

Evaluation of anti-*Neospora caninum* antibody presence in cow's milk in Kashan

Hadadi MR¹, Sherafati R², Delavari M^{3*}, Arbabi M³, Gilasi HR⁴, Abed A¹

1- Bachelor of Laboratory Science, Student Research Committee, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

2- Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

3- Department of Medical Parasitology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

4- Social Determinants of Health (SDH) Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received: 2018/04/24 | Accepted: 2018/07/4

Abstract:

Background: Neosporosis is caused by a parasitic protozoan called *Neospora caninum*. This parasite can infect different species of domestic and wild animals. Some studies have reported the possibility of human infection with this parasite. The aim of this study was to evaluate the anti-*Neospora caninum* antibody in raw milk of cattle in Kashan city.

Materials and Methods: In this study, 187 milk samples were collected from two industrial farms in Kashan. The breed of all cows was Holstein. Before sampling, the livestock information such as age, race, history of abortion and stillbirth, the daily milk yield was recorded in the prepared forms. Fat of the samples was separated by centrifuge and lactoserums were collected. To determine anti-*Neospora caninum* antibody in milk samples, an indirect ELISA kit was used.

Results: Results showed that 18.8% (CI=18.18±5.53) of the samples were infected with *Neospora caninum*. No significant relationship was found between the infection with this protozoa and milk production and age of the cows ($P=0.84$). Also, the results showed that there was no significant relationship between abortion and infection with *Neospora*.

Conclusion: Considering the contamination rate of cow's milk in Kashan, the implementation of control programs in livestock has great importance. Also, considering the possibility of human infection with *Neospora*, the need for attention to these control programs is more and more evident.

Keywords: *Neospora caninum*, Cow's milk, Iran

* Corresponding Author.

Email: mdelavari1@gmail.com

Tel: 0098 912 384 0052

Fax: 0098 315 545 1112

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, August, 2018; Vol. 22, No 3, Pages 333-338

Please cite this article as: Hadadi MR, Sherafati R, Delavari M, Arbabi M, Gilasi HR, Abed A. Evaluation of anti-*Neospora caninum* antibody presence in cow's milk in Kashan. *Feyz* 2018; 22(3): 333-8.

ارزیابی حضور آنتی بادی ضد نئوسپورا کانینوم در شیر خام گاوهای شهرستان کاشان

محمدرضا حدادی^۱، رضا شرافتی^۲، مهدی دلاوری^{۳*}، محسن اربابی^۴، حمیدرضا گیلانی^۵، علیرضا عابد^۱

خلاصه:

سابقه و هدف: نئوسپوروزیس به وسیله تک یاخته انگلی به نام نئوسپورا کانینوم ایجاد می شود. این انگل قادر است گونه های مختلفی از حیوانات اهلی و وحشی را آلوده کند. برخی مطالعات احتمال آلوده شدن انسان به این انگل را گزارش کرده اند. هدف از این مطالعه تعیین وجود آنتی بادی ضد نئوسپورا در شیر خام گاوهای شهرستان کاشان بود.

مواد و روش ها: از دو دامداری صنعتی شهرستان کاشان ۱۸۷ نمونه شیر جمع آوری شد. نژاد کلیه گاوها هلشتاین بود. قبل از نمونه گیری اطلاعات دام نظیر سن، نژاد، سابقه سقط جنین و مرده زایی، و رکورد تولید شیر روزانه در فرم های تهیه شده ثبت گردید. چربی نمونه ها با استفاده از ساترifiوژ جدا شده و لاکتوزم جمع آوری گردید. برای مشخص کردن وجود آنتی بادی ضد نئوسپورا در نمونه های شیر از روش الایزای غیر مستقیم استفاده شد.

نتایج: میزان ۱۸/۱۸ درصد ($CI=18/18 \pm 5/53$) از نمونه ها آلوده به نئوسپورا بودند. بین آلودگی با تک یاخته و میزان تولید شیر و نیز سن گاوها ارتباط معنی داری مشاهده نشد ($P=0/84$). آنالیز آماری نشان داد که بین سقط جنین و آلودگی به نئوسپورا نیز ارتباط معنی داری وجود ندارد.

