جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسی شیوع سرمی *نئوسپورا کنینوم* در گوسفندان شهرستان میانه به روش الایزای رقابتی و ایمونوفلورسانس غیرمستقیم

رضا وجدی حکم‌آباد[1*]، مجید خانمحمدی[2]، محمدرضا منیری سرابی[3]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد میانه، استادیار، گروه دامپزشکی، میانه، ایران
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرند، استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، مرند، ایران
۳- دانش آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، کارشناس اداره کل دامپزشکی استان اردبیل، اردبیل، ایران

(دریافت مقاله: ۹۲/٤/۱۱ پذیرش نهایی: ۹۲/٦/۱۸)

چکیده

نئوسپورا کنینوم (*Neospora caninum*) نوعی انگل تک یاخته دامی می‌باشد که در گوسفند منجر به کاهش تولیدمثل می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی شیوع سرمی *نئوسپورا کنینوم* در گوسفندان شهرستان میانه در استان آذربایجان شرقی با استفاده از دو روش الایزای رقابتی (competitive Enzyme Linked Immunesorbent Assay (cELISA)) و ایمونوفلورسانس غیر مسقیم (Indirect immunoflorescent assay (IFA)) در سال ۱۳۹۱ می‌باشد. بدین منظور تعداد ۳۱۷ سرم گوسفند از ۹ روستای مختلف شهرستان اخذ و توسط هر دو روش ذکر شده آزمایش شد. از ۳۱۷ سرم آزمایش شده بوسیله الایزا، شیوع سرمی این انگل ۴/۱ درصد (۱۳ مورد) اندازه گیری شد که بیشتر سرم‌ها در محدوده مهاری ۳۰ تا ۴۰ درصد قرار داشتند. فقط ۸ (۲/۵۲درصد) نمونه از سرم‌هایی که در روش الایزا مثبت بود در IFA نیز مثبت شناسایی گردید. در این آزمایش بیشترین تعداد سرم مثبت (۳ سرم) دارای تیتر ۱:۶۴ بود. با در نظر گرفتن آزمایش IFA بعنوان تست مرجع، میزان حساسیت و ویژگی آزمایش ELISA بترتیب ۶۱/۵ درصد و ۱۰۰ درصد و میزان ارزش اخباری مثبت و منفی بترتیب برابر با ۱۰۰ درصد و ۹۸/۳ درصد می‌باشد. درصد همخوانی بین دو روش آزمایش ۹۸/۴ درصد و ضریب کاپا در حد خوب و به مقدار ۰/۷۵۴ محاسبه شد ($p<0.001$). نتایج تحقیق حاکی از مواجهه محیطی اندک گوسفندان منطقه با انگل *نئوسپورا کنینوم* است.

واژگان کلیدی: گوسفند، نئوسپورا کنینوم، نئوسپوروزیس، الایزا، ایمنوفلورسانس غیرمستقیم

مقدمه

استان آذربایجان شرقی در گوشه شمال‌غرب فلات ایران قرار دارد. هوای منطقه از رطوبت متوسطی برخوردار است که آن را مستعد تکثیر انگل‌ها می‌کند. گوسفند نسبت به سایر دام‌های اهلی به بیماریهای انگلی حساس‌تر می‌باشد. گرچه امروزه با استفاده از داروهای ضد انگلی از مشکلات ناشی از انگل‌ها تا حدودی کاسته شده است اما همچنان درصد بالایی از

*- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: r.vajdi@m-iau.ac.ir

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

موارد نازایی و سقط جنین در گوسفند منشاء انگلی و بخصوص تک یاخته‌ای دارد. شهرستان میانه از توابع استان آذربایجان شرقی بوده و بعلت داشتن اقلیم آب و هوائی کوهستانی و وجود انواع متنوع گونه‌های جانوری، منطقه مناسبی برای حضور انگل نئوسپورا می‌باشد. این منطقه بدلیل رونق صنعت دامپروری، یکی از مهمترین مناطق پرورش گوسفند در شمال غرب کشور می‌باشد.

