Neospora Enfeksiyonları, Epidemiyoloji, İzleme ve Eradikasyon Stratejileri

Neosporosis, Epidemiology, Monitoring and Eradication Strategies

Armağan Erdem ÜTÜK[a],
Funda EŞKİ[b]

[a]Çukurova Üniversitesi
Ceyhan Veteriner Fakültesi,
Parazitoloji ABD,
Adana, TÜRKİYE
[b]Çukurova Üniversitesi
Ceyhan Veteriner Fakültesi,
Doğum ve Jinekoloji ABD,
Adana, TÜRKİYE

Yazışma Adresi/*Correspondence:*
Armağan Erdem ÜTÜK
Çukurova Üniversitesi
Ceyhan Veteriner Fakültesi,
Parazitoloji ABD,
Adana, TÜRKİYE
erdemutuk@hotmail.com

KAYNAK GÖSTERMEK İÇİN:
Ütük AE, Eşki F. Neospora enfeksiyonları, epidemiyoloji, izleme ve eradikasyon stratejileri. Ergün Y, editör. Sütçü Sürülerde Sürdürülebilir Sürü Sağlığında Primer Öneme Sahip Hastalıklar, Epidemiyoloji, İzleme ve Eradikasyon Stratejileri. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2021. p.54-62.

ÖZET *Neospora caninum*, Apicomplexa şubesinde yer alan ve sığırlarda abortlarla karakterize neosporosis adlı hastalığa neden olan coccidian bir protozoondur. İlk tanımlandığı 1984 yılından günümüze kadar geçen 36 yıl içerisinde sığır neosporosisi konusunda çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen hastalığın epidemiyolojik özellikleri, tedavisi, korunma ve kontrol yöntemleri ile etkenin biyolojik özellikleri hâlen gizemini korumakta, diğer çiftlik hayvanları ile yabani hayvanlarda hastalığın durumu hakkında ise çok az bilgi bulunmaktadır. Bu bölümde çiftlik hayvanlarında neosporosis konusunda toplu ve güncel bilgilerin sunulması hedeflenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Neospora caninum*; epidemiyoloji; önleme ve kontrol

ABSTRACT *Neospora caninum* is a coccidian parasite that belongs to the Apicomplexa group and causes a disease called neosporosis characterized by abortions in cattle. Although there is a great number of studies conducted on cattle neosprorosis within the past 36 years from 1984 when it was first diagnosed until today, the epidemiologic features of the disease and its treatment, the prevention and control methods, as well as the biological features of the agent, still remain a mystery. Moreover, there is little knowledge on the status of the disease in other livestock and wild animals. This section aims at presenting up-to-date information compiled on neosporosis in livestock.

Keywords: *Neospora caninum*; epidemiology; prevention & control

Hayvan yetiştiriciliğinde temel amaç hayvanlardan et, süt, deri ve yapağı gibi ticari değeri olan ürünler elde etmek ve her yıl düzenli olarak bir yavru alarak sürülerin devamını sağlamaktır. Dönemsel olarak yem ve tedavi giderlerinin artması yetiştiriciliği olumsuz yönde etkilemekte, et ve sütten elde edilen gelir ancak işletmelerin temel giderlerini karşılamaktadır. Bu gibi durumlarda işletmenin en büyük kazancı sağlıklı doğan yavrulardır.[1] Bu bağlamda abortlar yetiştiricinin en önemli ekonomik sorunlarından biri haline gelmektedir.[2] Abortların sebepleri arasında çeşitli stres faktörleri, beslenme bozuklukları, zehirlenmeler, hormonal bozukluklar, genetik faktörler ile bakteri, virus, mantar ve protozoonlar gibi enfeksiyöz ajanlar yer alır.[3] Neospora caninum (N.caninum) ve Toxoplasma gondii (T.gondii) ruminantların en önemli protozoer abort etkenleri arasında bulunur. Klasik kitaplarda N.caninum sığırların, T.gondii ise koyunların primer paraziter abort etkeni olarak kabul edilir ancak günümüzde yapılan araştırmalar N.caninum'un koyun ve keçilerde de abortlara neden olabileceğini ortaya koymuştur.[4,5]

N.caninum, Apicomplexa şubesinde yer alan ve sığırlarda abortlarla karakterize neosporosis adlı hastalığa neden olan coccidian bir protozoondur. 1988 yılına kadar kendisine yapısal olarak çok benzeyen T.gondii ile karıştırılmıştır. Neosporosis'e ait ilk klinik semptomlar 1984 yılında Norveç'de kongenital olarak enfekte köpeklerde tespit edilmiş ve bu rapor parazitin bilimsel olarak tanımlanmasına ve N.caninum olarak ad-

landırılmasına sebep olmuştur.[6] Parazit tespit edildikten sonra hücre kültürlerinde üretilerek izole edilmiş ve bu vesile ile elde edilen antijenler immünolojik ve immuno-histokimyasal çalışmalarda kullanılmıştır. Sonraki birkaç yıl içerisinde ise neosporosisin dünya genelinde sığırlarda abort ve neonatal ölümlerin en önemli sebeplerinden birisi olduğu anlaşılmıştır. 1988 yılında ise evcil köpeğin son konak olduğu tespit edilmiştir.[6,7] N.caninum' un ilk tanımlandığı yıldan günümüze kadar geçen 36 yıllık süreçte, neosporosisin patogenezi, epidemiyolojisi, oluşturduğu ekonomik kayıplar, tanısı, korunma ve kontrol yöntemleri ile etkenin biyolojisi hâlen tam olarak anlaşılamamıştır.

