسه شیوع سرمی نئوسپورا کنینوم در گوسفند و بز سقط کرده و سالم در اطراف تهران پایان نامه برای اخذ دوره دکترای عمومی دامپزشکی دانشکده دامپزشکی واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی گرمسار.

بر اساس یافته‌های فوق در تحقیق پیش رو احتمال تاثیر نئوسپورا کنینوم بر میزان گیرایی و در نتیجه بر شاخص درصد آبستنی (میزان گیرایی) و فاصله زایمان تا آبستنی (Days open) مطرح شد. با این وجود میزان گیرایی و فاصله زایمان تا آبستنی تفاوت معنی داری در گله‌های الایزا مثبت و الایزا منفی نشان نداد.

سگ به عنوان میزبان اصلی این انگل در اپیدمیولوژی این بیماری نقش برجسته‌ای دارد در تمامی یازده گاوداری مورد مطالعه سگ در دامداری حضور داشت و اهمیت حضور این حیوان در میزان شیوع این انگل تایید شد. اوترانتو و همکاران در سال ۲۰۰۳ در مطالعه‌ای که در شمال و جنوب ایتالیا انجام دادند بین گاوآلوده به نئوسپورا و تعداد سگ در مزرعه، رابطه معناداری مشاهده کردند. برخی مطالعات همه گیری شناسی مشخص کردند که حضور سگ‌ها در مزرعه مهم‌ترین عامل مستعد کننده برای وقوع سقط‌های وابسته به نئوسپورا کنینوم در گاو است. مطالعات انجام گرفته در اسپانیا و فرانسه نشان داد که بین شیوع سرمی نئوسپورا کنینوم در گاوها حضور سگ‌ها و تعداد آنها در مزرعه ارتباط مثبتی وجود دارد (۲۲ و ۲۷). مطالعاتی که روی وجود آنتی بادی‌های نئوسپورا کنینوم در گله‌های گاو گوشتی و شیری ایران انجام شده نشان می‌دهد که نئوسپورا کنینوم در نواحی مختلف ایران وجود دارد و برای نشان دادن این انگل در سگ‌های ایران، ملماسی و همکاران در سال ۲۰۰۷ در تهران از ۵۰ نمونه خون سگ گله در گاوداری‌های گوشتی و شیری و ۵۰ قلاده سگ خانگی با روش IFAT آنتی بادی‌های ضد انگل در ۱۰ تا ۲۰ درصد از ۵۰ قلاده سگ خانگی و ۲۳ تا ۴۶ درصد از ۵۰ قلاده سگ گله مشاهده کردند. اختلاف معنی داری بین جنس نر و ماده مشاهده نشد در سگ‌های مسن نتایج