نئوسپورا کنینوم انگل تک یاخته دامی محسوب می‌شود. تا سال ۱۹۸۸ این انگل همان توکسوپلاسما گوندی تلقی می‌شد (Dubey, *et al*.,1988). در زمان اولین تشخیص آن در سگهای نروژی توسط بجرکاس در سال ۱۹۸٤ (Bjerkas, *et al*., 1984) و توصیف گونه و جنس *نئوسپورا کنینوم* توسط دوبی و همکاران در سال ۱۹۸۸ این انگل بعنوان یک بیماری جدی و مهم گاو و سگ‌ها در سراسر دنیا مطرح شد(Dubey,1988).

بیولوژی عمومی *نئوسپورا کنینوم* (Dubey, 2003)، پاتوژنز و روش‌های تشخیص آن در گاو شناخته شده است (Dubey, 2006, Dubey and Schares, 2006, Ortega-Mora, *et al*., 2006) اگرچه آنتی‌بادی علیه نئوسپورا در انسان گزارش شده است ولی حضور انگل در بافت‌ها نشان داده نشده است. بنابراین جنبه بیماری مشترک بودن آن جای ابهام دارد (Lobato, *et al*., 2006, Tranas, *et al*.,1999).

سگ و کایوت به عنوان مخازن نهایی و گوسفند و سایر حیوانات خونگرم به عنوان میزبان واسط و تصادفی این انگل مطرح هستند که از طریق خوردن اووسیست‌های دفع شده از مدفوع سگها آلوده می‌شوند. این انگل در میزبان‌های واسط از طریق جفت از مادر به نوزاد نیز انتقال می‌یابد. انتشار این انگل به مرزهای جغرافیائی محدود نمی‌شود و در سرتاسر جهان یافت می‌شود. علایم بالینی *نئوسپورا کنینوم* در گوسفند شبیه توکسوپلاسما می‌باشد اما برخلاف آن منجر به سقطهای مکرر می‌شود که حاکی از عدم ایجاد ایمنی مطلوب پس از اولین ابتلا به انگل می‌باشد. این انگل در سگ منجر به بیماری عصبی- عضلانی می‌شود (Dubey, 2003).

روش‌های مختلفی برای تشخیص این انگل وجود دارد که اکثر این روش‌ها مبتنی بر روش‌های غیر مستقیم از طریق شناسایی آنتی‌بادی‌های ضد انگل در خون دام‌های مبتلا می‌باشد. روش‌های مستقیم تشخیص از طریق جداسازی و شناسایی مولکولی با استفاده از PCR می‌باشد (Dubey and Schares, 2006).

انگل نئوسپورا بعنوان یکی از علل شایع سقط جنین تک یاخته‌ای در گاو مطرح است. اما در سال ۲۰۰۳ برای اولین بار در گوسفند بعنوان عامل سقط جنین معرفی شد و کانون توجه قرار گرفت (Hassig *et al*., 2003). این انگل در گوسفند منجر به عفونت مادرزادی، مرده زایی، سقط و تولد بره های ضعیف می‌شود و از طریق افزایش فاصله باروری، افزایش درصد حذفی گله، وازد کردن گله، کاهش باروری و کاهش تولید شیر منجر به ضررهای اقتصادی جبران ناپذیر می‌شود. در کشور ما مطالعات زیادی در مورد شیوع این انگل در گاوها صورت پذیرفته است اما به دلیل نوظهور بودن این انگل در گوسفند، هنوز مطالعات چندانی صورت نپذیرفته است. این تحقیق می‌تواند با تعیین کردن میزان شیوع این انگل در گوسفندان منطقه و آشکار ساختن اهمیت آن به عنوان مقدمه‌ای برای تحقیقات بعدی در جهت مطالعه تعیین نقش مستقیم این انگل در سقطهای مکرری که در منطقه ثبت می‌شود و ارزیابی ضررهای اقتصادی ناشی از آن باشد. تا بتوان با ارائه راهکارهای مناسب پیشگیری و درمان و آگاه‌سازی دامداران در حد توان از ضررهای اقتصادی ناشی از انگل کاست.