نتیجه گیری: باتوجه به میزان آلوده بودن شیر گاوها در شهرستان کاشان، اتخاذ برنامه های کنترلی در دامها از اهمیت بالایی برخوردار است. همچنین، باتوجه به احتمال آلودگی انسان به نئوسپورا، لزوم توجه به این برنامه های کنترلی بیش از پیش مشخص می شود.

واژگان کلیدی: نئوسپورا کانینوم، شیر گاو، ایران

دو ماهنامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و دوم، شماره ۳، مرداد و شهریور ۹۷، صفحات ۳۳۸-۳۳۳

مقدمه

عامل نئوسپوروزیس تک یاخته ای به نام نئوسپورا کانینوم بوده که از شاخه ای کمپلکسا می باشد. این انگل قادر است گونه های مختلفی از حیوانات خانگی و وحشی را آلوده کند [۱-۳]. اگرچه در طبیعت آلودگی با آن در سگ، گاو، گوسفند و بز دیده می شود [۴]، ولی سگ و کایوت به عنوان میزبان نهایی این تک یاخته شناخته می شوند و سایر حیوانات خون گرم به عنوان میزبان واسط و تصادفی این انگل بوده که از طریق خوردن اوو سیست های دفع شده از مدفوع سگ آلوده می شوند [۵،۶].

اگرچه وجود آنتی بادی علیه نئوسپورا کانینوم در انسان گزارش شده، ولی حضور انگل در بافت انسان گزارش نشده است. بنابراین جنبه ژئونوز بودن این بیماری هنوز جای ابهام دارد [۷،۸]. نئوسپوروزیس یکی از عوامل اصلی سقط جنین گاو در جهان است [۹]. این بیماری به خاطر انتشار وسیع و خسارات اقتصادی دارای اهمیت قابل توجه است [۱۰]. آلودگی در گاو اغلب به صورت مزمن بوده و در تمام طول زندگی حیوان آلوده می ماند [۱۱]. انتقال بیماری در گاو به صورت عمودی و در حیوان آبستن از طریق جفت به جنین صورت گرفته و در بارداری های بعدی نیز ادامه می یابد. واکسنی که بتواند آلودگی را از طریق درون زاد (جفتی) متوقف کند، در دسترس نیست [۱۲]. همچنین، راه حلی برای پیش گیری یا بهبود این آلودگی موجود نیست. از این رو، استراتژی در صنعت دام پروری به منظور کاهش شیوع و تلفات ناشی از نئوسپورا کانینوم بر این است که دام های آلوده شناسایی شده و با درمان دام دوره زندگی انگل کوتاه شود [۱۳]. از آنجاکه تشخیص نئوسپوروزیس صرفا بر پایه علائم بالینی امکان پذیر نمی باشد [۱۴]، می توان انگل را با تکیه بر آزمایشات سرولوژیک تشخیص داد که این رویکرد اکثرا مبتنی بر روش های غیر مستقیم و از طریق شناسایی آنتی بادی ضد انگل در خون دام های مبتلا صورت می گیرد [۱۵]. همچنین، می توان وجود آنتی بادی علیه نئوسپورا کانینوم را در شیر ردیابی کرد [۱۶]. آنتی بادی هایی که در شیر تولید می شوند، همراه

^۱ کارشناس علوم آزمایشگاهی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

^۲ استادیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

^۳ استادیار، گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

^۴ دانشیار، گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

^۵ استادیار، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی موثر بر سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:

کاشان، کیلومتر ۵ بلوار قطب روانی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، دانشکده پزشکی،

گروه انگل شناسی

تلفن: ۰۹۱۲۳۸۴۰۰۵۲

دورنویس: ۰۳۱۵۵۴۵۱۱۱۲

پست الکترونیک: mdelavari1@gmail.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۴/۱۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۲/۴

شماره نمونه‌ها روی آنها ثبت گردید. نمونه‌ها به سرعت و در کنار یخ به منظور جلوگیری از ازدیاد بار میکروبی در شیر به آزمایشگاه انگل شناسی منتقل شد.