ETKENİN KONAKLARI

Parazitin doğada bilinen son konağı köpek, çakal, gri kurt ve dingo gibi canidae'ler, ara konakları ise sığır başta olmak üzere, koyun, keçi, manda ve at gibi çiftlik hayvanlarıdır ayrıca canlı etkenler aksis geyikleri, beyaz kuyruklu geyikler ve Avrupa bizonlarından da izole edilmiştir.[6,7]

Bu canlılar dışında bazı tilki türleri, porsuk, gelincik, mink, su samuru, kır sansarı, ağaç sansarı, sincap, Norveç sıçanı, siyah rat, çeşitli fare türleri, kapibara, tavşan gibi yabani memeliler ile şahin, tavuk, karga, kuzgun, saksağan, güvercin, serçe, çamurcun, fiyu, kılkuyruk ve kızkuşları gibi kanatlıların çeşitli organ ve dokularında (betin, kalp, karaciğer, iskelet kasları vs.) Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile etkenin DNA'sı, evcil ve yabani domuzlarda, tek hörgüçlü deve, lama, alpaka ve vigogna gibi memelilerde de çeşitli serolojik yöntemlerle anti-N.caninum antikorları tespit edilmiştir.[6]

Kedigillerde klinik neosporosis bildirilmemiştir ancak yapılan deneysel enfeksiyonlar sonucunda kedilerin vertikal ve horizontal yollarla enfekte olabilecekleri, bu hayvanlarda dissemine neosporosis şekillenebileceği, doku kistlerinin oluşabileceği ve reaktivasyon sonucunda kongenital enfeksiyonlar görülebileceği ortaya çıkmıştır.[6]

ETKENİN ENFEKTİF FORMLARI

N.caninum, takizoit, bradzoit ve ookist olmak üzere üç farklı enfektif safhaya ve buna bağlı olarak da karmaşık bir yaşam döngüsüne sahiptir.[6] Takizoitler yaklaşık olarak 6x2 µm büyüklüktedir. Etkenin bu formu, endodiyojeni adı verilen bir prosesle hızla bölünerek doku hasarına, hastalığın ara konakta yayılmasına ve fötüsün transplasental yolla bulaşmasına neden olur. Zamanla konakta şekillenen bağışıklık sonucunda takizoitler bradzoitlere dönüşerek doku kistlerinin oluşumunu sağlar. Doku kistleri yuvarlak veya oval şekilli, duvar kalınlıkları 4 µm'ye, uzunluğu 107 µm'ye ulaşabilen ve içerisinde 100 kadar bradzoit ihtiva eden yapılardır. Kistler içerisindeki bradzoitler ortalama 7-8x2 µm büyüklüktedir. Etkenin bu formunun son konakta eşeysiz ve eşeyli üreme sonrasında ookist oluşumundan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Son konak dışkısı ile atılan ookistler ise 10-12 µm çapındadır.[7] Ookistler içerisinde iki sporokist ve her sporokist içerisinde dört sporozoit bulunur.[6]

YAŞAM DÖNGÜSÜ

N.caninum'un yaşam döngüsünde iki belirgin model vardır. Bunlardan birincisi son konak köpekte gerçekleşen eşeyli üreme ve sığır başta olmak üzere ara konaklarda gerçekleşen eşeysiz üreme safhalarıdır.[8] Enfekte son konakların dışkısı ile atılan ookistler tabiatta uygun koşullarda sporlanır. Ara konaklar bu ookistlerle kontamine gıda ve suları oral yolla almak sureti ile enfeksiyona yakalanır. Serbest kalan sporozitler bağırsak duvarını istila ederek takizoitlere dönüşür. Takizoitler, parazitofor vakuoller içerisinde endodiyojeni yoluyla çoğalır. Endodiyojeni neticesinde serbest kalan takizoitler, makrofaj, fibroblast, damar endotelleri, kas, karaciğer ve sinir gibi farklı konak hücrelerini istila eder. Takizoitlere karşı şekillenen konak reaksiyonu sonucunda doku kistleri ve bu kistler içerisinde bradzoitler oluşur. Bradzoitler de endodiyojeni yolu yavaş yavaş çoğalmaya devam eder. Sinir (beyin, omurilik) ve iskelet kas hücrelerinde oluşan doku kistleri ara konaklarda herhangi bir klinik semptoma neden olmadan yaşam boyu kalır. Son konaklar doku kistleri ile kontamine etleri yemek sureti ile enfekte olur. İnce bağırsakta serbest kalan bradzoitler epitel hücrelerine girer.[6,7] Şizogoni ve gametogoni safhaları günümüze kadar gözlemlenmemiştir ancak bu safhaların olduğu varsayılmakta ve sonuçta ookistler oluşmaktadır.9 Ookistlerin dışkı ile tabiata atılması sonucunda yeni bir yaşam döngüsü başlar. Neospara caninum'un son konak-ara konak-son konak geçişi postnatal (horizontal), anne-yavru geçişi ise transplasental (vertikal) bulaşma olarak tanımlanır.[8]