مواد و روش‌ها

جامعه آماری مورد مطالعه، گوسفندان شهرستان میانه است. روش مطالعه در این تحقیق به صورت

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

توصیفی مقطعی و روش نمونه برداری به صورت تصادفی خوشه‌ای می‌باشد. با در نظر گرفتن میزان شیوع در حدود ۳۰ درصد و سطح اعتماد ۹۵ درصد و میزان خطای ۰/۰۵ تعداد ۳۱۷ راس گوسفند از ۹ روستا برای نمونه‌گیری انتخاب شد.

برای تجزیه و تحلیل اطلاعات از روشهای آمار توصیفی شامل (جداول آماری-شاخص‌های آماری-نمودارهای آماری و...) توسط نرم‌افزار Excel استفاده شد. همچنین با استفاده از نرم افزار (Ver. 17) SPSS® درصد همخوانی بین روش‌های مختلف آزمایش و ضریب کاپا محاسبه گردید. مقادیر $p<0.05$ به لحاظ آماری معنی‌دار تلقی شد.

نمونه خون با استفاده از لوله ونوجکت استریل مستقیماً از سیاهرگ گردنی (ورید وداج) گوسفندان اخذ شده و هر کدام شماره گذاری شدند. سپس نمونه‌ها، سریعاً به آزمایشگاه منتقل و به مدت نیم ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس (به منظور جدا شدن سرم) قرار گرفتند. سپس سرم آنها به یک لوله استریل دیگر منتقل و با دور ٤٠٠٠rpm به‌مدت ۱۰ دقیقه (جهت تهیه سرم شفاف و عاری از گلبول) سانتریفوژ شد و هر نمونه به صورت جداگانه به میکروتیوب‌های ۱/۵ سی‌سی استریل منتقل و پس از شماره‌گذاری در ۷۰°C- تا زمان آزمایش نگهداری شد.

- مراحل آزمایش ایمنوفلورسنت غیرمستقیم

ویال آنتی IgG گوسفند کونژوگه با ایزوتیوسیانات فلورسین (Sigma® Co. United States) با استفاده از سمپلر در مقادیر ٤٠ میکرولیتر به درون میکروتیوب‌های درب دار تقسیم شده و در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس و در تاریکی نگهداری شد. در زمان آزمایش محتویات هر میکروتیوپ را با یک سی‌سی بافر PBS مخلوط و یک قطره محلول اوانس بلو به عنوان اندیکاتور به آن اضافه گردید. سپس ابتدا کیت تشخیصی ایمنوفلورسنت غیر مستقیم *نئوسپورا کنینوم* (Fuller® Laboratories, California, USA) از یخچال خارج شده و لام‌های کوت شده با آنتی‌ژن به درجه حرارت آزمایشگاه (۵±۲۱ سانتی گراد) رسانده شد.

از سرم‌های مورد آزمایش رقت‌های لازم از ۱:۱۰ تا ۱:۲٥٦۰ تهیه شد.

پس از اینکه لام‌ها مدتی بیرون از یخچال بودند، ۲۰ میکرولیتر از رقت‌های تهیه شده به ترتیب روی حفرات آنتی‌ژن کوت شده روی لام انتقال داده می‌شود.

بعد از مرحلهٔ فوق لام‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در یک اتاقک مرطوب انکوبه شدند. در صورتیکه سرم مورد آزمایش حاوی آنتی‌بادی ضد *نئوسپورا کنینوم* باشد در این مدت با آنتی‌ژن کوت شده باند می‌شود؛ در غیر اینصورت در مرحلهٔ شستشو کاملاً شسته خواهد شد.

لام‌های فوق بمدت ۷ دقیقه با تامپون PBS شستشو داده شدند.

