

## فراوانی آنتی بادی ضد نئوسپورا کانینوم در نمونه های شیر تعدادی از گاوداری های شهرستان شهریار

• کمال طاهری لک

دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته انگل شناسی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تهران ، تهران- ایران

• جاوید صدرائی (نویسنده مسئول)

گروه انگل شناسی دانشگاه تربیت مدرس تهران ، تهران- ایران

• عبدالحسین دلیمی اصل

گروه انگل شناسی دانشگاه تربیت مدرس تهران ، تهران- ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۹۵ تاریخ پذیرش: مرداد ۹۵

Email: sadraej@modares.ac.ir



### چکیده

نئوسپورا کانینوم انگل داخل سلولی اجباری از شاخه آپی کمپلکسا است که باعث سقط جنین در گاو و فلج عصبی عضلانی در سگ می گردد. با توجه به ضررهای اقتصادی وارده به صنعت دامپروری در اثر سقط جنین و کاهش تولید شیر ناشی از نئوسپورا کانینوم، فراوانی این تک یاخته در گاوهای شیری منطقه شهریار مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به پراکندگی دامی ۱۵۰ نمونه شیر خام از ۵ دامداری گاو شیری از ۴ منطقه شهریار جمع آوری و با روش الایزای غیر مستقیم از لحاظ وجود آنتی بادی ضد نئوسپورا کانینوم مورد ارزیابی قرار گرفتند. از مجموع ۱۵۰ نمونه، ۲۲٪ از لحاظ وجود آنتی بادی ضد نئوسپورا کانینوم مثبت برآورد گردید. با استفاده از آزمون مجذور کای بیشترین میزان شیوع در گاوهای بالاتر از ۴ سال سن مشاهده گردید (P-value=۰/۰۳۹) آزمون الایزای غیر مستقیم بکار رفته در شیر بنظر می رسد مفید و مقرون به صرفه برای نظارت بر برنامه های استراتژی کنترل نئوسپورا کانینوم در مزارع پرورش گاو شیری باشد.

کلمات کلیدی: نئوسپورا کانینوم، شیر، الایزا، شهریار

• Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 115 pp: 142-146

Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in milk samples from dairy farms in the Shahriyar

By: Taheri Lak, k., Department of Parasitology, Faculty of Medical Sciences Tarbiat Modares University, Tehran – Iran. Sadraei, J., (Corresponding Author) Department of Parasitology, Faculty of Medical Sciences Tarbiat Modares University, Tehran – Iran. and Dalimi, A., Department of Parasitology, Faculty of Medical Sciences Tarbiat Modares University, Tehran – Iran.

Email: sadraej@modares.ac.ir

Received: 2016-06-20 Accepted: 2016-07-24

*Neospora caninum* is an obligate intracellular parasite in the *Apicomplexa phylum*. The parasite causes abortion in cattle and Neuromuscular paralysis in dog. Given the economic losses incurred by abortion caused by *Neospora caninum* and reduced milk production, in this study the frequency of *Neospora* was evaluated by ELISA in the Shahriyar area. 150 samples of raw milk of 5 from dairy cattle herds collected and tested for the detection of antibodies against *Neospora caninum* by ELISA. 22% of the samples were positive for the presence of antibodies against *Neospora*. The highest prevalence was observed in cows older than 4 years of age (P-value =0.039). The indirect ELISA used in milk seems to be a useful for epidemiological surveys, and to increase the level of control strategy of *Nespora caninum* in dairy cattle farms.

