

بررسی سرولوژیکی نئوسپورا کنینوم در گاوهای شیری دچار سقط در شهرستان گرمسار

شاهرخ رنجربهادری^{۱*}، امیرحسین متوسلیان^۲، سعید بکایی^۳، محمدرضا یوسفی^۴

Serological study of *Neospora caninum* in aborted dairy cattle in Garmsar

Ranjbar-Bahadori. Sh.^{1*}, Motevaselian. A.H.², Bokai. S.³, Yosefi. M.R.⁴

1*- Department of Parasitology, Veterinary Faculty, Garmsar branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran

2- Graduated of Veterinary faculty, Garmsar branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran

3- Epidemiology Department, Veterinary Faculty, University of Tehran, Tehran, Iran

4- Parasitology Department, Veterinary Faculty, Babol branch, Islamic Azad University, Babol, Iran

Neospora caninum has been recognized as an important cause of abortion in cattle. This study was done for determining of the presence of antibody against above-mentioned parasite and its effective role in abortion in the industrial and semi-industrial husbandries in Garmsar.

Eighty four serum samples from aborted cattle and also 20 serum samples from healthy cattle were taken and after sending to laboratory, were analyzed for antibodies against *Neospora caninum* antigen using a commercial *N. caninum* ELISA kit (Herdcheck, IDEXX's, USA).

Results showed that antibodies to *N. caninum* were found in 40 of 104 total cattle (38.5%) and abortion was reported in 95% of them. Statistical analyses showed significant differences between incidence of the infection in aborted cattle and healthy cattle ($p < 0.01$). But this relationship between age and number of gestation and infection to neosporosis were not significantly ($p > 0.01$). Moreover, statistical analysis showed that there is correlation between prevalence of the infection and frequency of abortion in cattle ($p < 0.01$) and this relationship confirmed the role of protozoan in the frequency of abortion in the infected animals. Therefore, based on the role of *N. caninum* in significant economic loss, its control is highly recommended.

Keywords: *Neospora caninum*, Abortion, Seroepidemiology, Garmsar, Iran

چکیده

نئوسپورا کنینوم از انگل‌های تک‌یاخته‌ای است که از آن بعنوان یکی از عوامل مهم سقط جنین در گاو نام می‌برند. در بررسی حاضر به منظور بررسی حضور آنتی‌بادی بر علیه انگل فوق و همچنین تبیین نقش آن در وقوع سقط جنین در گاوهای شیری با سابقه سقط و ۲۰ نمونه از گاوهای فاقد سابقه مذکور تهیه و پس از ارسال به آزمایشگاه، جهت حضور آنتی‌بادی علیه نئوسپورا کنینوم با استفاده از کیت الایزا (Herdcheck, IDEXX's, USA) مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج نشان داد که در ۴۰ راس از ۱۰۴ گاو مورد بررسی (۳۸/۵٪) پادتن ضد نئوسپورا کنینوم وجود داشت که در ۹۵٪ آنها سابقه سقط گزارش گردید. بررسی آماری نیز اختلاف معنی‌داری را بین وقوع آلودگی در گاوهای با سابقه سقط جنین در مقایسه با گاوهای سالم نشان داد ($p < 0.01$). در صورتی که این ارتباط بین تعداد زایش و سن دام‌های مورد بررسی و آلودگی به نئوسپوروزیس معنی‌دار نبود ($p > 0.01$). همچنین مطالعات آماری نشان داد که همبستگی معنی‌داری میان شیوع آلودگی و فراوانی وقوع سقط در گاوهای مورد مطالعه وجود دارد ($p < 0.01$) که این می‌تواند مبین نقش تأثیرگذار انگل مذکور در تکرار وقوع سقط در دام‌های آلوده باشد. بنابراین با توجه به اهمیت نقش این تک‌یاخته در ایجاد خسارات اقتصادی وسیع، می‌بایست اقدامات موثر جهت کنترل آن نمود.

