

Molecular detection of *Neospora caninum* in sheep and goats slaughtered in Kashan slaughterhouse

Masoumi koushk mehdi, A¹, Rašti, S^{1,2*}, Hooshyar, H¹, Mousavi, GhA³, Kalae, M¹, Marandi, N¹

1- Department of Parasitology & Mycology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.

2- Infectious Diseases Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.

3- Department of Statistic, Faculty of Public health, Kashan, University of Medical Sciences, Kashan, Iran.

Received: 2024-06-02 Accepted: 2024-07-29

Revised: 2024-07-28 Published: 2025-03-02

*Email: rašti_s@yahoo.com

Abstract

Introduction and Objective: Neosporosis is one of the most important animal diseases worldwide, which causes abortion in animals especially cows. Cows and small ruminants such as sheep and goats are the most intermediate hosts of the parasite. Due to limited information about *Neospora caninum* infection in small ruminants, the present cross-sectional study was carried out to investigate infection with the parasite in sheep and goats slaughtered in Kashan industrial slaughterhouse in 2015-2016 using molecular method.

Methods: Heart samples of one hundred and eighty animals including 90 sheep and 90 goats were collected. After DNA extraction from the heart tissue, and then PCR was performed using primers Np21plus and Np6plus. Samples were assigned as positive upon observation of a 350 base pair band. Animal data and PCR results were recorded in SPSS.16 and were analyzed by Chi-Square and Fischer tests. **Results:** *Neospora caninum* DNA was detected in 13 heart samples of animals (7.2 %). The prevalence of infection in sheep and goats was 7.8% and 6.7%, respectively. The odds ratio of *Neospora caninum* infection in sheep was 1.18(OR= 1.18) compared to goats. The highest rate of *Neospora caninum* infection in small ruminants was observed in winter which was 17.8%, whereas no infection was seen in autumn (P=0.003). The rate of infection was significantly higher in the female animals (P=0.04). **Conclusion:** The prevalence of *Neospora caninum* in small ruminants in Kashan was relatively low compared to other places in the world as well as the average estimation in Iran. However, health education of farmers and livestock producers is recommended to control and improve the conditions of animal husbandry in order to prevent the disease.

Keywords: *Neospora caninum*, PCR, sheep, goats



بررسی مولکولی آلودگی نئوسپورا کانینوم در گوسفندان و بزهای کشتاری در کشتارگاه کاشان

ابوالفضل معصومی کوشک‌مهدی^۱، سیما راستی^{۱،۲*}، حسین هوشیار^۱، غلامعباس موسوی^۳، محمد کلایی^۱، نادر مرندی^۱

۱- گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۲- مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۳- گروه آمار، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳-۰۵-۲۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳-۰۲-۲۵

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳-۱۰-۰۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳-۰۵-۲۹

*Email: راستی_s@yahoo.com



چکیده

مقدمه و هدف: نئوسپوروزیس یکی از مهم‌ترین بیماری‌های دام با انتشار جهانی می‌باشد که سبب سقط جنین در حیوانات بخصوص گاو می‌شود. گاو و نشخوارکنندگان کوچک نظیر گوسفند و بز از مهم‌ترین میزبانان واسط انگل می‌باشند. با توجه به اطلاعات اندک در مورد نئوسپورا کانینوم در نشخوارکنندگان کوچک، مطالعه مقطعی حاضر به منظور بررسی انگل با روش مولکولی بر روی گوسفند و بزهای ذبح‌شده در کشتارگاه صنعتی کاشان در ۱۳۹۵-۱۳۹۶ صورت گرفت. روش کار: از ۱۸۰ رأس دام شامل ۹۰ رأس گوسفند و ۹۰ رأس بز نمونه قلب تهیه گردید. ابتدا استخراج DNA از بافت قلب انجام و سپس واکنش PCR با پرایمر Np21plus و NP6plus صورت گرفت. با مشاهده باند ۳۵۰ جفت باز، نمونه مثبت در نظر گرفته شد. اطلاعات دام‌ها و نتایج PCR در SPSS ۱۶ ثبت و با آزمون‌های مجذور کای و فیشرتجزیه و تحلیل شد. یافته‌ها: DNA نئوسپورا کانینوم در ۱۳ نمونه قلب دام (۷/۲ درصد) شناسایی شد. میزان آلودگی گوسفند به نئوسپورا کانینوم ۷/۸ درصد و بز ۶/۷ درصد بود. شانس ابتلای گوسفندان به نئوسپورا کانینوم در مقایسه با بزها ۱/۱۸ (OR=1.18) بود. بیشترین میزان آلودگی نشخوارکنندگان کوچک به نئوسپورا کانینوم در فصل زمستان ۱۷/۸ درصد بوده درحالی‌که در پاییز آلودگی مشاهده نشد (P=۰/۰۰۳). آلودگی در جنس ماده بیشتر بوده و اختلاف آن از نظر آماری معنی‌دار بود (P=۰/۰۴). نتیجه گیری: آلودگی نشخوارکنندگان کوچک به نئوسپورا کانینوم در کاشان نسبت به سایر نقاط دنیا و متوسط ایران نسبتاً پایین بود. آموزش بهداشت به کشاورزان و دامداران به منظور انجام مراقبت و بهبود شرایط دامداری برای پیشگیری از بیماری توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: نئوسپورا کانینوم، PCR، گوسفند، بز