EPİDEMİYOLOJİ

Neosporozisin yaygınlığı kıtalar, ülkeler, bölgeler ve hayvan ırkları arasında önemli farklılıklar gösterir.[10]

Dünya genelinde farklı serolojik testler kullanılarak yapılan çalışmalarda hastalığın sığırlardaki ortalama seroprevalansı Kuzey Amerika'da %35,53 (11,3-59), Güney Amerika'da %53,76 (6,7-97,2), Asya'da %16,05 (1,5-43), Avrupa'da %23,69 (0,5-80), Afrika'da %14,78 (3,4-19,64), Türkiye'de %13,06 (2-34,9) ve dünyada ise %23,98 olarak bildirilmiştir.[11]

Keçilerde yapılan çalışmalar değerlendirilerek elde edilen verilere göre hastalığın keçilerdeki ortalama seroprevalansı Afrika'da %6, Asya'da %4,54 (0,7-7,23), Avrupa'da %3,88 (0,47-15,5), Kuzey Amerika'da %4,68 (3,8-5,8) ve Güney Amerika'da %7,29 (1,05-17,7), Türkiye'de %14,44 (0-25,9) ve dünyanın ise %5,99 olarak hesaplanmıştır.[12]

Koyunlarda N.caninum'un yaygınlığı konusunda yapılan çalışma sayısı sığır ve keçilere göre daha azdır bu bağlamda değerlendirildiğinde, koyun neosporosisinin seroprevalansının dünya genelinde %0,45-63 arasında, ülkemizde ise %0-2,7 arasında olduğu bildirilmiştir.[13]

Dünya genelinde N.caninum'un son konak köpeklerdeki seroprevalansı ise %17,14 olarak tespit edilmiştir.[14]

Bu prevalans farklılıklarının temel olarak çeşitli risk faktörleri ile hastalığa karşı koruma ve kontrol yöntemlerindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Farklı serolojik testlerin kullanılması, aynı serolojik testler kullanılsa dahi cutt-off değerlerin farklı olması, testlerin sensitivite ve spesifite farklılıkları ve hatalı örnekleme yapılması gibi faktörler de hastalığın prevalansı ile ilgili farklı sonuçların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir.[11] Enfeksiyon riskini etkileyen faktörler olduğu gibi abort riskini artıran ilave faktörler de bulunmaktadır.[8]

Neospora kaynaklı abortlar sporadik, endemik ve epidemik karakterde olabilmektedir. Epidemik abortlar daha önce enfekte olmayan sığırların tek bir enfeksiyon kaynağından hemen hemen aynı zamanda etkene maruz kalmasıyla şekillenir. Epidemik abortların en dramatik sonucu abort fırtınalarıdır. Bu gibi durumlarda 12 haftalık bir periyod içerisinde risk altındaki sığırların %10'dan fazlası abort yapar. Etkenin anneden yavruya transplasental yolla bulaştığı kronik enfeksiyonlarda endemik abortlar şekillenir. Sürü içerisindeki abort problemi aylar hatta yıllar boyunca devam edebilir. Sporadik abort formunda ise abortlar sürü içerisinde nadiren görülür.[8] Ooksitlerin neosporosisin epidemiyolojisi üzerindeki rolü net değildir. Doğal enfekte köpekler nadiren ookist çıkarmakta ve bu ookist miktarı köpeğin yaşı ve bağışıklığı ile paralel olarak azalmaktadır.[8] Sığırlarda enfeksiyon oluşturmak ve abort şekillendirmek için gerekli minimum ookist sayısı ve subklinik horizontal enfeksiyonların sıklığı hakkında da yeterli bilgi bulunmamaktadır.[15-17] Deneysel olarak ookistlerle enfekte edilen sığırlarda abort insidensinin düşük olduğu görülmüştür. Abort insidensinin düşük olması ve son konak dışkısında az sayıda ookist bulunması, hastalığın epidemiyolojisinde sığırlardaki postnatal bulaşmadan daha farklı faktörlerin etkili olduğunu gösterir. N.caninum'un transplasental bulaşma oranını hesaplamak için yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmesine rağmen sığır sürülerinde en önemli enfeksiyon kaynağı transplasental geçiş olarak kabul edilmektedir.[8]