واژگان کلیدی: نئوسپورا کنینوم، سقط جنین، سرواپیدمیولوژی، گرمسار، ایران

تاریخ دریافت: ۸۸/۵/۱۰ تاریخ پذیرش: ۸۸/۸/۱۶

مقدمه

نئوسپورا کنینوم تک‌یاخته‌ای از رده آپی کمپلکسا و از عوامل مهم سقط جنین در گاو است که سبب خسارات اقتصادی وسیعی در جهان می‌گردد (۵). این انگل برای نخستین بار در سال ۱۹۸۴ در کشور نروژ و در سگ‌ها گزارش گردید که سبب ضایعات عصبی - عضلانی منجر به فلجی پاهای خلفی در دام‌های مبتلا می‌گردید (۱۶). سپس در سال ۱۹۸۸، تک

یاخته فوق نامگذاری (۴) و در سال ۱۹۸۹ از جنین سقط شده یک گاو جدا گردید (۱۷). گاوها از طریق جفت و یا با بلع اوویست‌های دفع شده توسط سگ، به عنوان میزبان نهایی

*- گروه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران

bahadori@iau-garmsar.ac.ir

۲- دانشکده دامپزشکی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران

۳- گروه اپیدمیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

۴- گروه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

بادی مورد بررسی قرار گرفتند. حضور یا غیبت آنتی بادی براساس محاسبه نسبت نمونه به موارد مثبت (S/P) محاسبه گردید و مقادیر بیشتر یا مساوی با ۰/۵ مثبت و کمتر از آن منفی در نظر گرفته شد. در نهایت کلیه نتایج بدست آمده در ارتباط با سن، تعداد زایش و تعداد موارد سقط جنین در گاوهای مورد بررسی با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون آماری فیشر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

در بررسی حاضر ۱۰۴ نمونه سرم از گاوداری های صنعتی و نیمه صنعتی شهرستان گرمسار مورد بررسی قرار گرفت که نتایج بدست آمده در جدول (۱) مشاهده می گردد. مطالعه فوق نشان داد که حضور آنتی بادی علیه *نئوسپورا کنینوم* در تعداد ۴۰ نمونه (۳۸/۵٪) یافت گردید که در ۳۸ نمونه مثبت فوق (۹۵٪)، گاوهای مورد بررسی دارای سابقه سقط جنین بودند. بررسی آماری انجام شده با استفاده از آزمون فیشر نشان داد که میزان آلودگی به *نئوسپورا کنینوم* در گاوهای با سابقه سقط بطور معنی داری بیشتر از گاوهای سالم است ($p < 0/01$).

جدول ۱- توزیع فراوانی مطلق و نسبی آلودگی به *نئوسپورا کنینوم* در گاوهای سالم و سقط کرده گاوداری های صنعتی و نیمه صنعتی شهرستان گرمسار در سال ۱۳۸۸.

	منفی	مثبت	مجموع
درصد و تعداد موارد بررسی شده	۱۸	۲	۲۰
در گاوهای سالم	۹۰/۰٪	۱۰/۰٪	۱۰۰/۰٪
درصد و تعداد موارد بررسی شده	۴۶	۳۸	۸۴
در گاوهای با سابقه سقط	۵۴/۸٪	۴۵/۲٪	۱۰۰/۰٪
مجموع	۶۴	۴۰	۱۰۴
	۶۱/۵٪	۳۸/۵٪	۱۰۰/۰٪

در جدول (۲) ارتباط بین آلودگی به تک یاخته مذکور و تعداد شکم زایش گاوهای مورد بررسی، مطالعه گردیده است. گرچه با افزایش تعداد زایش، تغییراتی در میزان شیوع