مقدمه

نئوسپورا کانینوم تک‌یاخته‌ای از شاخه اپی کمپلسا و عامل بیماری نئوسپوروزیس، با انتشار جهانی است (۱-۲). خانواده سگ‌سانان میزبان نهایی این انگل هستند که تکثیر جنسی در آنها صورت می‌گیرد و بسیاری از حیوانات بخصوص (نشخوارکنندگان) اهلی و وحشی می‌توانند به عنوان میزبان واسط عمل کنند (۳-۴).

گاو مهم‌ترین میزبان واسطه انگل است و از طریق خوردن آب و غذای آلوده به اووسیست‌های دفع شده در مدفوع میزبان نهایی آلوده می‌شود، اگرچه گاو مهم‌ترین میزبان نئوسپورا کانینوم است، اما عفونت‌های طبیعی در سایر نشخوارکنندگان مانند گوسفند و بز گزارش شده است (۵-۴). مهم‌ترین راه انتقال آلودگی گاوها انتقال عمودی از مادر به جنین است (۵) در مطالعات اخیر، انتقال مادرزادی نئوسپورا در گوسفند گزارش شده است و انتقال عمودی منبع اصلی عفونت در گوسفند است (۶-۷).

بر اساس نتایج مطالعات مروری در ایران سال ۲۰۲۰، شیوع عفونت نئوسپورا کانینوم در سگ‌ها ۵۴/۹-۰ درصد، در گاوها ۷۶/۳-۲/۸ درصد، در گوسفندان ۹/۹-۰/۹ درصد، در بزها ۶/۲ درصد، الاغ ۵۲ درصد و در گاو میش‌ها ۱۹/۲-۵۵/۹ درصد گزارش شده است. همچنین در گربه ۱۹-۱۴ درصد و در جوندگان ۲۰/۴-۰ درصد و اسب ۴۲/۲-۲۰ درصد، شتر ۱۶/۶ درصد و پرندگان نظیر جوجه ۱۷/۳ و کبوتر ۳۰/۴-۹/۸ درصد و جوجه‌های گوشتی ۸ درصد گزارش شده است (۸-۱۱، ۴).

همچنین در برزیل سال ۲۰۰۶ میزان آنتی‌بادی IgG علیه نئوسپورا در بیماران ایدزی ۲۸ درصد و بیماران با اختلالات عصبی ۱۸ درصد در حالیکه در نوزادان و افراد سالم ۵ و ۶ درصد بود (۱۳-۱۲). اگرچه پتانسیل زئونوز بودن نئوسپورا کانینوم ناشناخته است ولی اخیراً DNA نئوسپورا کانینوم در دو نمونه خون بند ناف انسان گزارش شده است (۱۴).

نئوسپوروزیس مشابه توکسوپلاسموز عامل نارسایی‌های تولیدمثلی مانند سقط جنین و مرگ و میر نوزادان در نشخوارکنندگان می‌شود. سقط جنین یکی از مهم‌ترین عوارض نئوسپوروزیس در گاو است. همچنین در مواردی باعث مرده‌زایی و تولد نوزادان ضعیف می‌شود (۱۶-۱۵، ۳). در مواردی سقط جنین گوسفند و بز از سراسر جهان و ایران گزارش شده است. بر اساس مطالعه متاآنالیز در سال ۲۰۲۲ پرووالانس نئوسپورا کانینوم در جنین سقط شده گوسفند و بز به ترتیب ۱۵٪ و ۷٪ تخمین زده شده است (۱۸-۱۷). همچنین بر اساس نتایج Razmi و همکاران سال ۲۰۱۷ نئوسپورا عامل سقط جنین در گوسفندان مشهود بوده است. خسارت این انگل بجز سقط جنین، کاهش تولید شیر و هزینه‌های جانبی تشخیص بیماری است (۱۹). زیان‌های اقتصادی ناشی از سقط جنین و مشکلات تولیدمثلی نشخوارکنندگان آلوده به نئوسپورا کانینوم در سراسر جهان سالانه ۱/۳ میلیارد دلار تخمین زده شده است. (۲۱-۲۰) خسارت شدید اقتصادی در آرژانتین در گاوهای شیرده و گوشتی ۳۳ و ۱۲ میلیون دلار برآورد شده است. (۲۲). از این رو بدلیل انتشار گسترده و خسارات اقتصادی، این بیماری از اهمیت قابل توجهی برخوردار است (۲۲-۲۰).