روی هر کدام از حفرات، یک قطره آنتی IgG گوسفند کونژوگه با ایزوتیوسیانات فلورسین که قبلاً آماده شده و با توجه به توصیه شرکت سازنده به نسبت ۱:۵۰ با آب مقطر رقیق شده، ریخته می‌شد. روی محلول فوق دو قطره محلول رنگی ۰/۱ درصد اوانس بلو اضافه و بخوبی مخلوط گردید. سپس از محلول فوق مقدار ۲۰ میکرولیتر بر روی هر یک از جایگاه‌های آنتی‌ژن پخش نموده و لام‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه مجدداً در محفظه مرطوب و در دمای آزمایشگاه قرار داده‌شدند. آنگاه همانند مرحله قبلی عمل شستشو تکرار و پس از گرفتن آب اضافی لام‌ها و قبل از خشک شدن کامل دو یا سه قطره گلیسرین تامپونه روی سطح لام‌ها ریخته و با قرار دادن ۳ عدد لامل ۲۲×۲۲ در زیر میکروسکوپ ایمونوفلوئورسانس مطالعه شدند و آخرین تیتری که در آن بیش از ۵۰ درصد تاکی زوئیت‌ها دارای اثر فلورسانس بودند مثبت تلقی گردید. به لحاظ اطمینان از دقت و صحت انجام آزمایش از سرم مثبت بعنوان شاهد مثبت و از سرم منفی بعنوان شاهد منفی استفاده شد.

– آزمایش الایزا

برای انجام آزمایش، از روش الایزای رقابتی (competitive Enzyme- Linked Immunosorbent Assay (cELISA) با استفاده از کیت آماده (VMRD® Inc., USA) بهره‌گرفته شد. این کیت، آنتی بادی‌های ضد *نئوسپورا کنینوم* موجود در سرم را نشان می‌دهد. محتویات این کیت موارد موجود در جدول ۱ را شامل می‌شود که پس از انجام مراحل آماده‌سازی طبق روش توصیه شده در داخل کیت، مراحل آزمایش به‌ترتیب زیر صورت پذیرفت:

جدول ۱– محتویات کیت تشخیصی نئوسپورا کنینوم به روش الایزای رقابتی

کد	محتوا	مقدار
A	پلیت‌های پوشیده شده با آنتی‌ژن	۵ پلیت
B	کنترل مثبت	۳/۶ میلی لیتر
C	کنترل منفی	۳/۶ میلی لیتر
D	کونژوکه آنتی‌بادی– پراکسیداز ۱۰۰X	۵۰۰ میلی لیتر
E	بافر رقیق کننده کونژوکه	۶۰ میلی لیتر
F	کنسانتره محلول شستشو X ۱۰	۲ عدد ۱۲۰ میلی لیتری
G	محلول سوبسترا	۶۰ میلی لیتر
H	محلول متوقف کننده	۶۰ میلی لیتر

کنترل‌ها و نمونه‌های سرمی به داخل پلیت‌های پوشیده با آنتی‌ژن (A) با استفاده از سمپلر ۰/۵ میکرولیتری ریخته شده و در دمای اتاق به مدت یک ساعت انکوبه شد.

پس از پایان زمان انکوباسیون پلیت‌ها با استفاده از محلول شستشو X ۱ به دفعات سه بار شسته شدند.

۵۰ میکرولیتر از محلول کونژوکه آنتی‌بادی– پراکسیداز رقیق شده به هر گوده اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید.

گوده‌ها پس از ۲۰ دقیقه شسته شد.

۵۰ میکرولیتر از سوبسترای (G) به هر یک از گوده‌ها اضافه و در دمای اتاق به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه شد.

۵۰ میکرولیتر از محلول متوقف کننده (H) به هر یک از گوده‌ها اضافه شد.

خواندن و ثبت کردن نتایج: بلافاصله پس از اضافه کردن محلول متوقف کننده، پلیت‌ها تا طول موج ۶۲۰، ۶۳۰ یا ۶۵۰ نانومتر توسط دستگاه خوانده شده و نتایج ثبت گردید.