Abort fırtınaları, seropozitif düvelerdeki dramatik artış ve seronegatif annelerden doğan seropozitif buzağılar, bir nokta kaynak maruziyetinin olabileceğini göstermektedir.[8]

Yaban hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar hastalığın silvatik siklusunun ve epidemiyolojisinin anlaşılmasına katkı sağlamaktadır. Avustralya da çiftlikler etrafındaki yabani köpeklerin hastalığın epidemiyolojisindeki rolleri henüz netlik kazanmamasına rağmen, sahipli ancak serbest dolaşan köpeklerdeki yüksek seroprevalans oranı bu hayvanlarda postnatal enfeksiyonların yaygın olduğunu göstermektedir. N.caninum'un vahşi yaşamdaki rezervuarları henüz tam olarak bilinmemektedir ancak hastalığın yabanıl farelerde yaygın olduğu tespit edilmiştir.[8]

BAĞIŞIKLIK

Doğal ya da deneysel enfekte sığırlarda, Tip 1 yardımcı T lenfositleri (Th1), yüksek IFN-ɣ, IgG2 antikorlarının rol aldığı bir bağışıklık reaksiyonu şekillenir. Bu veriler konakta neosporosisin kontrolünde hem hücresel hem de humoral bağışıklığın rol oynadığını ortaya koyar.[8] N.caninum'a karşı korumada en etkin mekanizma hücresel bağışıklıktır.[8,18] Th1 ve Th2 hücrelerinin aktiviteleri arasındaki dengesizlik (proinflamatorik sitokin seviyesindeki artış) abort riskini artırır.[18] Neosporosis'in kontrolünde rol oynayan en önemli sitokin etkenin çoğalmasını sınırlandıran IFN-ɣ'dır.[8,18] Bu sitokinin seviyesi ise Th1 hücreleri tarafından salınan IL-12 ve TNF-α adlı sitokinler ile kontrol edilir. IFN-ɣ seviyeleri ile IL-10 ve IL-12 seviyeleri dengede olmalıdır.[18] Parazit spesifik Sitotoksik T lenfositleri (CTL), perforin-granzim bağımlı bir yolak ile enfekte hücreleri öldürür.[8] Primer enfeksiyondan sonra Th1 hücreleri tarafından salınan IFN-ɣ, makrofaj ve diğer mononükler hücrelerin proinflamatorik yanıtını aktive eder ve bu durum takizoitlerin bradizoitlere dönüşerek doku kisti oluşturmasını indükler.[8,18] Bu dönüşüm enfeksiyonun kronik safhaya geçişini temsil eder.[8] Diğer taraftan Th2 hücreleri IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13 ve IL-25 gibi sitokinler salgılayarak humoral bağışıklığın aktivasyonunu ve devamını sağlar. Yeni bir T hücre alt tipi olan Treg hücreleri (Regulatory T cells, düzenleyici T hücreleri), IL-10 ve TGF-β1 adlı yangı önleyici sitokinlerin üretiminden sorumludur. Th17 hücreleri tarafından salınan IL-17, IL21 ve IL-22 gibi sitokinler de N.caninum'a karşı şekillenen bağışıklık reaksiyonlarında rol alır.[18]

N.caninum enfeksiyonlarında bağışıklık konusunda önemli noktalardan biri geçmiş enfeksiyonlar sonucunda oluşan koruyucu bağışıklığın etkinliğidir. Yapılan çalışmalar, koruyucu bağışıklığın sığırları postnatal tekrarlayan enfeksiyonlara (yeni ekzojen enfeksiyonlar) karşı korurken, tekrarlayan transplasental enfeksiyonlarda etkisiz kaldığını göstermiştir.[8]

Neosporosisli gebe sığırlarda abort şekillenme olasılığı etkenin virulensi ve fötüsün immünolojik durumuna bağlıdır.[19] Fötüsün immunokompetansı gebeliğin 280. gününe kadar gelişmeye devam eder. Bu nedenle fötüs, timus, dalak ve perifer lenf düğümlerinin henüz gelişmediği erken gebelik döneminde (<100 gün) enfeksiyona duyarlıdır ve abort olma olasılığı yüksektir.[20] Orta gebelik döneminde (100-150 günler) fötüsün immun sistem organ ve dokuları rudimenter bir şekilde mikroorganizmaları tanır ancak oluşan cevap yeterli olmadığı için bu dönemde yoğun abortlar şekillenir.[21] Gebeliğin geç döneminde fötüs immunokompetant hale gelir ve klinik olarak normal ancak kongenital enfekte buzağılar doğar.[22] Şayet bu dönemde nüks oluşursa kongenital enfeksiyon şekillenme olasılığı aborttan daha yüksektir.[20]