Key words: *Neospora caninum*, milk, ELISA, Shahriyar

#### مقدمه

نئوسپورا کانینوم تک یاخته کوکسیدیائی از شاخه آپی کمپلکسا باعث سقط جنین در گاو و فلج عصبی - عضلانی در سگ می‌گردد (۱) و در طیف وسیعی از حیوانات مختلف نیز وجود نئوسپوروزیس ناشی از نئوسپورا کانینوم گزارش شده است (۵). تا مدت‌ها سگ به عنوان میزبان نهایی نئوسپورا کانینوم شناخته می‌شد (۱۵). تحقیقات جدید مشخص کرد که کاپوت (سگ - گرگ)، گرگ خاکستری و دینگو استرالیائی نیز می‌توانند بعنوان میزبان نهائی باشند (۱۴). گاو و طیف وسیعی از حیوانات خونگرم از جمله خود سگ، گوسفند، بز، اسب و آهو میزبانان واسط این انگل می‌باشند (۳). تا کنون هیچ واکنشی که آلودگی از طریق درون زادی (جفتی) را بتواند متوقف کند ارائه نشده است (۲۳). همچنین دارویی برای پیشگیری یا بهبود این آلودگی وجود ندارد. در نتیجه استراتژی برای کاهش شیوع و تلفات ناشی از نئوسپورا کانینوم در صنعت دامپروری بر این است که دوره زندگی انگل قطع و دام‌های آلوده حذف شوند (۷). گاوهای بالغ غیر آبستن که به نئوسپورا کانینوم آلوده می‌شوند هیچ نشانه‌ای از بیماری نشان نمی‌دهند اما آلودگی در گاو آبستن ممکن است موجب سقط جنین یا تولد گوساله ضعیف و دارای آلودگی تحت بالینی و یا گوساله سالم گردد (۹). گاو آبستن در هر سنی که باشد در اثر عفونت، از ماه سوم آبستنی تا آخر دوره آبستنی ممکن است سقط کند هر چند، عفونت با نئوسپورا در مراحل اولیه آبستنی موجب بروز سقط نمی‌گردد (۶). اکثر سقط‌های

ایجاد شده در ماه‌های ۵ و ۶ آبستنی رخ می‌دهند که ممکن است مرگ جنین در رحم، جذب آن، مومیائی شدن و مرده‌زائی اتفاق بیافتد سقط ناشی از نئوسپوروزیس در سراسر طول سال رخ می‌دهد (۱۶). تشخیص نهائی سقط جنین مرتبط با نئوسپورا کانینوم بر اساس آزمایش در جنین سقط شده، که شامل مشاهده آسیب‌های اختصاصی وارده بر جنین است که این مشاهدات با روش ایمینو پراکسیداز یا واکنش زنجیره ای پلیمرز در بافت‌های جنینی نشان داده شده است هر چند در بسیاری از نمونه‌ها، مواد جنینی در دسترس نمی‌باشد در این مواقع تشخیص احتمالی، بر اساس ردیابی آنتی بادی‌های علیه نئوسپورا در سرم یا شیر دام‌ها می‌باشد (۴). در ایران تا بحال چندین بررسی در مورد بیماری نئوسپوروزیس و شیوع آن در گاو بر روی نمونه‌های سرم خون انجام پذیرفته است. اما مطالعه‌ای جهت ردیابی آنتی‌بادی ضد نئوسپورا کانینوم با روش الایزای غیر مستقیم در شیر خام انجام نگرفته است. با توجه به سادگی نمونه‌برداری، در این مطالعه تلاش شده است که فراوانی آنتی بادی ضد نئوسپورا کانینوم در نمونه‌های شیر تعدادی از گاوداری‌های شهرستان شهریار با روش الایزای غیر مستقیم تعیین شود.

#### مواد و روش کار

در این تحقیق شهریار و حومه شهریار بر اساس پراکندگی دامی به ۴ منطقه تقسیم‌بندی گردید و تعداد ۱۵۰ نمونه شیر خام از ۵ دامداری اخذ گردید. دامدارها بر اساس رعایت بهداشت دامداری و شرایط سالن