انگل، دچار *نئوسپوروزیس* می گردند و سقط جنین ممکن است در هر سنی از آبستنی مشاهده گردد (۱۳). بنظر می آید که میزان سقط در دام های آلوده به میزان سه تا هفت برابر بیشتر از دام های غیرآلوده می باشد. بنابراین می توان نتیجه گرفت که علامت عمده آلودگی به *نئوسپورا کنینوم* در گاوهای بالغ، سقط جنین بوده و غالباً سقط در ماه های ۶-۵ حاملگی رخ می دهد (۸). همچنین این احتمال نیز وجود دارد که جنین در رحم از بین رفته و دچار اتولیز و مومیایی شدن گردد (۹). در ایران نیز در سالیان اخیر مطالعاتی در زمینه آلودگی به انگل فوق انجام پذیرفته است و در مشهد (۱۳، ۱۵ و ۱۶)، اهواز (۸)، حومه تهران (۱) و نواحی شمالی کشور (۱۹) آلودگی به تک یاخته فوق گزارش گردیده است. هدف از بررسی حاضر، تعیین شیوع سرمی آنتی بادی های موجود بر علیه تک یاخته *نئوسپورا کنینوم* در گله های گاوهای شیری در شهرستان گرمسار و همچنین مطالعه ارتباط آن با سقط جنین در گله های مذکور بود.

مواد و روش کار

نمونه های خونی از ۸۴ راس گاو شیری دارای سابقه سقط و ۲۰ راس گاو بدون سابقه مذکور تهیه و بلافاصله به آزمایشگاه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار منتقل گردید. سپس سرم نمونه های فوق توسط سانتریفوژ کردن آنها با دور ۱۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه جدا گردید و تمامی سرم های جدا شده تا هنگام آزمایش در ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری گردید. سپس نمونه ها جهت حضور آنتی بادی علیه *نئوسپورا کنینوم* با استفاده از کیت الیزا مورد بررسی قرار گرفتند و برای این منظور از کیت تجاری موجود (Herdcheck, IDEXX's, USA) استفاده گردید. روش استفاده از کیت با استفاده از دستور العمل آن بدین گونه بود که سرم ها به نسبت یک به صد با محلول رقیق کننده، رقیق شده و جهت حضور آنتی

درضمن بررسی انجام شده به منظور تعیین ارتباط بین میزان شیوع آلودگی به نئوسپورا کنینوم و فراوانی وقوع سقط جنین در گاوهای مورد مطالعه نشان داد که همبستگی معنی داری در این خصوص وجود دارد ($p < 0/01$) عبارتی آلودگی به نئوسپوروزیس می تواند به عنوان عاملی موثر در تکرار وقوع سقط در گاوهای آلوده تلقی گردد (جدول ۴).

جدول ۴- توزیع فراوانی مطلق و نسبی آلودگی به نئوسپورا کنینوم برحسب تعداد موارد سقط در گاوداری های صنعتی و نیمه صنعتی شهرستان گرمسار در سال ۱۳۸۸.

تعداد موارد سقط	درصد و تعداد موارد مورد بررسی		
	مثبت	منفی	مجموع
صفر	۲	۱۸	۲۰
۱	۳۰	۴۰	۷۰
۲	۷	۶	۱۳
۳	۱	۰	۱
مجموع	۴۰	۶۴	۱۰۴
	%۳۸/۵	%۶۱/۵	%۱۰۰/۰

بحث

از نئوسپورا کنینوم بعنوان یکی از عوامل مهم مسبب سقط جنین در گاو در تمامی نقاط دنیا ذکر می نمایند که البته گزارشات از آلودگی به انگل مذکور در سایر حیوانات مانند گوسفند، بز، آهو و اسب نیز وجود دارد. دویی و همکاران (۲۰۰۷) میزان خسارات اقتصادی ناشی از آلودگی به نئوسپوروزیس را سالیانه در کالیفرنیا حدود ۳۵ میلیون دلار تخمین می زند و ظاهراً ارزش واقعی خسارات بالاتر از این حدود می باشند (۶).

در ایران نیز نخستین گزارش سقط جنین ناشی از آلودگی نئوسپورایی گاو در مشهد بود و در بررسی فوق در ۱۳٪ جنین های سقط شده مورد بررسی، آلودگی به نئوسپوروزیس تایید گردید (۱۳). یوسفی و همکاران (۲۰۰۹) در نواحی شمال

آلودگی مشاهده می گردد اما یافته های آماری ارتباط معنی داری را بین آلودگی و تعداد شکم زایش دام نشان نداد ($p > 0/01$). همچنین بررسی متغیر سن دام های مورد بررسی نیز حاکی از عدم تاثیر معنی دار آن روی میزان آلودگی به نئوسپوروزیس بود ($p > 0/01$) (جدول ۳).