Doğal enfeksiyonlarda güçlü bir antikor yanıt oluşmasına rağmen bu yanıtın abort ve plasental geçişi engelleyip engellemediği henüz netlik kazanmamıştır.[23] Günümüze kadar annenin takizoitlere karşı şekillenen proinflamatorik yanıtının mı yoksa takizoitlerin mi fötüsü öldürdüğüne dair ortak bir fikir birliği sağlanamamıştır. N.caninum ile enfekte edilen farelerin aborte olmuş plasental membranları ve fötal dokularında takizoitlere rastlanmaması, abortların oluşması için takizoit geçişinin şart olmadığını ve konak bağışıklık yanıtının abort ve fötal ölümde önemli rol oynadığı ortaya koymuştur.[8,24,25]

PATOGENEZ

N.caninum'un ara konaklarda akut enfeksiyona neden olan formu takizoitlerdir. Takizoitler kan ve dolaşım yoluyla yayılarak immun yanıt oluşumuna ve aktif çoğalma döneminde hücreleri patlatarak hücre ölümlerine neden olur. Enfeksiyonun erken safhasında takizoitler muhtemelen hastalığın oluşumu için konak hücrelerini modüle eder. Enfeksiyonun ilerleyen dönemlerinde, takizoitlerin bir kısmı konak tarafından yıkımlanır ve enfeksiyonu sürdürme yetenekleri azalır. Oluşan bağışıklık reaksiyonu sonucunda takizoitler bradzoitlere dönüşür. Son yapılan çalışmalar bradzoitlerin hastalığın patogenezisinde önemli rolleri olduğunu ortaya koymuştur.[7,8]

Dünya genelinde brusellosis, leptospirosis ve pestiviruslar gibi enfeksiyonların aborta neden olduğu bilinmektedir ancak son yapılan çalışmalar günümüzde N.caninum'un sadece fötal kayıp ve aborta neden olan en yaygın etken olduğunu göstermektedir.[8]

Enfekte sığırlarda normal gebelikler görülür. Ancak seropozitif sığırların, gebeliğin erken dönemlerinde etkene ilk kez maruz kalmaları durumunda, abort yapma olasılıkları seronegatiflere göre daha yüksektir.[7,8]

Doğada ookist kaynaklı postnatal enfeksiyonlar nadiren şekillenirken, hastalığın sığırlar arasında ve sürü içerisinde yayılmasında transplasental enfeksiyonlar oldukça önemli bir yer tutar. Transplasental abortların sebebinin anneden yavruya geçen takizoitler olduğu düşünülmektedir.[8]

Fötüsün N.caninum ile enfeksiyonunda ekzojen ve endojen olmak üzere iki farklı transplasental geçiş senaryosu bulunmaktadır. Ekzojen bulaşma gebelik döneminde annenin primer enfeksiyonu sonucunda şekillenirken (ookist kökenli enfeksiyon), endojen bulaşma gebelik öncesi dönemde etkenin enfekte anneden yavruya (nükslerin görüldüğü kronik persiste anne) geçmesi ile şekillenir.[7,8] Gebe sığırlarda transplasental bulaşmaya neden olan nüksler hastalığın sürü içerisinde nesilden nesile geçmesine ve persiste enfekte bireylerin oluşumuna neden olur.[8] Enfeksiyonların seyri boyunca oluşan nükslerin sebebi ve sıklığı tam olarak bilinmemekte ve gebe olmayan sığırlarda da şekillendiğine inanılmaktadır. Enfekte sığırlardan klinik olarak sağlıklı doğan buzağıların Neospora taşıyıcısı olma ihtimali %80-90'dır.[7,8] İnekler yaşamları boyunca enfekte kalır ve bağışıklık geliştikçe oran düşse de ardışık gebeliklerde yavrularını enfekte eder.[8] Sığırların ooksit çıkardığına dair delil bulunmadığından sığırdan sığıra bulaşma görülmez ayrıca sığırlarda doğal laktojen ve veneral bulaşma da bildirilmemiştir.[8] Bu nedenle sığırlarda enfeksiyonun tek bulaşma yolunun doğumdan sonra tabiattaki sporlanmış ooksitlerin oral yolla alınması şeklinde olduğuna inanılmaktadır.[7,8]

Plasentada şekillenen lokal yangı, prostaglandinler gibi yangısal mediatörlerin aşırı salınımına ve buna bağlı olarak miyometrial kaslarının kasılmasına neden olur. Bu durum sığır abortlarının önemli sebeplerinden biri olarak kabul edilmektedir. Gebelik döneminde progesteron seviyesi yüksek olan seropozitif sığırların abort yapma olasılığı, progesteron düzeyi fizyolojik sınırlarda bulunan seropozitif sığırlardan çok daha düşüktür. Bunun sebebinin progesteronun Th1 hücreleri tarafından üretilen proinflamatörik mediatörlerin seviyesini azaltması olduğu düşünülmektedir. Özellikle klinik semptom gösteren seropozitif sığırlarda proinflamatörik faktörlerin ve oksidatif stres belirteçlerinin hücre hasarına sebep olduğu bildirilmiştir. N.caninum sığırlarda embriyo transferinin başarı-

sını olumsuz yönde etkilemektedir. Seropozitif alıcılarda transplasental bulaşma ve abort riski daha yüksektir. Ancak bağışıklık durumları normal, embriyolojik gelişime herhangi bir etkisi olmayan seropozitif ve seronegatif sığırlar donör olarak kullanılabilir N.caninum seropozitif sığırların abort, ölü doğum ve kongenital defektli buzağı doğurmaya seronegatif olanlardan daha meyilli olduğu belirtilmektedir.[18]