دو بررسی جداگانه در مشهد در سال های (۲۰۰۴ و ۲۰۰۷) با استفاده از روش IFAT میزان آلودگی را به ترتیب ۱۵/۱۸ درصد و ۳۳ درصد اعلام نموده اند (۲۰ و ۲۱). در بررسی دیگر توسط حاج کلائی و همکاران در سال (۲۰۰۸) با استفاده از روش کیت الایزای تجاری بر روی نمونه های سرم خون میزان آلودگی منطقه اهواز ۲۱ درصد اعلام گردید (۱۲). نعمت الهی و همکاران در سال (۱۳۸۸) میزان آلودگی گاوهای سقط کرده اطراف تبریز به *نئوسپورا کانینوم* را با استفاده از الایزای خانگی ۱۷/۱ درصد و در الایزای تجاری ۱۸/۴ درصد اعلام نمودند (۲۷). قره خانی و همکاران در سال (۱۳۹۰) از مجموع ۴۰۰ نمونه سرم خون گاوهای استان همدان با روش الایزای میزان آلودگی را ۲۰ درصد گزارش نمودند (۱۰). سبزواری نژاد و همکاران در سال (۱۳۹۱) با روش الایزای غیر مستقیم که بر روی سرم خون ۱۸۱ گاو در منطقه خرم آباد انجام پذیرفت تیتراژ پادتن بر ضد *نئوسپورا کانینوم* ۲۷/۶۲ درصد مثبت گزارش گردید (۹۱).

چانلون و همکاران در سال (۲۰۰۲ و ۲۰۰۳) در تایلند با روش الایزای غیر مستقیم میزان آنتی بادی ضد *نئوسپورا* را در دسامبر ۲۰۰۲ به میزان ۵۶/۵ درصد، در آوریل ۲۰۰۳ به میزان ۴۳/۸ درصد و در دسامبر ۲۰۰۳ میزان آلودگی را ۴۶/۷ درصد گزارش نمودند (۲). فوروسلینگ و همکاران در سال (۲۰۰۸) در کشور سوئد با روش الایزای غیر مستقیم بر روی ۲۴۷ نمونه شیر موارد مثبت را ۸/۳ درصد گزارش نمود (۸). بیشترین میزان شیوع در این بررسی در گاوهای ۴ سال سن به بالا مشاهده شد. معیر و همکاران در سال (۱۳۸۸) در گاوهای اطراف تهران بیشترین میزان شیوع *نئوسپورا کانینوم* را در گاوهای بیشتر از ۴ سال سن گزارش نمودند (۱۶). قره خانی و همکاران در سال (۱۳۹۰) در همدان بیشترین میزان آلودگی را در گاوهای بیشتر از ۴ سال سن گزارش نمودند (۱۰). جیسون و همکاران در سال (۱۹۹۱) در دانمارک اعلام نمودند که با افزایش سن میزان فراوانی آلودگی به *نئوسپورا* نیز افزایش می یابد (۱۳). رومرو و همکاران در سال (۲۰۱۰) در مطالعه ای که روی میزان فراوانی آلودگی به *نئوسپورا کانینوم* در گاوهای مکزیکی انجام دادند دریافتند با افزایش سن گاوها، میزان آلودگی در آنها افزایش پیدا می کند و بیشترین میزان

شیردوشی و همچنین نحوه نگهداری دامها به نیمه صنعتی و صنعتی تقسیم گردیدند. که بر این اساس دامداری شماره ۱ و ۳ در گروه دامداریهای نیمه صنعتی و دامداریهای شماره ۲ و ۴ و ۵ در گروه دامداریهای صنعتی قرار گرفتند. شیر هر گاو بصورت جداگانه مستقیماً از پستان گاو در ظروف مخصوص استریل دوشیده شد. شماره هر گاو بر روی ظرف مخصوص خود درج و نمونه ها به سرعت به آزمایشگاه منتقل گردیدند.

### آزمون الایزای غیر مستقیم

جهت این آزمون از کیت ID Screen *Neospora caninum* Indirect Multi - Species ساخت شرکت ID.vet فرانسه استفاده گردید. آزمون بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت انجام شد و نتایج با دستگاه ELISA reader DA-۲۲۰۰ ساخت کشور آمریکا خوانده شد. OD کلیه نمونه ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شد و S/P بزرگتر یا مساوی با ۳۰ درصد به عنوان نمونه مثبت تلقی گردید. جهت پی بردن به معنادار بودن رابطه میزان شیوع *نئوسپورا کانینوم* و سن گاوها، نتایج بدست آمده در سه گروه سنی با روش مربع کای با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

### نتایج

از مجموع ۱۵۰ نمونه تعداد ۳۳ مورد (۲۲ درصد) مثبت گزارش گردید (شکل ۱) با استفاده از آزمون مجذور کای بیشترین میزان شیوع در گاوهای بالاتر از ۴ سال سن مشاهده گردید ( $P\text{-value}=0/039$ ) (شکل ۲)