در ایران بیشتر مزارع پرورش گوسفند و بز سنتی بوده و حیوانات به خصوص با سگ‌های ولگرد ارتباط مستقیم دارند. مطالعات متعددی در مورد شیوع سرمی نئوسپورا کانینوم در گاو و گوسفند انجام شده است، اما مطالعات مولکولی اندکی وجود نئوسپورا کانینوم در بافت‌های گوشت

گاو و گوسفند و بز را تایید کرده است (۲۳، ۱۴، ۱۱، ۹، ۴). واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) به دلیل حساسیت و ویژگی بالاتر نسبت به روش‌های سروژنتیک، یکی از مناسب‌ترین روش‌ها برای تشخیص نئوسپورا کانینوم در بافت حیوانات آلوده است (۲۵-۲۴).

باتوجه به انتشار وسیع آلودگی دام‌ها و پرندگان به نئوسپورا کانینوم (۲۳ و ۱۷-۱۶، ۸-۱۰، ۴) و خسارات اقتصادی قابل توجه ناشی از سقط جنین در دام‌های آلوده (۲۱-۲۰)، می‌توان با شناسایی سریع دام‌های آلوده و انجام اقدامات پیشگیرانه، موجب کاهش آلودگی و عوارض ناشی از آن شد. همچنین به دلیل اطلاعات اندک مطالعات مولکولی نئوسپوروزیس، هدف از این مطالعه تعیین شیوع نئوسپورا کانینوم در نمونه‌های DNA قلب گوسفندان و بزهای کاشان با روش PCR بود.

مواد و روش کار

تحقیق به روش مقطعی بر روی ۱۸۰ نمونه قلب گوسفند و بز کشتار شده در کاشان طی سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۵ صورت گرفت (کد اخلاق طرح IR.KAUMS.MEDNT.REC.۱۴۰۲.۱۳۹۶ می‌باشد). از آنجایی که میزان آلودگی قلب گوسفند کشتار تهران ۶/۷ درصد و در مغز ۰/۷ درصد گزارش شده است (۲۶). از این رو در مطالعه حاضر از قلب گوسفند که حساستر از مغز برای شناسایی نئوسپورا کانینوم است استفاده شد.

در این مطالعه ۹۰ نمونه قلب گوسفند و ۹۰ نمونه قلب بز نگهداری شده در فریزر، طرح شماره ۹۴۱۵۱ با عنوان بررسی سروایدیولوژی و ملکولی توکسوپلاسم گوندی در گوسفند و بز در کاشان در سال ۱۳۹۴-۱۳۹۵ استفاده گردید (۲۷). نمونه‌های قلب گوسفند و بز جهت استخراج DNA استفاده شد. جهت بررسی نئوسپورا کانینوم ۰/۲ گرم از نمونه بافت قلب را هموژن کرده سپس با استفاده از کیت استخراج DNA (شرکت سیناژن، ایران) مطابق پروتکل کیت، استخراج DNA انجام گرفت و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (Np6plus (5'CTC GCC AGT CAA CCT ACG TCT TCT3) و Np21plus (5'CCC AGT GCT CCA ATC CTG TCT3) و مستر میکس (آمپلیکون، دانه‌کارک) و برنامه ذیل در دستگاه ترموسیکلر (Flex Cycler2, Germany) انجام شد. برنامه PCR بشرح ذیل بود: دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد بمدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل شامل دناتوراسیون ۹۴ درجه سانتی‌گراد بمدت ۳۰ ثانیه، آنیلینگ ۶۰ درجه سانتی‌گراد بمدت ۳۰ ثانیه، طویل‌سازی ۷۲ درجه سانتی‌گراد بمدت ۳۰ ثانیه و طویل‌سازی نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد بمدت ۵ دقیقه. واکنش PCR در کنار کنترل منفی (آب مقطر استریل) و کنترل مثبت (نئوسپورا کانینوم تهیه شده از دانشگاه علوم پزشکی شیراز) انجام شد. در PCR قطعه ۳۵۰-۳۲۸ جفت باز از ژن NC5 تکثیر شد (۲۵-۲۴) پس از الکتروفورز محصول PCR روی ژل آگاروز ۱/۸ درصد در کنار مارکر ۱۰۰ جفت باز، با مشاهده باند حدود ۳۵۰ جفت باز، نمونه مثبت تلقی می‌شد. نتایج حاصل بر حسب اطلاعات دموگرافیک دام و فصل با استفاده از پارامترهای آمار توصیفی مجذورکای و فیشر در برنامه SPSS۱۶ مورد آنالیز قرار گرفت.