جدول ۲- توزیع فراوانی مطلق و نسبی آلودگی به نئوسپورا کنینوم برحسب تعداد شکم زایش در گاوداری های صنعتی و نیمه صنعتی شهرستان گرمسار در سال ۱۳۸۸.

تعداد شکم زایش	درصد و تعداد موارد مورد بررسی		
	مثبت	منفی	مجموع
صفر (تلیسه)	۱۰	۱۱	۲۱
۱	۷	۸	۱۵
۲	۱۴	۱۹	۳۳
۳	۴	۱۲	۱۶
۴	۲	۸	۱۰
۵	۲	۵	۷
۶	۱	۱	۲
مجموع	۴۰	۶۴	۱۰۴
	%۳۸/۵	%۶۱/۵	%۱۰۰/۰

جدول ۳- توزیع فراوانی مطلق و نسبی آلودگی به نئوسپورا کنینوم برحسب گروه های سنی در گاوداری های صنعتی و نیمه صنعتی شهرستان گرمسار در سال ۱۳۸۸.

سن	درصد و تعداد موارد مورد بررسی		
	مثبت	منفی	مجموع
۲-۳ سال	۱۱	۱۸	۲۹
۴-۵ سال	۲۱	۲۸	۴۹
≥ 6 سال	۸	۱۸	۲۶
مجموع	۴۰	۶۴	۱۰۴
	%۳۸/۵	%۶۱/۵	%۱۰۰/۰

مشابه انجام گرفت و شیوع انگل را در ۱۲/۶٪ از دام ها گزارش نمود (۱۲). بنابراین نتایج فوق نشان می دهد که عواملی از قبیل آب و هوا می توانند نقش بسزایی در همه گیری این انگل بازی نمایند. زیرا بدیهی است که با دفع اووسیست انگل توسط میزبان نهایی و حضور آن در محیط خارج از بدن میزبان، به منظور طی مراحل اسپوروگونی و ایجاد مراحل عفونت زایی جهت میزبان واسط نقش رطوبت، درجه حرارت و سایر عوامل محیطی بسیار تاثیرگذار می باشد. درضمن در مطالعاتی که از روش IFA استفاده گردیده است، با توجه به اختلاف در حدود تعیین شده، مشکل بتوان نتایج حاصله را با یکدیگر مقایسه نمود (۸).

نتایج حاصله از بررسی حاضر نشان داد که در ۳۸/۵٪ از گاوهای مورد مطالعه پادتن های ضد *نئوسپورا کنینوم* وجود دارد و بررسی آماری انجام شده ارتباط معنی داری را بین شیوع آلودگی و عامل سقط جنین در گاوهای مورد بررسی نشان داد و ارتباط فوق در سایر بررسی های انجام گرفته نیز تایید می گردد (۲ و ۱۱). همچنین در بررسی انجام شده نشان داده شد که ارتباط معنی داری بین آلودگی به *نئوسپورا کنینوم* و تعداد شکم زایش و همچنین سن گاوهای مورد بررسی وجود ندارد. در مطالعه صدر بزاز و همکاران (۲۰۰۴) نیز بررسی آماری وضعیت سرولوژیکی آلودگی، اختلاف معنی داری را در گروه های سنی متفاوت (زیر دو سال، بین دو تا چهار سال و بالای چهار سال) نشان نداد (۱۵). نتایج حاصل از تحقیق وودا و همکاران (۱۹۹۹) نیز نشان داده است که میزان آلودگی در تمامی گروه های سنی مورد بررسی تقریباً مشابه بوده و فاقد تفاوت معنی داری می باشد (۱۷). در بررسی حاجیکلابی و همکاران (۱۳۸۷) نیز ارتباطی بین آلودگی و فاکتور سن مشاهده نگردید (۸). اما در برخی از مطالعات انجام شده در سایر نقاط دنیا مشاهده گردید که میزان شیوع *نئوسپورا کنینوم* با سن گاو و گاو میش های مورد بررسی افزایش می یابد (۷ و ۱۰). بنابراین از