### بحث

در این مطالعه فراوانی آلودگی به *نئوسپورا کانینوم* در گاوهای شهرستان شهریار ۲۲ درصد تعیین گردید. تا کنون مطالعه مشابهی در خصوص تعیین فراوانی شیوع *نئوسپورا کانینوم* از طریق آزمون الایزای غیر مستقیم بر روی شیر در کشور انجام نشده است و بیشتر مطالعات بر روی نمونه های سرم خون گاو انجام شده است. صدرباز و همکاران در طی

جدول ۱- فراوانی آنتی بادی ضد *نئوسپورا کانینوم* در شیرهای نمونه برداری شده از گاوهای شهرستان شهریار

شماره دامداری	نوع دامداری	تعداد نمونه	تعداد موارد مثبت	تعداد موارد منفی
۱	نیمه صنعتی	۲۱	۳	۱۸
۲	صنعتی	۲۵	۷	۱۸
۳	نیمه صنعتی	۳۰	۸	۲۲
۴	صنعتی	۳۲	۱۱	۲۱
۵	صنعتی	۴۲	۴	۳۸
جمع		۱۵۰	۳۳	۱۱۷

4. Dijkstra, T., H.W. Barkema, M. Eysker and W. Wouda. (2001) Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. *International Journal for Parasitology*. 31: 209–215.
5. Dubey, J.P. and D. S. Lindsay. (1996) A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*. 67: 1–59.
6. Dubey, J. P. (2005) Neosporosis in cattle. *Vet. Clin. Of North America, Food animal practice*. 21: 473-483.
7. Frossling, J., A. Ugglå and C. Bjorkman. (2005) Prevalence and transmission of *Neospora caninum* within infected Swedish dairy herds. *Veterinary Parasitology*. 128: 209–218.
8. Frossling, J., A. dtvedt, A. Lindberg and C. rkman. (2008) Spatial analysis of *Neospora caninum* distributio cattle from Sweden. *Geospatial Health* . 3(1): 39-45.
9. Garcia, D. P., L. M. Regidor, E. Ortega, V. S. F. Collantes, M. A. de Oliveria and A. C. Da Silva. (2009) Isolation and biological characterization of a new isolate of *Neospora caninum* from an asymptomatic calf in Brazil. *Acta Parasitologica*. 54: 180-185.
10. Gharekhani, J., H. Heidari and H. Akbarein. (2012) Seroepidemiology of *Neospora caninum* in Iranian native and crossbreed cattle : A cross sectional study. *Journal of Veterinary Research*. 67(4): 325-329
11. Gonzalez, M., J. A. Castro, C. Carro and M. Mezo. (Aug 2011) anti-*Neospora caninum* antibodies in milk in relation to production losses in dairy cattle. *Preventive Veterinary Medicine*. 1;101(1-2):58-64. 1; 101(1-2): 58-64.
12. Hajikolaie, M.R., H. Hamidinejat and S. Goraninejad. (2008) Serological study of *Neospora caninum* infection in cattle from Ahvaz. *Iranian International Journal of Veterinary Researches*. 2:1:63-66.
13. Jensen, A.M., C. Bjorkman, A.M. Kjeldsen, A. Wedderkopp, C. Willadsen, A. Ugglå and P. Lind. (1999) Associations of *Neospora*

آلودگی در گاوهای بالای ۵ سال گزارش نمودند(۱۸).

طبق بررسی های موجود هزینه ای که صرف تشخیص و سپس پیشگیری از بروز سقط می گردد بسیار کمتر از زبانی است که در اثر سقط در گله های گاو شیری به تولید کننده وارد می گردد (۲۲). با توجه به نتایج بدست آمده، به نظر می رسد لذا آزمون ایزای غیر مستقیم بکار رفته بر روی نمونه های شیر، ساده و مقرون به صرفه بوده و می تواند به عنوان یک روش قابل اعتماد جهت نظارت بر برنامه های استراتژی کنترل برای نتوسپورا کانینوم در مزارع پرورش گاو شیری مورد استفاده قرار گیرد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد انگل شناسی می باشد و بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به جهت حمایت مادی و معنوی و همچنین از زحمات معاونت محترم کیفیت شرکت شیر پاستوریزه پگاه تهران جناب آقای دکتر جودکی برای پشتیبانی در زمینه اجرای بخشی از این طرح تشکر و قدردانی می گردد.