نتایج و بحث

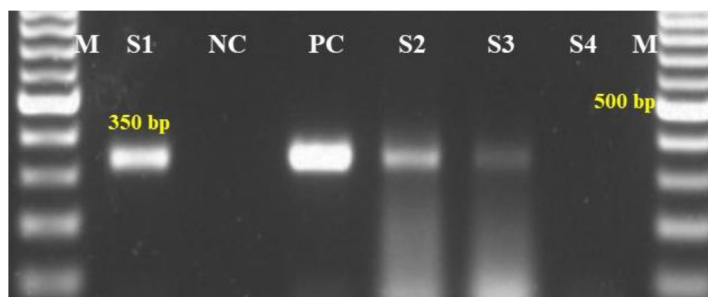
در مطالعه حاضر از ۱۸۰ نمونه قلب گوسفند و بز مورد بررسی با روش

از ۸۹ نشخوارکننده کوچک ماده (گوسفند و بز) ۱۰ مورد (۱۱/۲ درصد) و از ۹۱ حیوان نر ۳ مورد (۳/۳ درصد) از نظر نتوسپورا با PCR مثبت بودند که از لحاظ آماری تفاوت آن معنی دار است ($P = 0/04$). ماده‌ها ۳/۷ برابر نرها آلوده بودند ($OR = 3/7$) (جدول ۲). میزان آلودگی نشخوارکننده کوچک (گوسفند و بز) به نتوسپورا کانینوم در

PCR، ۱۳ نمونه (۷/۲ درصد) از نظر نتوسپورا کانینوم مثبت بود. میزان آلودگی گوسفند و بز به نتوسپورا کانینوم به تفکیک ۷ مورد (۷/۸ درصد) و ۶ مورد (۶/۷ درصد) بود ($P = 0/77$). شانس ابتلا گوسفندان به نتوسپورا کانینوم در مقایسه با بزها ۱/۱۸ تعیین گردید ($OR = 1/18$) (جدول ۱) و (تصویر ۱).

جدول ۱- توزیع فراوانی آلودگی به نتوسپورا کانینوم با روش PCR برحسب نوع دام ذبح شده در کشتارگاه کاشان.

CI	OR	P.value	جمع	نتوسپورا		نتیجه PCR نوع دام
				-	+	
0.38 3.6	1.18	0.77	90 (100 %)	83 (92.2 %)	7 (7.8 %)	گوسفند
			90 (100 %)	84 (93.3 %)	6 (6.7 %)	بز
			180 (100 %)	167 (92.8 %)	13 (7.2 %)	جمع



تصویر ۱ - الکتروفورز محصول PCR نتوسپورا کانینوم با پرایمرهای Np21plus و NP6plus در گوسفند و بزهای کشتار شده در کاشان. M: مارکر ۱۰۰ bp، NC، کنترل منفی، PC: کنترل مثبت، S1-S3: نمونه های مثبت نتوسپورا کانینوم در گوسفند و بز و S4 نمونه منفی.