خامه‌گیری نمونه‌ها

پس از انتقال به آزمایشگاه انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی کاشان، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰ RPM سانتریفیوژ شدند. چربی به علت سبکی در سطح نمونه و لاکتوسرم در سطح زیرین قرار می‌گرفت که به وسیله سمپلر جدا گردید. لاکتوسرم جدا شده به منظور انجام تست الایزا در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری استریل جمع‌آوری شده و تا زمان انجام آزمایش در برودت ۷۰- نگهداری شد.

آزمون الایزای غیر مستقیم

به منظور انجام آزمایش غیرمستقیم جهت تشخیص آنتی‌بادی ضد نتوسپورا از کیت ID Screen® Neospora Caninum Indirect Multi-species-IDVet ساخته کشور فرانسه استفاده شد. آماده‌سازی نمونه شیر و مراحل انجام تست طبق دستورالعمل کیت انجام گرفت و OD کلیه نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر و با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (Biotek) خوانده شد. S/P (نمونه به کنترل) با استفاده از فرمول زیر و طبق دستورالعمل کیت محاسبه شد و مقادیر بزرگ‌تر یا مساوی با ۵۰ درصد به عنوان مثبت تلقی گردید:

$$S/P \text{ نسبت } (\%) = \frac{OD \text{ تست} - OD \text{ منفی}}{OD \text{ کنترل} - OD \text{ منفی}} \times 100$$

برای آنالیز آماری، پس از ثبت اطلاعات در نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ از آزمون دقیق فیشر استفاده شد.

نتایج

از مجموع ۱۸۷ نمونه مورد بررسی ۳۴ نمونه (۱۸/۱۸ درصد) از لحاظ آنتی‌بادی ضد نتوسپورا کانیوم مثبت بود ($CI=18/18 \pm 5/53$). از کل نمونه‌ها ۷ نمونه (۳/۷ درصد) و از بین نمونه‌های مثبت نیز ۳ نمونه سابقه سقط داشتند. آنالیز آماری نشان داد بین حضور آنتی‌بادی ضد نتوسپورا و سقط جنین در گاوهای مورد بررسی ارتباط معنی‌داری وجود ندارد (جدول شماره ۱). همچنین، آنالیز آماری نشان داد بین سن گاو و میزان شیر تولیدی با آلودگی به نتوسپورا کانیوم ارتباط معنی‌داری وجود ندارد ($P>0/05$).

با سرم به غدد پستانی منتقل می‌گردند. IgG اولین کلاس از ایمونوگلوبین‌ها است که در شیر گاو تولید می‌شود [۱۷]. بررسی‌ها نشان می‌دهد حساسیت الایزای تجاری که برای استفاده از شیر گاو سازگار شده در مقایسه با الایزای سرمی ۹۰ درصد می‌باشد [۱۸]. بررسی نمونه شیر مزایایی نسبت به بررسی نمونه خون دارد؛ از جمله اینکه جمع‌آوری نمونه شیر راحت‌تر بوده و با هزینه کمتری انجام می‌شود. از طرف دیگر این روش نه‌اجمی نبوده و باعث کاهش استرس وارد شده به گاو می‌شود [۱۹]. این تک‌یاخته قادر است از طریق مصرف شیر خام گاو آلوده یا تانک‌های جمع‌آوری کننده شیر خام آلوده سبب بیماری‌زایی در انسان شود [۲۰]. مطالعات انجام شده در برزیل آلودگی نتوسپوروزیس را در اقشار مختلف نشان داده است؛ از جمله اینکه ۳۵ درصد افراد مبتلا به ایدز آنتی‌بادی علیه نتوسپورا کانیوم داشته‌اند [۲۱]. مطالعه مشابه دیگری نشان داد از ۱۷۲ فردی که از نظر سرولوژیکی توکسو-پلاسموزیس مثبت بودند، ۱۲ نفر آلودگی به نتوسپورا کانیوم داشتند [۲۲]. باتوجه به انتشار وسیع آلودگی به نتوسپورا کانیوم و خسارات اقتصادی قابل توجه ناشی از آن می‌توان با شناسایی و ردیابی گاوهای آلوده با انجام اقدامات پیشگیرانه مناسب موجبات کاهش آلودگی و عوارض ناشی از آن را فراهم نمود. هدف از انجام مطالعه حاضر تعیین فراوانی آنتی‌بادی ضد نتوسپورا کانیوم در شیر گاوهای شهرستان کاشان است. از آنجاکه تاکنون در منطقه کاشان هیچ مطالعه‌ای در این زمینه صورت نگرفته، انجام مطالعه حاضر در دامداری‌های منطقه کاملاً ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها

در این مطالعه توصیفی که طی سال ۱۳۹۶ در کاشان انجام شد، با احتمال شیوع ۱۰ درصد و با ۹۵ درصد اطمینان تعداد نمونه مورد نیاز ۱۸۷ عدد محاسبه شده و این نمونه‌ها از دو دامداری صنعتی شهرستان کاشان اخذ گردید. نژاد کلیه گاوهای هلاشتاین بود. جهت نمونه‌گیری در ساعات شیردوشی به دامداری‌ها مراجعه شده و قبل از نمونه‌گیری، اطلاعات دام نظیر سن، نژاد، سابقه سقط جنین و مرده‌زایی و رکورد تولید شیر روزانه در فرم‌های مخصوص اطلاعاتی ثبت گردید. پس از قرارگیری گاو در سالن شیردوشی و قبل از نصب خرچنگی‌های دستگاه شیردوش به منظور جلوگیری از آلودگی ثانویه شیر، پستان با آب ولرم شستشو شده و سپس خشک گردید. نمونه‌گیری از دام به‌طور مستقیم و از هر ۴ پستان دام انجام شد. شیر هر گاو به‌صورت جداگانه در فالکون‌های ۵۰ میلی‌لیتر استریل جمع‌آوری شده و

جدول شماره ۱- درصد آلودگی نمونه‌های شیر گاو مورد بررسی به آنتی‌بادی ضد نتوسپورا و تعیین رابطه بین نتایج با سقط جنین در دام‌های مورد

مطالعه

نتیجه تست سقط جنین	مثبت	منفی	جمع	مقایسه دو گروه
دارد	۳(۸/۸)	۴(۲/۷)	۷(۳/۷)	
ندارد	۳۱(۹۱/۲)	۱۴۹(۹۷/۳)	۱۸۰(۹۶/۳)	$P=۰/۸۴$
جمع	۳۴	۱۵۳	۱۸۷	
(CI=۱۸/۱۸±۵/۵۳)				

بحث

مطالعه حاضر که برای اولین بار در منطقه کاشان انجام شد، میزان آلودگی گاوهای گاوداری‌های کاشان به تک‌یاخته انگلی نتوسپورا کانینوم را مورد بررسی قرار داد. خسارت اقتصادی سالیانه ناشی از آلودگی به این تک‌یاخته به صنعت گاوداری در سرتاسر جهان ۱/۲۹۸ بیلیون دلار از نظر گوساله‌زایی و کاهش میزان تولید شیر تخمین زده شده که از این رقم حدود ۸۴۲/۹ میلیون دلار مربوط به ضرر گاوداری‌های شیری می‌باشد. کل هزینه‌های سالیانه مربوط به سقط جنین نتوسپورایی در گاوداری‌های گوشتی نیوزلند حدود ۱/۱ میلیون دلار و در ایالات متحده حدود ۵۴۶/۳ میلیون دلار برای گاوداری‌های شیری گزارش شده است [۱۰]. بیشتر مطالعات انجام گرفته در ایران به منظور بررسی میزان آلودگی به نتوسپورا در گاوها مبتنی بر جستجوی آنتی‌بادی‌های ضد انگل در سرم خون بوده و مطالعات محدودی روی شیر انجام شده است. از جمله می‌توان به مطالعه طاهری و همکاران (۱۳۹۵) در شهریار با استفاده از روش‌های سرم‌شناسی اشاره کرد که شیوع آلودگی را ۲۲ درصد گزارش کرده است [۲۳]. تاکنون مطالعات صورت گرفته در ایران شیوع آلودگی را حداقل ۷ درصد در گاوهای اردبیل و حداکثر ۵۷/۳ درصد در گاوهای بابل نشان داده است [۲۴]. نتایج مطالعه حاضر نشان داد شیوع آنتی‌بادی مثبت علیه نتوسپورا کانینوم در گاوهای منطقه کاشان ۱۸/۱۸ می‌باشد که این میزان در مقایسه با نتایج مطالعات صورت گرفته روی سرم خون میزبانان انگل در دیگر مناطق کشور عدد میانه‌ای است. عوامل مختلفی از قبیل مدیریت دامداری‌ها، تعداد نمونه‌های مورد بررسی، حضور سگ‌ها در مناطق پرورش دام‌ها، نحوه اجرای مطالعه و شرایط آب و هوایی منطقه مورد مطالعه را می‌توان در شیوع آلودگی به این انگل موثر دانست [۲۵-۲۸]. آب و هوای گرم و خشک کاشان برای زنده ماندن اوویست دفع شده انگل از میزبان نهائی شرایط مناسبی نیست و از همین رو است که در مقایسه با مناطق شمالی کشور با نسبت آلودگی بالا، شیوع آلودگی گاوهای این منطقه از رقم پائین‌تری برخوردار می‌باشد. در