کشور تعداد ۲۳۷ نمونه سرمی را جهت حضور پادتن علیه *نئوسپورا کنینوم* بررسی نمودند که پادتن فوق در ۳۲٪ موارد یافت گردید. ایشان نشان دادند که ۲۵/۸٪ گاوهای نگهداری شده به روش صنعتی و ۴۳/۹٪ گاوهای بومی مبتلا به آلودگی به انگل بودند (۱۹) که بدیهی است نحوه نگهداری دام با توجه به سیر تکاملی انگل و انتقال تک یاخته توسط میزبان نهایی آن که سگ و سایر گوشتخواران مانند کایوت (۳) می باشند، می تواند دلیلی کاملاً منطقی جهت توجیه میزان آلودگی بیشتر در گاوهایی باشد که به روش سنتی نگهداری می گردند.

در بررسی انجام شده توسط صدر بزاز و همکاران (۲۰۰۴) روی ۸۱۰ راس گاو شیری در شهرستان مشهد با استفاده از روش IFA، ۱۲۳ راس گاو (۱۵/۱۸٪) مثبت بودند. البته متغیر نژاد نیز در تحقیق فوق بررسی گردید و مطالعات آماری اختلاف معنی داری را بین آلودگی در گله های هولشتاین (۱۴/۸۸٪) و نژاد قهوه ای سوئیس (۱۹/۶۰٪) نشان نداد. درضمن از تعداد ۱۳۹ راس گاو دچار سقط، ۱۹/۴۲٪ دارای تیت سرمی مثبت بودند (۱۶). در اهواز نیز طی بررسی انجام شده روی ۱۲۱ راس گاو هلشتاین و ۴۳۶ راس گاو دورگ، نتایج نشان داد که ۱۱۷ راس (۲۱ درصد) از گاوهای تحت مطالعه دارای پادتن ضد *نئوسپورا کنینوم* بودند و با اینکه اختلاف معنی داری بین فراوانی آلودگی در گاوهای هلشتاین (۷۱/۵۳٪) و گاوهای بومی (۹۳/۱۱٪) مشاهده گردید اما هیچگونه اختلاف محسوسی بین گروه های سنی متفاوت وجود نداشت (۸). در بررسی رومرو و همکاران (۲۰۰۵) در کاستاریکا و در ناحیه ای گرم و مرطوب مشابه شرایط آب و هوایی موجود در اهواز نیز آنتی بادی ضد تک یاخته مذکور در ۴۳/۲٪ گاوهای هولشتاین مشاهده گردید (۱۴). اما در بررسی انجام شده در مشهد با آب و هوای گرم و خشک، آلودگی تنها در ۱۵/۱۸٪ گاوهای مورد بررسی مشاهده گردید (۱۶) و این مطابقت دارد با تحقیق دیگری که در شهر کرمان با شرایط آب و هوایی