جدول ۲- توزیع فراوانی آلودگی به نتوسپورا کانینوم با روش PCR در دامهای کوچک ذبح شده در کشتارگاه کاشان برحسب جنس

CI	OR	P.value	جمع	نتوسپورا		نتیجه PCR نوع دام
				-	+	
0.98 13.9	3.7	0.04	89 (100 %)	79 (88.8 %)	10 (11.2 %)	دام ماده
			91 (100 %)	88 (96.7 %)	3 (3.3 %)	دام نر
			180 (100 %)	167 (92.8 %)	13 (7.2 %)	جمع

برداشت نمونه مناسب تشخیصی بعنوان متغیرهای مهم در حصول شیوع پائین آلودگی در مطالعه حاضر مداخله داشته است. در اکثر مطالعات میزان آلودگی گاوها بیشتر از گوسفند (۷۶/۲ - ۳/۸ درصد) گزارش شده است (۱۰،۴) تفاوت میزان آلودگی به نئوسپورا کانینوم در نواحی مختلف ممکنست بدلیل تفاوت شرایط آب و هوایی و روش تشخیص آزمایشگاهی (روش‌های سروژئی یا مولکولی) باشد. در مطالعه حاضر میزان آلودگی نئوسپورا کانینوم در نشخوارکنندگان کوچک (گوسفند و بز) ماده (۱۱/۲ درصد) و نر (۳/۳ درصد) بود و تفاوت آن از نظر آماری معنی‌دار بود ($P=0/04$). شانس ابتلا در نشخوارکنندگان ماده نسبت به نر ۳/۷ بود ($OR=3/7$).

میزان آلودگی به نئوسپورا بر اساس نتایج مطالعات Hecker در گوسفند ماده بیشتر از نر بوده است (۳۵). مطالعات *In vitro* نشان می‌دهد هورمون استرادیول تهاجم برخی انگل‌ها نظیر توکسوپلاسما گوندی را تشدید می‌کند و میزان آلوده شدن را افزایش می‌دهد. همچنین در *In vivo* پاتوژنیسته انگل را افزایش می‌دهد (۳۶).

بطور کلی بالاترین میزان آلودگی نئوسپورا کانینوم در نشخوارکنندگان کوچک (گوسفندان و بزها) در فصل زمستان (۱۷/۸ درصد) و در پاییز آلودگی مشاهده نشد و تفاوت آن از نظر آماری معنی‌دار بود ($P=0/003$). در مطالعه مروری Nayeri و همکاران سال ۲۰۲۲، شیوع عفونت نئوسپورا در جنین‌های سقط شده گوسفند و بز با روش مولکولی به ترتیب ۱۵ درصد و ۷ درصد برآورد نموده است (۱۷).

در مطالعه Razmi و همکاران سال ۲۰۱۷ در مشهد بر روی ۷۱ جنین گوسفندی سقط شده، به روش مولکولی، DNA نئوسپورا کانینوم در ۷ نمونه (۹/۸ درصد) شناسایی شد و نئوسپورا کانینوم بعنوان عامل سقط جنین در گوسفندان منطقه مشهد مطرح شد (۱۹). در مطالعه Salehi و همکاران سال ۲۰۲۱ در مازندران بر روی ۱۳۳ جنین سقط شده (۵۱

فصول مختلف سال در جدول ۳ نشان داده شده است. میزان آلودگی در بهار (۸/۹ درصد)، تابستان (۲/۲ درصد) و زمستان (۱۷/۸ درصد) بود و در پاییز آلودگی مشاهده نشد ($P=0/003$).

نئوسپورا کانینوم یک تک‌اخته درون سلولی است که باعث سقط جنین در گاو، گوسفند و بز می‌شود (۱۵ و ۴). در مطالعه حاضر، از ۱۸۰ نمونه قلب نشخوارکننده کوچک (گوسفند و بز) مورد بررسی، ۱۳ نمونه (۷/۲ درصد) آلوده به نئوسپورا کانینوم بودند ($CI=0/38-3/6$). میزان آلودگی قلب گوسفندان در کاشان ۷/۸ درصد و بز ۶/۷ درصد بود. میزان آلودگی بز کمتر از گوسفند بود ولی تفاوت آن از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P=0/77$).

بر اساس مطالعه مروری در ایران میزان آلودگی نئوسپورا در گوسفندان ۰/۹-۹/۹ درصد و در بزها ۶/۲ درصد گزارش شده است که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (۴). همچنین Arbabi و همکاران سال ۲۰۱۴ میزان آلودگی قلب گوسفند‌های سالم کشتار تهران را ۶/۷ درصد گزارش نمودند که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (۲۶).

Abo-Shehada (۲۰۱۰) در اردن میزان آلودگی به نئوسپورا کانینوم در گوسفند ۹۲ درصد و بز ۱۲ درصد گزارش نمود که نشانگر بالا بودن آلودگی در گوسفند نسبت به بز می‌باشد. (۲۸).