Seropozitif sığırların kan serumlarındaki bazı biyokimyasal parametrelerin arttığı görülmüştür. Bu durum sığırlarda neosporosis ve yaygın metabolik hastalıklar arasında pozitif bir ilişki olabileceğini göstermektedir. Bazı yazarlara göre parazitin konak dokularındaki çoğalması negatif enerji dengesine, hücre metabolizmasının artmasına, yağ asiti rezervlerinin azalmasına, sonuç olarak da plazmada önemli bir ketozis indikatörü olan beta hidroksi bütirat konsantrasyonun büyük ölçüde artmasına neden olur.[18]

Ayrıca seropozitif sığırlarda karaciğer hücre hasarının belirteçleri olan alanin amino transferaz (ALT) ve aspartat amino transferaz (AST) seviyelerinin seronegatif sığırlardan daha yüksek olduğu ve bu durumun yağlı karaciğer sendromu ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir.[26]

Gebe sığırların serum ve sütlerindeki gebelik glikoproteinlerinin seviyesi (PAG) abort tahminlerinde iyi bir indikatördür. Birçok PAG türü vardır. Ancak abort riskini değerlendirmede en iyi marker PAG2'dir. Şayet gebeliğin 120.gününde seropozitif sığırlardaki serum konsantrasyonu 4,5 ng/ml'nin üzerinde ise bu sığırların abort yapma olasılığı PAG seviyesi 4,5 ng/ml'nin altında olan seropozitif sığırların 1/7'sidir.[18]

Kandaki PAG seviyesi yüksek olan seropozitif sığırlar hastalığı daha iyi tolere etmektedir. PAG1 konsantrasyonu en yüksek olan sığır ırkı limuzinlerdir ve epidemiyolojik çalışmalar Neospora kaynaklı abortların bu ırkta en düşük seviyede (%10) olduğunu göstermektedir.[18]

KLİNİK SEMPTOMLAR

N.caninum hem sütçü hem de etçi sığırlarda abortlardan sorumludur. Herhangi bir yaştaki sığırlar gebeliğin üçüncü ayından sonuna kadar ki dönemde abort yapabilir. Neospora kaynaklı abortların büyük çoğunluğu gebeliğin 5-6. aylarında şekillenir. Fötüsler uterus içerisinde ölebilir, resorbsiyon, mumifikasyon ve otoliz şekillenebilir. Ölü doğumlar, klinik enfekte canlı doğumlar veya klinik açıdan normal fakat kronik enfekte yavrular doğabilir. Neosporosis kaynaklı abortlar tüm yıl boyunca şekillenir. Seropozitif annelerden doğan kongenital enfekte buzağıların %95'i klinik olarak normal kalır. Annenin yaşı, laktasyon sayısı ve abort geçmişi kongenital enfeksiyon oranını etkilemez ancak persiste enfekte sığırlarda vertikal bulaşmanın gençlerde yaşlılardan daha etkin olduğuna dair raporlar bulunmaktadır. Eğer sürüye yeni giren düveler enfekte olursa ya abort yapar ya da transplasental yolla buzağılarını enfekte eder. Klinik semptomlar sadece iki aylıktan küçük buzağılarda bildirilmiştir. Enfekte buzağılarda, zayıflık, ayakta duramama, ön bacaklar, arka bacaklar veya her ikisinde de bükülme veya aşırı gerilmeler, ataksi, azalmış pateller refleks, bilinç kaybı eksoftalmi ve gözlerde asimetri görülebilir. N.caninum ara sıra hidrosefhalus ve spinal kordda daralma gibi doğmasal defektlere de neden olur.[7]

N.caninum sığırlarda olduğu gibi keçilerde de abort, ölü doğum ve fötal ölümlere neden olabilmektedir. Koyunlarda ise deneysel enfeksiyonlarda fötal ölümler tespit edilmesine rağmen neosporosisin koyun abortlarındaki rolü hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır.[6]