مطالعات انجام شده قبلی، میزان آلودگی به نتوسپورا کانینوم در شیر دام‌ها مورد بررسی قرار نگرفته و این مطالعه برای اولین بار در منطقه تحت بررسی به این موضوع پرداخته است. همچنین، نتایج مطالعه حاضر نشان داد ارتباط معنی‌داری بین آلودگی به نتوسپورا و میزان شیر تولیدی وجود ندارد. از طرف دیگر تحقیق حاضر نشان داد بین سن گاو و مثبت شدن تست سرولوژی ارتباط معنی‌داری وجود ندارد. این امر نشان‌دهنده این واقعیت است که گاو‌های شیرده در سنین مختلف احتمال آلودگی به نتوسپورا را دارند. رزمی و همکاران (۲۰۰۶) در شهر مشهد میزان آلودگی سرم گاوهای منطقه را با استفاده از روش سرولوژیک ۴۶ درصد گزارش کرده‌اند [۲۹]. در بررسی نورالهی فرد و همکاران (۲۰۰۸) که به منظور بررسی شیوع آنتی‌بادی نتوسپورا در گاوهای استان کرمان انجام گرفت نشان داده شد از ۲۸۵ نمونه سرمی ۳۶ مورد (۱۲/۶ درصد) آلوده به نتوسپورا کانینوم بودند [۳۰]. حاجی کولائی و همکاران، میزان آلودگی سرم خون گاوهای هلاستاین منطقه اهواز را ۵۳/۷۱ درصد گزارش کرده‌اند [۳۱]. در مطالعه یوسفی و همکاران میزان شیوع آنتی‌بادی سرمی ضد نتوسپورا در سه منطقه اردبیل، گرمسار و بابل به ترتیب ۷، ۴۵/۲ و ۵۷/۳ درصد گزارش شده است [۳۱]. صالحی و همکاران در تهران، ۳۸/۸ درصد گاوهای مورد مطالعه از لحاظ آنتی‌بادی سرمی ضد نتوسپورا را مثبت اعلام کردند [۳۲]. صدر بزاز و همکاران طی دو بررسی جداگانه در مشهد در سال‌های ۲۰۰۴ و ۲۰۰۷ با استفاده از روش سرولوژیک IFA میزان آلودگی به نتوسپورا را به ترتیب ۱۵/۱۸ و ۳۳ درصد گزارش کرده‌اند [۳۳، ۳۴]. در مطالعه طاهری و همکاران در شهریار ۲۲ درصد گاوهای مورد بررسی آنتی‌بادی ضد نتوسپورا در شیر خود داشتند [۲۳]. در بررسی Hurkova و همکاران که به منظور بررسی شیوع نتوسپورا کانینوم در شیر گاو در جمهوری چک انجام گرفت، از ۴۹۵ نمونه مورد مطالعه ۵ مورد (۱/۰۱ درصد) آلودگی به نتوسپورا را نشان دادند [۳۵]. در مطالعه دیگری در مصر ۷/۹۲ درصد انسان‌ها و ۲۰/۳ درصد گاوها از لحاظ آنتی‌بادی ضد نتوسپورا مثبت بوده‌اند [۳۶]. Frossling و