میزان آلودگی به نئوسپورا کانینوم در چین طبق مطالعات Qian سال ۲۰۲۰ در بز و همکاران سال ۲۰۱۵ در نشخوارکنندگان کوچک به ترتیب ۲/۸ درصد و ۱۰/۳ درصد گزارش شده است (۳۰-۲۹). Gokce و همکاران در ترکیه میزان آلودگی نئوسپورا کانینوم در گوسفند را ۲/۱ درصد (۳۱) و Şuteu و همکاران سال ۲۰۱۳ در رومانی در بز ۱/۱ درصد گزارش نمودند (۳۲). در حالی که Amdouni سال ۲۰۱۸ در تونس با روش مولکولی در بافت عضله بز میزان نئوسپورا کانینوم را ۱۹ درصد (۳۳)، همچنین Nasir و همکاران سال ۲۰۱۲ در پاکستان میزان آلودگی گوسفند و بز را ۲۷/۷ درصد گزارش نمودند (۳۴). به نظر می‌رسد تأخیر زمانی انجام آزمایش و عدم

جدول ۳- توزیع فراوانی آلودگی به نئوسپورا کانینوم با روش PCR در دام‌های کوچک ذبح‌شده در کشتارگاه کاشان برحسب فصل

P.value	جمع	نئوسپورا		نتیجه PCR	فصل
		-	+		
0.003	45 (100 %)	41 (91.1 %)	4 (8.9 %)		بهار
	45 (100 %)	44 (97.8 %)	1 (2.2 %)		تابستان
	45 (100 %)	45 (100 %)	0		پائیز
	45 (100 %)	37 (82.2 %)	8 (17.8 %)		زمستان
	180 (100 %)	167 (92.8 %)	13 (7.2 %)		جمع

jo-García R, Castro-Hermida JA, Calvo C, Ferreras MC, Pérez V, Benavides J, Mezo M. Maternal immune response in the placenta of sheep during recrudescence of natural congenital infection of *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*. 2020 Sep 1;285:109204.

7-Sánchez-Sánchez R, Vázquez-Calvo Á, Fernández-Escobar M, Regidor-Cerrillo J, Benavides J, Gutiérrez J, Gutiérrez-Expósito D, Crespo-Ramos FJ, Ortega-Mora LM, Álvarez-García G. Dynamics of *Neospora caninum*-associated abortions in a dairy sheep flock and results of a Test-and-Cull control programme. *Pathogens*. 2021 Nov 20;10(11):1518.

8-Barimani S, Rassouli M, Chashmi SHE. Molecular detection of *Neospora caninum* in chicken meat and eggs in Iran. *Vet Parasitol: Reg Stu Rep*. 2023;40:100862.

9-Khordadmehr M, Hosseini S, Mohsenifar E, Namavari M, Khordadmehr S. Seroprevalence of *Neospora caninum* in farm and household dogs determined by ELISA. *Online J Vet Res*. 2012;16(4):172-81.

10-Hooshyar H, Chehrizi F, Arbabi M. Molecular Identification and Frequency of Cyst-Forming *Coccidia* (*Sarcocystis*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum*) in native slaughtered cattle in Kashan, Central Iran. *Int Arch Health Sci*. 2021; 8 (4):301-6.

11-Mohammed OB, Amor N, Omer SA, Alagaili AN. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Dromedary camels (*Camelus dromedarius*) from Saudi Arabia. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2020;29. e019119. doi: 10.1590/S1984-29612020008. eCollection 2020.

12-Oshiro LM, Motta-Castro ARC, Freitas SZ, Cunha RC, Dittrich RL, Meirelles ACF, et al. *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* serodiagnosis in human immunodeficiency virus carriers. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2015;48:568-72.

13- Lobato, J., Silva, D.A., Mineo, T.W., Amaral, J.D, Segundo, G.R.S, Costa-Cruz J.M., 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 Vac Immunol*. 2006; 13: 84-89. doi:10.1128/CVI.13.1.84-89.2006.

14-Duarte PO, Oshiro LM, Zimmermann NP, Csordas BG, Dourado DM, Barros JC, et al. Serological and molecular detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in human umbilical cord blood and placental tissue samples. *Sci Rep*. 2020;10(1):9043.

15- Khani M, Arabkhaaei F, Hosseini SD, Shayan P. Molecular detection of *Neospora caninum* in aborted fetuses of cattle farms in Arak. *J Vet Res*. 2018; 73(4): 457-463.