8. Dubey, J. P. (2005). Neosporosis in cattle. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, **21**: 473-483.
9. Dubey, J. P., & Beattie, C. P. (1988). *Toxoplasmosis of animals and man*. First edition. CRC Press, Inc.
10. Dubey, J. P., & Lindsay, D. S. (1996). A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Veterinary parasitology*, **67**: 1-59.
11. Dubey, J. P., & Schares, G. (2011). Neosporosis in animals—the last five years. *Veterinary parasitology*, **180**: 90-108.
12. Dubey, J. P., Barr, B. C., Barta, J. R., Bjerkås, I., Björkman, C., Blagburn, B. L., ... & Lindsay, D. S. (2002). Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *International journal for parasitology*, **32**:929-946.
13. Dubey, J. P., Schares, G., & Ortega-Mora, L. (2007). Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical microbiology reviews*, **20**: 323-367.
14. Duffield, T. F., Peregrine, A. S., McEwen, B. J., & Bagg, R. (2001). Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in 25 Ontario dairy herds and its association with periparturient health and production. *The Bovine Practitioner*, Jan **1**: 8-12.
15. Gharekhani, J., Yakhchali, M., Afshari, A., & Adabi, M. (2021). Herd-level contamination of *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Brucella* in milk of Iranian dairy farms. *Food Microbiology*, **100**:103873.
16. Hall, C. A., Reichel, M. P., & Ellis, J. T. (2005). *Neospora* abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. *Veterinary parasitology*, **128**: 231-241.
17. Hernandez, J., Risco, C., & Donovan, A. (2001). Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows. *2*. غلامرضا رزمی و مهدی براتی. (۲۰۱۷). تخمین میزان شیوع آنتی بادی نئوسپوراکنینوم و توکسوپلازما گوندیی در شیرهای مخزن گاو‌داری‌های شهرستان مشهد. *آرشیو موسسه رازی*.
3. علیپور مهتاب، رحیمی ابراهیم و شاکریان امیر. (۲۰۲۰). بررسی شیوع نئوسپوراکنینوم در شیر نشخوارکنندگان به روش مولکولی. *نشریه علمی پژوهشی میکروبیولوژی دامپزشکی*, **۱۵**, ۱۰۱-۱۱۰.
4. طاهری لک، کمال، صدرائی، جاوید و دلیمی اصل. (۲۰۱۷). فراوانی آنتی بادی ضد نئوسپوراکنینوم در نمونه‌های شیر تعدادی از گاو‌داری‌های شهرستان شهریار. *تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک*, **۳۰**, ۱۴۶-۱۴۲.
5. Anderson, M. L., Blanchard, P. C., Barr, B. C., Dubey, J. P., Hoffman, R. L., & Conrad, P. A. (1991). *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **198**: 241-244.
6. BJERKÅS, I., & PRESTHUS, J. (1988). Immuno-histochemical and ultrastructural characteristics of a cyst-forming sporozoon associated with encephalomyelitis and myositis in dogs. *Apmis*, **96**: 445-454.
7. Chanlun, A., Näslund, K., Aiumlamai, S., & Björkman, C. (2002). Use of bulk milk for detection of *Neospora caninum* infection in dairy herds in Thailand. *Veterinary Parasitology*, **110**: 35-44.

24. McAllister, M. M. (2016). Diagnosis and control of bovine neosporosis. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, **32**: 443-463.
25. Otranto, D., Llazarri, A., Testini, G., Traversa, D., di Regalbano, A. F., Badan, M., & Capelli, G. (2003). Seroprevalence and associated risk factors of neosporosis in beef and dairy cattle in Italy. *Veterinary Parasitology*, **118**: 7-18.
26. Ould-Amrouche, A., Klein, F., Osdoit, C., Mohammed, H. O., Touratier, A., Sanaa, M., & Mialot, J. P. (1999). Estimation of *Neospora caninum* seroprevalence in dairy cattle from Normandy, France. *Veterinary Research*, **30**: 531-538.
27. Raghupathy, R. (1997). Th 1-type immunity is incompatible with successful pregnancy. *Immunology today*, **18**: 478-482.
28. Santos, T., Simões, R., Mateus, T., & Lopes, A. (2016). Updates on *Neospora caninum*—economical impact. *Experimental Pathology and Health Sciences*, **8**: 49-50.
29. Thilsted, J. P., & Dubey, J. P. (1989). Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, **1**: 205-209.
30. Thurmond, M. C., & Hietala, S. K. (1996). Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. *American journal of veterinary research*, **57**: 1559-1562.
31. Thurmond, M. C., & Hietala, S. K. (1997a). Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. *American journal of veterinary research*, **58**: 1381-1385.
32. Thurmond, M. C., & Hietala, S. K. (1997b). Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first-lactation dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **210**: 672-674.
18. Hessler, M. A., & Halbur, P. (1997). Application of Immunohistochemistry and ELISA for the Diagnosis of *Neospora*-Infected Cattle. *Iowa State University Animal Industry Report*, Jan **1**: 1.
19. Hobson, J. C., Duffield, T. F., Kelton, D., Lissemore, K., Hietala, S. K., Leslie, K. E., ... & Peregrine, A. S. (2002). *Neospora caninum* serostatus and milk production of Holstein cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **221**: 1160-1164.
20. Imre, M., Dărăbuș, G., Morariu, S., Oprescu, I., Mederle, N., Ilie, M. S., ... & Imre, K. (2009). Epidemiological study using elisa of the parasitism with neospora caninum, at bovines, from western romania. *Lucrari Stiintifice-Universitatea de Stiinte Agricole a Banatului Timisoara, Medicina Veterinara*, **42**: 22-25.
21. Krishnan, L., Guilbert, L. J., Russell, A. S., Wegmann, T. G., Mosmann, T. R., & Belosevic, M. (1996). Pregnancy impairs resistance of C57BL/6 mice to *Leishmania major* infection and causes decreased antigen-specific IFN-gamma response and increased production of T helper 2 cytokines. *The Journal of Immunology*, **156**: 644-652.
22. Mainar-Jaime, R., Thurmond, M., Berzal-Herranz, B., & Hietala, S. (1999). Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. *Veterinary Record*, **145**: 72-75.
23. Malmasi, A., Hosseininejad, M., Haddadzadeh, H., Badii, A., & 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**: 1143-1145.