[۴۱]. علاوه بر این، در یک مطالعه دیگر ۶/۷ درصد از افراد مورد بررسی در کره جنوبی مثبت تشخیص داده شده‌اند [۴۲]. علاوه بر شیر، نقش آغوز دام نیز به عنوان یک فاکتور بالقوه در انتقال بیماری به انسان مورد تاکید قرار گرفته است [۴۳].

نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج به دست آمده و شیوع ۱۸/۱۸ درصدی آنتی‌بادی ضد نئوسپورا در شیر گاوهای منطقه کاشان و نیز احتمال انتقال این انگل به انسان از طریق شیر، بررسی میزان آلودگی دامداری‌ها و اجرای برنامه‌های کنترلی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. نتایج به دست آمده می‌تواند در برنامه‌های بهداشتی و کنترلی مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در قالب طرح تحقیقاتی دانشجویی انجام شده است و نویسندگان از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان به خاطر تامین منابع مالی طرح (طرح تحقیقاتی شماره ۹۵۰۰۵) صمیمانه تشکر و قدر دانی می‌نمایند.

References:

- [1] Gondim LF, McAllister MM, Pitt WC, Zemlicka DE, et al. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 2004; 34(2): 159-16.
- [2] King JS, Slapeta J, Jenkins DJ, Al-Qassab SE, Ellis JT, Windsor PA, et al. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 2010; 40(8): 945-50.
- [3] Dubey JP, Jenkins MC, Rajendran C, Miska K, Ferreira LR, Martins J, et al. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol* 2011; 181(2-4): 382-7
- [4] Dubey JP. Neosporosis in cattle. *Vet Clin Food Anim* 2005; 21(2): 473-83.
- [5] Dubey JP. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol* 2003; 41(1): 1-16.
- [6] Pena HF, Soares RM, Ragozo AM, Monteiro RM, Yai LE, Nishi SM, Gennari SM. Isolation and molecular detection of *Neospora caninum* from naturally infected sheep from Brazil. *Vet Parasitol* 2007; 147(1-2): 61-6.
- [7] Lobato J, Silva DAO, Mineo TWP, Amaral JDHF, Segundo GRS, Costa-Cruz JM, et al. Detection of immunoglobulin G antibodies to *Neospora caninum* in humans: high seropositivity rates in patients who are infected by human immunodeficiency virus or have neurological disorders. *Clin Vaccine Immunol* 2006; 13(1): 84-89.
- [8] Tranas J, Heinzen RA, Weiss LM, McAllister MM. Serological evidence of human infection with the

همکاران در سال ۲۰۰۸ در کشور سوئد با انجام روش الایزای غیرمستقیم روی ۲۴۷ نمونه شیر، موارد مثبت را ۸/۳ درصد گزارش نموده‌اند [۳۷]. نئوسپورا کانینوم باعث سقط جنین در گاوها می‌شود. مطالعات مختلف در جهان نشان داده است که گاوهای سقط جنین شده از لحاظ آلودگی به نئوسپورا نیز مثبت بوده‌اند، در حالی‌که در مطالعه حاضر از کل نمونه‌های مورد بررسی ۷ گاو دچار سقط جنین شده بودند که از این تعداد ۳ گاو به نئوسپورا نیز آلوده بودند. نتایج مطالعه معیر و بدیعی و همکاران نیز نشان داد که علت ۱۹ مورد از ۷۵ جنین سقط شده مورد بررسی آلودگی با نئوسپورا کانینوم بوده است [۳۸]. این تک‌یاخته در انسان نیز می‌تواند آلودگی نئوسپوروزیس ایجاد کند. مطالعات گذشته یکی از مهم‌ترین مواد غذایی انتقال‌دهنده این تک‌یاخته به انسان را شیر خام و شیرهای آلوده شده در مراکز جمع‌آوری شیر گزارش کرده‌اند [۳۹]. مطالعات صورت گرفته در زمینه شیوع آلودگی به نئوسپورا کانینوم در کشورهای مختلف نشان می‌دهد که امکان آلودگی انسان به این انگل امری رایج است. در یک مطالعه صورت گرفته در ایرلند شمالی ۸ درصد افراد مورد بررسی مثبت بودند [۴۰]. در مطالعه مشابهی که در آمریکا انجام شد شیوع ۶/۷ درصد آنتی‌بادی ضد نئوسپورا در افراد مورد مطالعه نشان داده شد