16-Ribeiro CM, Soares IR, Mendes RG, de Santis Bastos PA, Katagiri S, Zavilenski RB, et al. Meta-analysis of the prevalence and risk

گوسفند، ۷۸ گاو و ۴ بز) جمعا ۱۸/۳ درصد از نمونه‌ها به روش PCR آلوده بودند و بیشترین شیوع نئوسپورا در گاوها (۲۰/۵ درصد) و گوسفند (۱۵/۶ درصد) بود. اما هیچ مورد مثبتی در بزها گزارش نشد (۱۸). در مطالعه Asadpour و همکاران سال ۲۰۱۳ در شمال غرب ایران، ۷۰ جنین سقط شده گوسفند از نظر آلودگی به نئوسپورا کانینوم با روش‌های سرولوژی و مولکولی مورد بررسی قرار گرفتند که با ELISA (۵/۷ درصد) و با PCR (۸/۵ درصد) مثبت بودند و نقش این انگل بعنوان عامل سقط جنین گوسفند در شمالغرب ایران تایید شد (۳۷). مطالعات اپیدمیولوژی و تعیین ریسک فاکتورهای نئوسپوروزیس در نشخوارکنندگان، همچنین بررسی چند جانبه میکروبیولوژی، ویروس‌شناسی، انگل‌شناسی و سایر عوامل مولد سقط جنین پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد میزان آلودگی به نئوسپورا در گوسفند و بز در کاشان نسبت به برخی نقاط دنیا و متوسط ایران نسبتاً پایین بود. از آنجایی که روش‌های مولکولی از حساسیت و ویژگی بالایی برخوردار هستند، استفاده از این روش می‌تواند با تشخیص سریع آلودگی در گوشت و فرآورده‌های گوشتی موثر می‌باشد. با توجه به سقط جنین ناشی از نئوسپوروزیس در گوسفند و بز، انجام مطالعات اپیدمیولوژی و تعیین ریسک فاکتورهای بیماری و آموزش بهداشت دامداران و کشاورزان جهت کنترل و پیشگیری از بیماری پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان به لحاظ تأمین اعتبار این طرح تحقیقاتی (۴۰۲۱۰۰) قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

منابع مورد استفاده

1-Sokol-Borrelli SL, Coombs RS, Boyle JP. A comparison of stage conversion in the coccidian apicomplexans *Toxoplasma gondii*, *Hammondia hammondi*, and *Neospora caninum*. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:608283.

2-Dubey J, Schares G. Neosporosis in animals—the last five years. *Vet Parasitol*. 2011;180(1-2):90-108.

3- Dubey JP. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol*. 2003;41(1):1.

4-Gharekhani J, Yakhchali M, Berahmat R. *Neospora caninum* infection in Iran (2004–2020): A review. *J Parasit Dis*. 2020;44:671-86.

5- Japa O, Nuangmek A, Prakhamin K, Flynn RJ. Prevalence of vertically transmitted *Neospora caninum* amongst beef cattle in Phayao, Thailand. *Parasitol Int*. 2019; 70:98-101.