Mandalarla N.caninum'un oluşturduğu patolojik bozukluklar ve hastalığın epidemiyolojisi hakkında fazla kaynak bulunmamaktadır.[27] İtalya'da yapılan bir çalışmada N.caninum seroprevalansının yüksek olduğu iki manda sürüsü incelenmiş, 3 atık manda buzağısının lezyonlu dokularında Nested-PCR yöntemi ile N.caninum DNA'sı tespit edilmiş ve abortların sığırlardakine benzer şekilde gebeliğin 4-6. ayları arasında şekillendiği belirtilmiştir.[28] Pakistan'da yapılan bir çalışmada ise seropozitif mandalarda atık yapma oranının, seronegatif olanlardan daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur.[29] N.caninum'un NC-1 suşu ile yapılan deneysel enfeksiyonlar sonucunda enfekte dişi mandalarda non-suppuratif plasentitis ve atık fötüslerin akciğer, kalp, beyin ve karaciğer gibi dokularında lezyonlara rastlanmış, plasental lezyonların enfekte sığırlardakinden daha hafif olduğu bildirilmiştir.[30] Mandalarda da sığırlerda olduğu gibi doğal vertikal enfeksiyonların şekillendiği belirtilmiş ancak bunun endojen veya ekzojen transplasental yollardan hangisi ile şekillendiği netlik kazanmamıştır.[31]

Köpeklerde hastalık prevalansı yüksek olmasına rağmen klinik hastalık tablosu nadiren ortaya çıkar. Hastalığın seyri esnasında köpeklerin büyük çoğunluğunda herhangi bir klinik semptom görülmezken çok az bir kısmında neosporosis semptomları ortaya çıkabilir. Bu durumun parazitin virulensi, konak duyarlılığı ya da her ikisinin etkisi ile mi ortaya çıktığı konusunda net bir bilgi bulunmamaktadır. Klinik neosporosis genellikle çok genç, çok yaşlı ve bağışıklık sistemi baskılanmış köpeklerde ortaya çıkar. Birbiri ile karışabilse de köpek neosporosis'inin dört ayrı formu vardır.[6]

Hastalığın en şiddetli formu transplasental olarak enfekte köpek yavrularında görülür. Bu formda arka bacak-

larda ilerleyen parezis ve paraliz, arka bacak kaslarında aşırı gerginlik ve çoğu kez atrofi şekillenir. Bu semptomlar doğumdan sonraki ilk birkaç haftalık dönemde ortaya çıkar. Prenatal enfekte köpeklerde hastalık tanısı genellikle iki aylık dönemde konulur. N.caninum'un lumbosakral sinir köklerine tropizmi vardır. Hastalarda tipik olarak polyradiculoneuritis, polymyositis ve meningoencephalomyelitis görülür.[6]

Hastalığın ikinci formunda, erişkin köpeklerde encephalitis, meningoencephalomyelitis ve myositis görülür. Parezis en yaygın nörolojik bulgudur ayrıca, kasılma, anormal davranış, vestibuler disfoksiyon gibi semptolar ortaya çıkar. Şekillenen myositis, tutuk yürüyüş, zayıflık, ağrıya veya kas atrofilerine neden olur. Hastalığın seyri boyunca akciğer, karaciğer, göz ve kalp gibi organlar da etkilenebilir. Hastalığın üçüncü formunda bazı köpeklerde, merkezi sinir sitemi dışındaki organların etkilendiği multifokal sistemik yayılma görülürken, hastalığın dördüncü formunda ise bazı erişkin köpeklerde poligranülomatoz dermatitis tablosunun eşlik ettiği dermal neosporosis şekillenir.[6]

EKONOMİK KAYIPLAR

N.caninum dünyada genelinde hem et hem de süt endüstrisinde ciddi ekonomik kayıplara neden olur. Ekonomik kayıplar abort, fötal ölüm, rezorbsiyon, mumifikasyon, ölü doğum, süt verim kaybı, infertilite, erken sürüden çıkarma, veteriner hekim masrafları ve hayvanların üretimden çıkarılarak kesime gönderilmesi gibi sebeplere bağlı olarak ortaya çıkar.[27] Konu ile ilgili çok fazla kaynak bulunmamasına rağmen yıllık toplam ekonomik kaybın Amerika Birleşik Devletleri'nde 1,0921 milyar, Meksika'da 68,5 milyon, Avrupa'da 68,7 milyon, Arjantin'de 38,5 milyon, Yeni Zelanda'da 35,7 milyon dolar olduğu belirtilmiştir.[27,32] Sürü düzeyinde yapılan ekonomik modellemelere göre çiftlik başına sadece aborta bağlı ortalama ekonomik kaybın ise Hollanda'da 700, Ingiltere'de 1800, Kanada'da 1300, Kuzey ve Güney Amerika'da 12,200 dolar, dünya genelinde ise toplam 1,298 milyar dolar olarak hesaplanmıştır.[27,32]