- protozoan *Neospora caninum*. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999; 6(5): 765-7.
- [9] Dubey JP, Schares G. Neosporosis in animals – The last five years. *Vet Parasitol* 2011; 180(1-2): 90-108.
 - [10] Hemphill A, Gottstein B. *Neospora caninum* and neosporosis recent achievements in host and parasite cell biology and treatment. *Acta Parasitol* 2006; 51(1): 15-25.
 - [11] Bjorkman C, Johansson O, Stenlund S, Holmadahi OJ, Uggla A. Neosporaspecies infection in herd dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 1996; 208(9): 1441-4.
 - [12] Trees AJ, Williams DJ. Endogenous and exogenous transplacental Infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Terends Parasitol* 2005; 21(12): 558-61.
 - [13] Frossling J, Uggla A, Bjorkman C. Prevalence and transmission of *Neospora caninum* within infect Swedish dairy herd. *Vet Parasitol* 2005; 128(3-4): 209-218.
 - [14] Dubey JP, Schares G. Diagnosis of bovin neosporiosis. *Vet Parasitol* 2006; 140(1-2): 1-34.
 - [15] Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora Clin, LM. Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20(2): 323-67.
 - [16] Hernandez J, Risco C, Donovan A. Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc* 2001; 219(5): 632-5.