### منابع مورد استفاده

1. Catherine, S., T. Sohn Tim, L. Cheng Michael, D. Drummond Eric, J. Peng Sarah, J. Vermont Dong Xia Stephen, M. Cheng Jonathan and J. Peter. (2011) Identification of Novel Proteins in *Neospora caninum* Using an Organelle Purification and Monoclonal Antibody Approach. *PLoS One*. 6(4): e18383.
2. Chanlun, A., U. Emanuelson, S. Chanlun, S. Aiumlamai and C. Bjorkman. (2006) Application of repeated bulk milk testing for identification of infection dynamics of *Neospora caninum* in Thai dairy herds. *Veterinary Parasitology*. 136: 243–250.
3. Darwich, L., O. Cabezon, I. Echeverria, M. Pabon, I. Marco, R. Lopez, O. Alejos, F. Gatus, S. Lavin and S. Almeria. (2012) Presence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* DNA in the brain of wild birds. *Veterinary Parasitology*. 183 (3-4): 377–381.

جدول ۲- فراوانی شیوع نتوسپورا کانینوم در گروه های سنی مختلف گاوداری های شهرستان شهریار

موارد مثبت به درصد	تعداد نمونه های مثبت	تعداد نمونه	(سن سال)
۱۴/۲۹	۷	۴۹	کمتر از ۳ سال
۲۰	۱۰	۵۰	۳ الی ۴ سال
۳۱/۳۷	۱۶	۵۱	۴ سال به بالا
۲۲	۳۳	۱۵۰	جمع

outcome in Danish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*. 40: 151-163.

14. King, J. S., J. Slapeta, D. J. Jenkins, S. E. Al-Qassab, J. T. Ellis and P. A. Windsor. (2010) Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal of Parasitology* . 40 (8): 945-950.

15. McAllister, M. M., J. P. Dubey, D. S. Lindsay, W. R. Jolley, R. A. Wills and A. M. McGuire. (1998) Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*. 28 (9): 1473-1478..

16. Moayer, F., A. Ataei, F. Moosakhani and A. Bahonar. (2011) Pathologic findings of aborted fetuses in industrial farms around Tehran. *Journal of Veterinary Clinics*. 2(3): 155-156.

17. Nematollahi, A., M. Jafari and G. Moghadam. (2011) *Neospora caninum* infection study using standard household ELISA in dairy farms Tabriz around. *Iranian Veterinary Journal*. 7(1): 62

18. Romero, D., Z. Garcia, F. Montiel, M. Dominguez and L. Medina Esparza. (2010) Seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies in cattle in Veracruz Mexico. *Journal of Animal and Veterinary*

*Advances*. 9: 1445- 1451.

19. Sabevarinejad, Gh., A. Dalimi, F. Ghafarifar and M. Forouzan-deh Moghadam. (2013) Serological survey of *Neospora caninum* infection in Holstein dairy cattle from Khoramabad region. *Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi)* 26(4): 45-48.

20. Sadrebazzaz, A., H. Haddadzadeh, K. Esmailnia, G. Habibi, M. Vojgani and R. Hashemifesharaki. (2004) Serological prevalence of *Neospora caninum* in healthy and aborted dairy cattle in Mashhad, Iran. *Veterinary Parasitology*. 124(3-4):201-204.

21. Sadrebazzaz, A., G. Habibi, H. Haddadzadeh and J. Ashrafi. (2007) Evaluation of bovine abortiob associated with *Neospora caninum* by different diagnostic techniques in Mashhad, Iran. *Parasitology Researches*. 101:413-417

22. Thurmond, M. C. and J. P. Picanso. (2007) Asurveillance system of bovine abortion. *Prev. Vet. Med*. 8: 41-53.

23. Trees, A. J. and D. J. Williams. (2005) Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Trends Parasitol*. 21: 558-561.