6-Gutiérrez-Expósito D, González-Warleta M, Espinosa J, Valle-

- factors associated with bovine neosporosis. *Trop Anim Health Prod* 2019;51:1783-800.
- 17- Nayeri T, Sarvi Sh, Moosazadeh M, Daryani A. The Global Prevalence of Neospora caninum Infection in Sheep and Goats that had an Abortion and Aborted Fetuses: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Vet Sci*. 2022 Apr 26;9:870904. doi: 10.3389/fvets.2022.870904. eCollection 2022.
- 18- Salehi B, Amouei A, Dodangeh S, Daryani A, Sarvi S, Safari-Kharyeki MR, et al. Molecular Identification of Neospora caninum Infection in Aborted Fetuses of Sheep, Cattle, and Goats in Mazandaran Province, Northern Iran. *Iran J Parasitol*. 2021;16(3):483-9.
- 19- Razmi G, Naseri Z. Molecular detection of Neospora caninum infection in ovine aborted foetuses in the Mashhad area, Iran. *Ann Parasitol*. 2017;63(1):45-7.
- 20- Reichel MP, Ayanegui-Alce'reca MA, Gondim LFP, Ellis JT. What is the global economic impact of Neospora caninum in cattle—the billion-dollar question? *Int J Parasitol* 2013; 43:133–142.
- 21- Razmi GR, Zaree H, Norbakhsh MF, Naseri Z. Estimating the rate of transplacental transmission of Neospora caninum to aborted fetuses in seropositive dams in Mashhad area, Iran. *Iran J Vet Med* 2013; 7(4):253–256.
- 22- Campero LM, Basso W, Moré G, Fiorani F, Hecker YP, Echaide I et al. Neosporosis in Argentina: Past, present and future perspectives. *Vet Parasitol Reg Stud Reports*. 2023 Jun;41:100882. doi: 10.1016/j.vprsr.2023.100882. Epub 2023 Apr 23.
- 23- Noori M, Rasekh M, Ganjali M, Fard SRN. Seroprevalence of Neospora caninum infection and associated risk factors in cattle of Siستان areas, Southeastern Iran in 2016. *Iran J Parasitol*. 2019; 14(2):340.
- 24- Yamage M, Flechtner O, Gottstein B. Neospora caninum: Specific oligonucleotide primers for the detection of brain “cyst” DNA of experimentally infected nude mice by the polymerase chain reaction (PCR). *J Parasitol* 1996; 82:272-9.
- 25- Müller N, Zimmermann V, Hentrich B, Gottstein B. Diagnosis of Neospora caninum and Toxoplasma gondii infection by PCR and DNA hybridization immunoassay. *J Clin Microbiol* 1996; 34:2850-2
- 26- Arbabi M, Abdoli A, Dalimi A, Pireštani M. Identification of latent neosporosis in sheep in Tehran, Iran by polymerase chain reaction using primers specific for the Nc-5 gene onderstepoort. *J Vet Res*. 2016;83(1):1-7.
- 27- Rašti S, Marandi N, Abdoli A, Delavari M, Mousavi Gh.A. Serological and molecular detection of Toxoplasma gondii in sheep and goats in Kashan, Central Iran. *J Food Safe*. 2018; 38(2): e12425. https://doi.org/10.1111/jfs.12425.
- 28- Abo-Shehada MN, Abu-Halaweh MM. Flock-level seroprevalence of, and risk factors for, Neospora caninum among sheep and goats in northern Jordan. *Prev Vet Med*. 2010; 93(1):25-32
- 29- Qian W, Yan W, Lv Ch, Bai R, Wang T, Wei Z, Zhang M. Molecular Detection and Genotyping of Toxoplasma gondii and Neospora caninum in Slaughtered Goats in Central China. *Food Path Dis*. 2020; 17(5): 1-9. DOI: 10.1089/fpd.2019.2726.
- 30- Liu, Z.-K., Li, J.-Y. & Pan, H., Seroprevalence and risk factors of Toxoplasma gondii and Neospora caninum infections in small ruminants in China', *Prev Vet Med*. 2015, 118, 488–492. http://dx.doi.org/10.1016/j. prevetmed.2014.12.017.
- 31- Gökçe, G., Mor, N., Kırmızıgül, A., Bozukluhan, K. & Erkilic, E. The first report of seropositivity for Neospora caninum in sheep from Turkey', *Israel J Vet Med*. 2015; 70, 40–44.
- 32- Şuteu, O., Paştiu, A., Györke, A., Avram, E. & Cozma, V., Molecular detection of Neospora caninum in slaughtered goat kids from Romania', *Sci Parasitol* 2013; 14, 43–46.
- 33- Amdouni Y, Amairia S, Said Y, Awadi S, Gharbi M. First molecular detection and phylogenetic analysis of Neospora caninum DNA from naturally infected goats in Northwest Tunisia. *Acta Parasitol* 2018; 63:709–714.
- 34- Nasir, A., Ashraf, M., Khan, M., Javeed, A., Yaqub, T., Avais, M. et al. Prevalence of Neospora caninum antibodies in sheep and goats in Pakistan'. *J Parasitol*. 2012; 98, 213–215. http://dx.doi.org/10.1645/GE-2863.1
- 35- Hecker Y.P, Moore D.P, Manazza J A, Unzaga J M, Ernešto J. A. Späth E J. A, Lais L et al. First report of seroprevalence of Toxoplasma gondii and Neospora caninum in dairy sheep from Humid Pampa, Argentina. *Trop Anim Health Prod*. 2013; 45:1645–1647. DOI 10.1007/s11250-013-0396-1.
- 36- Zhang X, Liu J, Li M, Fu Y, Zhang T, Han Q, et al., Role of an estradiol regulatory factor-hydroxysteroid dehydrogenase (HSD) in Toxoplasma gondii infection and pathogenicity. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2017; 174:176-182. http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.09.001.
- 37- Asadpour R, Jafari-Joozani R, Salehi N. Detection of Neospora caninum in ovine abortion in Iran. *J Parasit Dis*. 2013;37(1):105-9.