– اعتبار سنجی

میانگین کنترل منفی‌ها تراکم نوری (O.D.) ۰/۳۰≥ و ۲/۵ > ایجاد می‌کند.

میانگین کنترل مثبت‌ها ممانعت ۳۰ درصد ≥ ایجاد می‌کند.

محاسبه درصد ممانعت

$$\% I = 100 - [(\text{Sample O.D.} \times 100) \div (\text{Mean Negative Control O.D.})]$$

تفسیر نتایج

اگر یک نمونه آزمایشی ممانعت ۳۰ درصد ≥ ایجاد کند مثبت می‌باشد.

اگر یک نمونه آزمایشی ممانعت ۳۰ درصد > ایجاد کند منفی می‌باشد.

نتایج

رنگ شدید در انتهای آزمایش نشان دهنده عدم وجود آنتی‌بادی در نمونه و برعکس رنگ خفیف حاکی از وجود آنتی‌بادی می‌باشد. از ۳۱۷ سرم آزمایش شده با روش الایزا، شیوع سرمی *نئوسپورا کنینوم* ۴/۱ درصد و تعداد کل موارد مثبت، ۱۳ مورد گزارش شد (جدول ۲). آنتی بادی علیه *نئوسپورا کنینوم* در این گوسفندان با میزان مهاری ۳۰ تا ۷۰ درصد اندازه‌گیری شد که بیشتر سرم‌ها در محدوده مهاری ۳۰ تا ۴۰ درصد قرار داشتند (جدول ۳). همه نمونه‌های منفی در آزمایش الایزا در IFA نیز منفی بودند اما تنها ۸ (۲/۵۲

درصد) نمونه از سرم‌هایی که در روش الایزا مثبت بود با IFA نیز مثبت گردید (جدول ۲). در اندازه‌گیری آنتی بادی علیه *نئوسپورا کنینوم* توسط IFA که ۸ نمونه از کل سرمها مثبت بودند بیشترین تعداد سرم مثبت (۳ سرم) دارای تیتر ۱:٦٤ بود (جدول٤). تمامی سرم‌ها با حداکثر تیتر آزمایش شدند. با در نظر گرفتن آزمایش IFA بعنوان تست مرجع میزان حساسیت و ویژگی آزمایش cELISA بترتیب ٦١/٥ درصد و ۱۰۰ درصد و میزان ارزش اخباری مثبت و منفی بترتیب برابر با ۱۰۰ درصد و ۹۸/۳ درصد بود. درصد همخوانی بین دو روش آزمایش ۹۸/٤ درصد و ضریب کاپا در حد خوب و به مقدار ۰/۷٥٤ محاسبه شد ($p<0.001$). بیشترین میزان آلودگی سرمی در میان گوسفندان روستای حصار (۳۰/۷۷ درصد) مشاهده شد.

جدول ۲- مقایسه میزان شیوع سرمی نئوسپوروزیس در کل نمونه‌های سرمی با استفاده از دو روش cELISA و IFA

cELISA	IFA		جمع (درصد)
	مثبت (درصد)	منفی (درصد)	
مثبت (درصد)	۸ (۲/۵۲)	۵ (۱/۵۸)	۱۳ (۴/۱)
منفی (درصد)	۰ (۰)	۳۰۴ (۹۵/۹)	۳۰۴ (۹۵/۹)
جمع (درصد)	۸ (۲/۶)	۳۰۹ (۹۷/۴)	۳۱۷ (۱۰۰)

جدول ۳- فراوانی سرمهای مثبت شده در محدوده‌های مهاری مختلف در آزمایش cELISA

محدوده مهاری (درصد)	تعداد سرمهای مثبت شده	درصد سرمهای مثبت شده
۳۰ تا ۴۰	۸	۶۱/۵
۴۱ تا ۵۰	۳	۲۳/۱
۵۱ تا ۶۰	۱	۷/۷
۶۱ تا ۷۰	۱	۷/۷
جمع	۱۳	۱۰۰