- [17] Hurley WL, Theil PK. Perspectives on Immunoglobulins in Colostrum and Milk. *Nutrients* 2011; 3(4): 442-74.
- [18] Schares G, Bärwald A, Staubach C, Wurm R, Rauser M, Conraths FJ, et al. Adaptation of a commercial ELISA for the detection of anti body against *Neospora caninum* in the bovine milk. *Vet Parasitol* 2004; 120(1-2): 55-63.
- [19] Wapenaar W, Barkema HW, O'Handley RM, Bartels CJ. Use of an enzyme-linked immunosorbent assay in bulk milk to estimate the prevalence of *Neospora caninum* on dairy farms in Prince Edward Island. *Can Vet J* 2007; 48 (5): 493-9.
- [20] Moskwa B, Cabaj W. The role of the colostrum and milk in *Neospora caninum* transmission. *Helminthologia* 2007; 44(3): 126-9.
- [21] Lobato J, Silva DA, Mineo TW, Amaral JD, Segundo GRS, Costa-Cruz JM, et al. Detection of immunoglobulin G antibodies to *Neospora caninum* in humans: high seropositivity rates in patients who are infected by human immunodeficiency virus or have neurological disorders. *Clin Vaccine Immunol* 2006; 13(1): 84-9.
- [22] Tranas J, Heinzen RA, Weiss LM, McAllister MM. Serological evidence of human infection with the protozoan *Neospora caninum*. *Clin Diagn Lab Immun* 1999; 6(5): 765-7.
- [23] Taheri Lak K, Sadraei J, Dalimi A. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in milk samples from dairy farms in the Shahriyar. *Pajouhesh and Sazandegi* 2017; 2(115): 142-6.
- [24] Youssefi M, Ebrahimpour RS, Esfandiari B. Survey of *Neospora Caninum* Antibody in Aborting Cattle from Three Climate Regions of Iran. *World Appl Sci J* 2010; 10(12): 1448-51.
- [25] Barling KS, McNeill JW, Paschal JC, McCollum FT, Craig TM, Adams LG, et al. Ranch-management factors associated with antibody seropositivity for *Neospora caninum* in consignments of beef calves in Texas USA. *Prev Vet Med* 2001; 52(1): 53-61.
- [26] Corbellini LG, Driemeier D, Cruz CF, Gondim LF, Wald V. Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Vet Parasitol* 2002; 103(3): 195-202.
- [27] Lindsay DS, Dubey JP, Duncan RB. Confirmation that dogs are definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol* 1999; 82 (4): 327-33.
- [28] Gerald W. Toxoplasmosis of Animals and Humans, Second Edition. *J Parasitol* 2010; 96(5): 940.
- [29] Razmi GR, Mohammadi GR, Garrosi T, Farzaneh N, Fallah AH, Maleki M. Sero epidemiology of neospora caninum infection in dairy cattle herds in mashad area. *Vet Parasitol* 2006; 135(2): 187-9.
- [30] Fard SR, Khalili M, Aminzadeh A. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in cattle in Kerman province, South East Iran. *Veterinarski Arhiv* 2008; 78(3): 253
- [31] Hajikolaie H, Rahim M, Hamidinejat H, Ghorbanpoor M, Goraninejad S. Serological study of *Neospora caninum* infection in cattle from Ahvaz area, Iran. *Int J Vet Res* 2008; 2(2): 63-6.
- [32] Salehi N, Haddadzadeh HR, Shayan P, VojganiM, Bolourchi M. Serological study of *Neospora caninum* in pregnant dairy cattle in Tehran, Iran. *Int J Vet Res* 2010; 4(2): 113-6.
- [33] Sadrebazzaz A, Haddadzadeh H, Esmailnia K, Habibi G, Vojgani M, Hashemifesharaki R. Serological prevalence of *Neospora caninum* in healthy and aborted dairy cattle in Mashhad, Iran. *Vet Parasitol* 2004; 124(3-4): 201-4.
- [34] Sadrebazzaz A, Habibi G, Haddadzadeh H, Ashrafi J. Evaluation of bovine abortiob associated with *Neospora caninum* by differenet diagnostic techniques in Mashhad, Iran. *Parasitol Res* 2007; 100(6): 1257-60.
- [35] Hurkova L, Halova D, Modry M. The prevalence of *Neospora caninum* antibodies in bulk milk of dairy herds in the Czech Republic: a case repor. *Vet Med Czech* 2005; 50(12): 549-52.
- [36] Ibrahim HM, Huang P, Salem TA, Talaat RM, Nasr MI, Xuan X, Nishikawa Y. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in northern Egypt. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 80(2): 263-7.
- [37] Frossling J, Dtvedt A, Lindberg A, Rkman C. Spatial analysis of *Neospora caninum* distributio cattle from Sweden. *Geospat Health* 2008; 3(1): 39-45.
- [38] Moayer F, Badiei A. Histopathological fnding of aborted fetuses caused by Neosporosis in dairy herds of Tehran. *European Society Veterinary Pathology 25th Meeting* 2006; 3: 155-66.
- [39] Moskwa B, Cabaj W. The role of the colostrum and milk in *Neospora caninum* transmission. *Helminthologia* 2007; 44(3): 126-9.
- [40] Graham DA, Calvert V, Whyte M, Marks J. Absence of serological evidence for human *Neospora caninum* infection. *Vet Rec* 1999; 144(24): 672-3.
- [41] Tranas J, Heinzen RA, Weiss LM, McAllister MM. Serological evidence of human infection with the protozoan *Neospora caninum*. *Clin Diagn Lab Immun* 1999; 6(5): 765-7.
- [42] Nam HW, Kang SW, Choi WY. Antibody reaction of human anti-*Toxoplasma gondii* positive and negative sera with *Neospora caninum* antigens. *Korean J Parasitol* 1998; 36(4): 269-75.
- [43] Corbellini LG, Smith DR, Pescador CA, Schmitz M, Correa A, Steffen DJ, Driemeier D. Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. *Prev Vet Med* 2006; 74(2-3): 130-41.