- neosporosis and *Neospora caninum*. *Cli. Mic. Rev.* 20: 323-367.
7. Fuji, T. U., Kasai, N., Nishi, S. M., Dubey, J. P., Gennari, S. M. (2001): Seroprevalence of *Neospora caninum* in female water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the southeastern region of Brazil. *Vet. Parasitol.* 99: 331-334.
 8. Haji Hajikolaei, M. R., Hamidinejat, H., Ghorbanpoor, M., Goraninejad, S. (2008): Serological study of *Neospora caninum* infection in cattle from Ahvaz area, Iran. *Int. J. Vet. Res.* 2, 1: 63-66.
 9. Innes, E. A., Wright, S., Bartly, P., Maley, S., Macaldowie, C., Esteban, R. I., Buxton, D. (2005): The host-parasite relationship in bovine neosporosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 108: 29-36.
 10. Kashiwazaki, Y., Giannechini, R. G., Lust, M., Gil, J. (2004): Seroepidemiology of neosporosis in dairy cattle in Uruguay. *Vet. Parasitol.* 120: 139-144.
 11. Moore, D. P., Campero, C. M., Odeon, A. C., Adela Posso, M., Cano, D., Leunda, M. R., Basso, W., Venturini, M. C., Spath, E. (2002): Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. *Vet. Parasitol.* 107: 303-316.
 12. Nourollahi Fard, S. R., Khalili, M., Aminzadeh, M. (2008): Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* in cattle in Kerman province, South east Iran. *Veterinarski Archiv.* 78: 253-259.
 13. Razmi, G. R., Maleki, M., Farzaneh, N. (2007): First report of *Neospora caninum*-associated bovine abortion in Mashhad area, Iran. *Parasitol. Res.* 100: 755-757.
 14. Romero, J. J., Breda, S. V., Vargas, B., Dolz, G., Frankena, K. (2005): Effect of neosporosis on productive and reproductive performance of dairy cattle in Coast Rica. *Theriogenol.* 64: 1928-1939.
 15. Sadrebazzaz, A., Habibi, G., Haddadzadeh, H. (2007): Evaluation of bovine abortion associated with *Neospora caninum* by different diagnostic techniques in Mashhad, Iran. *Parasitol. Res.* 100: 1257-1260.

یافته های فوق چنین نتیجه گیری می گردد که نه تنها با افزایش سن، میزان ایمنیت دام در برابر انگل افزایش نمی یابد، بلکه ممکن است به علت در معرض قرارگیری بیشتر دامها در سنین بالاتر، موجبات شیوع بیشتر آلودگی در دامها را سبب گردد.

درضمن بررسی آماری انجام شده در تحقیق حاضر ارتباط معنی داری را بین آلودگی به نئوسپوروزیس و تعداد سقط های انجام شده در گاوهای مورد بررسی نشان داد. به همین دلیل به نظر می رسد که این تک یاخته را می توان از عوامل مهم همه گیری های سقط جنین در گله های گاو در منطقه گرمسار و سایر نقاط کشور بشمار آورد و توصیه می گردد تا در صورت برخورد با موارد مشکوک سقط های مکرر در گله های گاوهای شیری، بررسی وضعیت آلودگی گله به نئوسپورا کتینوم مدنظر قرار گیرد.

فهرست منابع

1. Badieli, A., Mirza, M. (2000): Report of *N. caninum* infection in a dairy farm at Suburb of Tehran. In: Proceeding of the 12th Iranian Veterinary Congress, Tehran, Iran.
2. Boulton, J. G., Gill, P. A., Cook, R. W., Fraser, G. C., Harper, P. A. W., Dubey, J. P. (1995): Bovine *Neospora* abortion in north-eastern New South Wales. *Aust. Vet. J.* 72: 119-120.
3. Dubey, J. P. (2003): Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *The Korean J. Parasitol.* 41: 1-16.
4. Dubey, J. P., Carpenter, J. L., Speer, C. A., Topper, M. J., Uggla, A. (1988): Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 192: 1269-1285.
5. Dubey, J. P., Lindsay, D. S. (1996): A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.* 67: 1-59.
6. Dubey, J. P., Schares G., Ortega-mora, L. M. (2007): Epidemiology and control of

16. Sadrebazzaz, A., Haddadzadeh, H., Esmailnia, K. (2004): Serological prevalence of *Neospora caninum* in healthy and aborted dairy cattle in Mashhad, Iran. *Vet. Parasitol.* 124: 201-204.
17. Thilsted, J. P., Dubey, J. P. (1989): Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1: 205-209.
18. Wouda, W. (1999): Characteristics of *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995-1997). *J. Theriogenol.* 52: 233-245.
19. Youssefi, M. R., Arabkhazaeli, F., Tabar Molla Hassan, A. (2009): Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in rural and industrial cattle in northern Iran. *Iranian J. Parasitol.* 4: 20-23.