جدول ۴- فراوانی سرم‌هایی که در تیترهای مختلف آزمایش IFA مثبت شده‌اند

تیتر	تعداد سرمهای مثبت	درصد
۱:۶۴	۳	۳۷/۵
۱:۱۲۸	۲	۲۵
۱:۲۵۶	۲	۲۵
۱:۵۱۲	۱	۱۲/۵
جمع	۸	۱۰۰

بحث و نتیجه‌گیری

بر خلاف گونه گاو اطلاعات زیادی در مورد بیماری نئوسپوروزیس گوسفند وجود ندارد و کارهای تحقیقاتی اندکی در این مورد صورت گرفته است. سوابق مطالعاتی که تاکنون در ایران صورت گرفته باشد به شکل مدون وجود ندارد.

بر اساس منابع، *نئوسپورا کنینوم* عامل شایع سقط جنین در گوسفندان نمی باشد اما عفونت تجربی در آنها ایجاد شده است و اگر در زمان آبستنی آغاز شود، آثار پاتولوژیکی آن درست شبیه این علایم در گاو خواهد بود. علاوه بر این علایم بالینی، ضایعات پاتولوژیکی آن در گوسفند کاملاً شبیه علایمی است که توسط توکسوپلاسما گوندی ایجاد می‌شود. بنابراین آزمایش‌های سرولوژی اختصاصی مثل IFA در دام‌های مادر و آزمایشهای اختصاصی مستقیم مثل PCR در جنین‌ها، جهت تایید تشخیص عامل عفونی مسبب سقط قابل اعتماد می‌باشند (Dubey, 2003).

دوبی و همکاران در سال ۱۹۹۰ نئوسپورا را عامل مرگ در بره‌های نوزاد معرفی کردند و عنوان کردند این انگل سبب عفونت مادرزادی در گوسفندانی می‌شود که به شکل طبیعی در معرض این انگل قرار گرفته‌اند (Dubey, 1990). متعاقباً کوبایاشی و همکاران در سال ۲۰۰۱ مواردی از عفونت طبیعی با این انگل در جنین‌های گوسفند گزارش کردند که حاکی از انتقال عمودی (از طریق جفت) این انگل می‌باشد (Kobayashi, 2001). هلمیک و همکاران در سال ۲۰۰۲ در گوسفندان سقط کرده، شیوع کمی از این انگل مشاهده کردند که پیشنهاد می‌کرد این انگل نمی تواند از علل سقط باشد (Helmick, 2002). اما در سال ۲۰۰۳ اولین مورد ارتباط این انگل و سقط جنین در موارد عفونت طبیعی گوسفند مطرح شد (Hassig, *et al.*, 2003). پنا و همکاران در سال ۲۰۰۷ برای اولین بار جداسازی و تعیین هویت مولکولی این انگل را در مغز گوسفندان مبتلا نشان