- caninum* in maritime Canadian dairy cattle. *The Bovine Practitioner*, Jun:86-91.
35. Varcasia, A., Capelli, G., Ruiu, A., Ladu, M., Scala, A., & Bjorkman, C. (2006). Prevalence of *Neospora caninum* infection in Sardinian dairy farms (Italy) detected by iscom ELISA on tank bulk milk. *Parasitology research*, **98**: 264-267.
33. Thurmond, M. C., & Hietala, S. K. (1997b). Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first-lactation dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **210**: 672-674.
34. Van Leeuwen, J. A., Keefe, G. P., & Tiwari, A. (2002). Seroprevalence and productivity effects of infection with bovine leukemia virus, Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, and *Neospora*

Studying the prevalence of Holstein cow herd with anti-*Neospora caninum* antibodies in the bulk milk of Garmsar and related reproductive indices

Mohammadsaleh Mottaghy¹, Majid MohammadSadegh^{2*}, Morteza Gorjodoose³

1. Graduated of Veterinary faculty, Garmsar branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran
2. Associated professor in department of animal sciences, Faculty of veterinary medicine, Garmsar branch, Islamic Azad university, Garmsar IRAN.
3. Assistant professor in department of animal sciences, Faculty of veterinary medicine, Garmsar branch, Islamic Azad university, Garmsar IRAN

Received: 7 August 2021

Accepted: 19 April 2022

Abstract

In order to determine the sero-epidemiological prevalence of *Neospora caninum* in Garmsar, in this study, bulk milk samples were prepared for ELISA testing from 72 large herds of dairy cows in Garmsar city (about 10% of all livestock farms in this city). Also, serum samples of 11 dog belonging to herds with positive blood samples were taken and sent to the laboratory to be analyzed by ELISA kit. The findings showed that in 55 farms (75.4%) the results of the ELISA test were positive. In 11 samples taken from herd dogs, positive results were shown in 9 dogs. The geographical region of sampling, livestock population in the herds, parturition to pregnancy interval, pregnancy and the conception did not differ between ELISA positive and negative herds. ($P>0.05$). The average number of female calves in the negative ELISA herds was 2 and in positive ELISA was 3 ($P=0.01$). The mean rate of herd pregnancy in positive ELISA herds was 50% and in negative ELISA herds was 45% ($P>0.05$). Also, the average milk production per cow was 27.8 kg in negative herds and 26.9 kg in positive herds ($P=0.026$). The correlation between the presence of dogs and the spread of this parasite was confirmed by Pearson's and Spearman's correlation tests. ($P=0.00$, $r=0.47$). It was concluded that in Garmsar city, 75.4% of the bulk milk of the examined herds had a positive ELISA result, and the amount of milk production in these positive herds was less and the presence of dogs was more.

Key words: *Neospora caninum*, ELISA, Dairy cow, Garmsar

*Corresponding author: Mohammad_Sadegh, M.

Address: Department of animal sciences, Faculty of veterinary medicine, Garmsar branch, Islamic Azad university.

Email: Dr.msadegh@gmail.com