دادند (Pena,2007). اخیراً نیز و هوو و همکاران در سال ۲۰۰۸ این انگل را از میش‌های سقط کرده جدا کرده و ارتباط این انگل را با کاهش باروری تشریح کردند (Howe,2008). شیوع سرمی این انگل در مطالعه حاضر (٤/١ درصد) با نتایج برخی مطالعات دیگر همخوانی نزدیکی دارد؛ برای مثال سورز و همکارن در سال ۲۰۰۹ میزان شیوع آن را در گوسفندان برزیل ۱/۸٪ گزارش کردند (Soares, 2009) اسپیلوسکا و همکاران در سال ۲۰۰۹ میزان شیوع انگل را در گوسفندان اسلوواکی ۳/۷ درصد ثبت کردند (Spilovska, 2009) و در مطالعه سالابری و همکاران در سال ۲۰۱۰ در برزیل میزان آلودگی به نئوسپورا با استفاده از روش IFA، ۸/۱ درصد گزارش شد (Salaberry,2010). اما در برخی از تحقیقاتی که در برزیل صورت پذیرفته است میزان شیوع سرمی بسیار بالا یا بسیار متغیر بوده است. برای مثال آگوار و همکاران در سال ۲۰۰٤ در برزیل با بررسی سرولوژیک، شیوع متغیری از نئوسپورا (٦/٤ تا ۲۹ درصد) را در گوسفندان نشان دادند (Aguiar,2004) و در مطالعه دیگری در برزیل که در سال ۲۰۱۱ برای تعیین شیوع *نئوسپورا کنینوم* با استفاده از روشهای ELISA و IFA و Immuno blot صورت پذیرفت به ترتیب میزان شیوع برابر با ٢٦/٤ درصد، ٤٧/١ درصد و صفر برای هر یک از روشهای فوق گزارش گردید (Rossi, *et al*., 2001). همچنین در تحقیق دیگری در برزیل در سال ۲۰۱۱ با استفاده از روش IFA، ۱۲/۸ درصد از گوسفندان مثبت تشخیص داده شدند (Langoni, *et al*., 2011). با توجه به اینکه هر یک از مطالعات ذکر شده در برزیل در ایالات‌های مختلف آن صورت پذیرفته است بنابراین ممکن است مواجهه محیطی با این انگل در مناطق مختلف متفاوت باشد که یکی از دلایل آن وجود شرایط محیطی مختلف مناسب برای رشد و تکثیر انگل می‌باشد. نتایج این مطالعه که برای اولین بار در این منطقه صورت پذیرفته است حاکی از آن است که شیوع سرمی در گوسفندان میانه کم بوده و احتمالاً درصد بسیار کمتری از سقطها ناشی از این انگل می‌باشد اما این نیاز احساس می‌شود که در سایر مناطق کشور نیز نسبت به تعیین شیوع سرمی انگل در گوسفندان آزمایشاتی صورت پذیرد. با توجه به اینکه در این منطقه مواجهه محیطی با *نئوسپورا کنینوم* در گوسفندان بندرت اتفاق می‌افتد و همچنین بدلیل اینکه جنبه زئونوز بودن این انگل هنوز بخوبی آشکار نشده است (فقط سطوح پائین آنتی بادی‌ها گزارش شده است و DNA *نئوسپورا کنینوم* و نیز خود انگل از بافت‌های انسانی جدا نشده است (Dubey, *et al*., 2007) لزوم برخورد جدی با این انگل در منطقه چندان احساس نمی‌شود. اما مطالعه شیوع سرمی این انگل در گاوهای منطقه و بخصوص در آنهایی که سقط کرده‌اند پیشنهاد می‌شود. چراکه اهمیت اقتصادی این انگل در صنعت پرورش گاو به مراتب بیشتر از گوسفند بوده و درصدهای بالای شیوع سرمی در گاو گزارش شده است.

سپاسگزاری

نویسندگان از کلیه همکارانی که ما را در اجرا و گزارش این تحقیق یاری نمودند همچنین معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه و از مسئولین و همکاران شاغل در اداره دامپزشکی شهرستان میانه بسیارتشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

• Bjerkas, I., Mohn, S. F., Presthus, J., (1984). Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. Zeitschrift für Parasitenkunde. (70): 271–274.

- Buxton, D., (1998). Protozoan infections (*Toxoplasma gondii, Neospora caninum* and *Sarcocystis* spp.) in sheep and goats: recent advances. Veterinary Research. (29): 289-310.
- Dubey, J. P., (2003). Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. Korean Journal of Parasitology. (41): 1–16.
- Dubey, J. P., Buxton, D., Wouda, W., (2006). Pathogenesis of bovine Neosporosis. Journal of Comparative Pathology. (134): 267–289.
- Dubey, J. P., Carpenter, J. L., Speer, C. A., Topper, M. J., Uggla, A., (1988). Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. Journal of the American Veterinary Medical Association. (192): 1269–1285.
- Dubey, J. P., Lindsay, D. S., (1990). *Neospora caninum* induced abortion in sheep. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. (3): 230-233.
- Dubey, J. P., Schares, G., (2006). Diagnosis of bovine Neosporosis. Veterinary Parasitology. (141): 1–34.
- Dubey, J. P., Schares, G., Ortega-Mora Clin, L. M., (2007). Epidemiology and Control of Neosporosis and Neospora caninum, Microbiological reviews. 20 (2): 323.
- Hassig, M., Sager, H., Reitt, K., Ziegler, D., Strabel, D., Gottstein, B., (2003). *Neospora caninum* in sheep: a herd case report, Veterinary Parasitology, (117): 213-220.
- Helmick, B., Otter, A., Mcgarry, J., Buxton, D., (2002). Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*. Research in Veterinary Science. (73): 187.
- Howe, L., West, D. M., Collet, M. G., Tattersfield, G., Pattison, R. S., Pomory, W. E., Kenyon, P. R., Morris, S. T., Williamson, N. B., (2008). The role of *Neospora caninum* in three cases of unexplained abortions in the southern North Island of New Zealand. Small Ruminant Research. (75): 115-122.
- Kobayashi, Y., Yamada, M., Omata, Y., Koyama, T., Saito, A., Matsuda, T., Okuyama, K., Fujimoto, S., Furuoka, H., Matsui, T., (2001). *Neospora caninum* infection in an adult sheep and her twin fetuses. The Journal of Parasitology. (87): 436-437.
- Langoni, H., Junior, H. G., Guimaraes, F. F., Ullman, L. S., Gaio, F. C., Uehara, R. S., Rosa, E. P., Amorim, R. M., Da Silvia, R. C., (2011). Serological profile of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection in commercial sheep from Sao Paulo State, Brazil, Veterinary Parasitology. (177): 50-54
- Lobato, J., Silva, D. A. O., Mineo, T. W. P., Amaral, J. D. H. F., Segundo, G. R. S., Costa-Cruz, J. M., Ferreira, M. S., Borges, A. S., Mineo, J. R., (2006). 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. Clinical and Vaccine Immunology. (13): 84–89.
- Ortega-Mora, L. M., Ferna´ndez-Garcı´a, A., Go´mez-Bautista, M., (2006). Diagnosis of bovine Neosporosis: recent advances and perspectives. Acta Parasitologica. (51): 1–14.
- Pena, H. F. J., Soar, H., July, F., (2007). Isolation and molecular detection of *Neospora caninum* from naturally infected sheep from Brazil. Veterinary Parasitology. (147): 61-66
- Rossi, G. F., Cabral, D. D., Ribeiro, D. P., Pajuaba, A. C. A. M., Correa, R. R., Moreira, R. Q., Mineo, T. W. P., Mineo, J. R., Silvia, D. A. O., (2001). Evaluation of *Toxoplasma gondii* and

Neospora Caninum infections in sheep from Uberlandia, Minas Gerais State, Brazil, by different serological methods, Veterinary Parasitology. (175): 252-259.

- Salaberry, S. R. S., Okuda, L. H., Nassar, A. F. C., Castro, J. R., Lima-Riberio, A. M. C., (2010).Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in sheep flocks of Uberlandia county, MG, Rev. Bras. Veterinary Parasitology. (19): 148-151.
- Soares, H. S., Ahid, S. M. M., Bezerra, A. C. D. S., Pena, H. F. J., Dias, R. A., Gennari, S. M., (2009). Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti- *Neospora caninum* antibodies in sheep from Mossoro, Rio Grande de Norte, Brazil, Veterinary Parasitology. (160): 211-214.
- Spilovska, S., Reiterova, K., Kovacova, D., Bobakova, M., Dubinsky, P., (2009). The first finding of *Neospora caninum* and occurrence of other abortificient a gents in sheep in Slovakia, Veterinary Parasitology. (164): 320-323.
- Tranas, J., Heinzen, R. A., Weiss, L. M., McAllister M. M., (1999). Serological evidence of human infection with the protozoan *Neospora caninum*. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. (6): 765–767.