HASTALIĞIN TANISI

Atık yapan ineğin serum muayeneleri sadece N.caninum'a maruziyet durumu hakkında fikir verir. Neosporosis kaynaklı abortun kesin tanısını atık fötüsün histolojik muayenesi ile konur. Tanıda laboratuvar materyali olarak beyin, kalp, karaciğer, plasenta, vücut sıvıları ve serum kullanılabilir ve tanı oranı çoklu organ incelemeleri ile artar. Etken birçok organda lezyonlara neden olsa da fötal beyin en çok etkilenen organdır. Fötüse ait birçok organ otolize olduğundan, histopatolojik incelemeler için beyin dokusu %10'luk tamponlu nötral formol içerisinde fikse edilmelidir. Otolize olmuş dokularda çok az sayıda etken bulunduğundan, hematoksilen-eozin ile yapılan incelemelerde genellikle gözden kaçar, bu gibi durumlarda immuno-histokimyasal incelemeler gereklidir. Neosporosis'e ait en karakteristik lezyonlar nekroz ve non-suppuratif yangı ile karakterize encephalitis'tir. Hepatitis epizootik abortlarda sporodik abortlardan daha çok görülen bir lezyondur. Plasentada da lezyonlara rastlamak mümkündür ancak etkenleri bulmak oldukça zordur.[7,21]

Atık fötüs ve ölü buzağıda neosporosisin tanısında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)'nun etkinliği; laboratuara, otolizin safhasına ve örnekleme prosedürüne bağlıdır. Moleküler tanıda taze veya donmuş dokular formalinle fikse edilmiş dokulardan daha iyidir. Etkenin DNA'sını formalinle fikse edilmiş ya da parafine gömülmüş dokularda saptamak mümkündür ancak duyarlılık taze ve dondurulmuş dokulardan yapılan PZR'dan daha düşüktür.[7]

Anti- N.caninum antikorlarının tanısında Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Indirekt Fluorescent Antikor Testi (IFAT) ve Neospora Aglütinasyon Testi (NAT) gibi serolojik yöntemler kullanılmaktadır.[6] Serolojik testler içerisinde en yaygın olarak kullanılan teknik, uygulama değerlendirme kolaylığı ve kısa sürede sonuç vermesi sebepleri ile ELISA'dır. ELISA yöntemi ile süt, plazma ve serumda N.caninum'a karşı şekillenen antikorlar aranmaktadır.[18] Sığırlarda akut ve kronik infeksiyonun ayrımı için geliştirilen aviditiy ELISA epidemik ve endemik abortların ayrımında umut vaat etmektedir.[33] Bu yöntemde serum üre ile muamele edilerek düşük affiniteli antikorlar uzaklaştırılır. Üre uygulamasından önceki ve sonraki değerler arasındaki farklara göre akut ve kronik enfeksiyon birbirinden ayrılır. Yeni enfeksiyonlarda avidite değerleri daha düşüktür.[33] Tanıda kullanılan bir diğer yöntem Antijen Capture ELISA'dır. Ticari olarak piyasada bulunan bu yöntemde spesifik monoklonal antikorlar kullanılarak enfekte sığır serumunda etkenin 65kD'luk antijenleri tespit edilebilmektedir.[34] N.caninum'a özel antikorların tanısında immunoblotlama yöntemleri de oldukça etkilidir.[35] Bir sürüdeki serolojik durumu belirlemenin en iyi yolu kan serumunda anti-N.caninum antikorlarının aranmasıdır. Sürülerde maruziyeti belirlemek amacıyla tank sütlerinde antikor aramanın pratik olduğunu belirten yazarlar da mevcuttur ancak bu incelemenin sadece laktasyon dönemindeki sığırların durumu hakkında fikir vereceği, kuruda olan, erken postpartum dönemde kolostrum üreten ve hasta mastitisli sığırlarda sağlıklı değerlendirmeler yapılamayacağı göz önünde bulundurulmalıdır.[7]

Fötal serumda N. caninum antikorlarının tespiti neosporosise işaret edebilir ancak negatif sonuçlar hastalık olmadığı anlamına gelmez çünkü fötüste antikor sentezi gebeliğin dönemine, maruziyet durumuna ve enfeksiyon ile abort arasında geçen zamana bağlıdır. Fetüsten elde edilen kan, serum ve vücut sıvıları serolojik testlerde kullanılabilmesine rağmen, tanıda peritonal sıvı diğer vücut sıvılarından daha iyidir. Buzağılarda kongenital enfeksiyonun tanısında, buzağı kolostrum emmeden önce alınan serum kullanılabilir. Sığırlarda neosporosisin tanısında net bir antikor titresi henüz belirlenememiştir. Serolojik çalışmalarda titre ve absorbans değerleri antijen kompozisyonuna, sekonder antikorlara ve diğer ayraçlara bağlıdır. İlave olarak antikor titresi cut-off değerleri belirli bir serolojik test için gerekli sensitivite ve spesifite değerlerine göre rastgele seçilmektedir. Cut-off değerlerini etkileyen diğer faktörler ise hayvanın yaşı ve türüdür.[7]

Hastalığın sığır dışındaki ara konak ve son konak pozisyonundaki hayvanlardaki tanısında da histopatolojik, moleküler ve serolojik yöntemler (c-ELISA, i-ELISA, NAT, IFAT) kullanılmaktadır.[5]

Köpeklerde özellikle arkadan ön tarafa doğru ilerleyen felç görülmesi ve bu olayın aynı batında doğan diğer yavrularda da ortaya çıkması hastalığı akla getirir. Köpek dışkısında ookistlere rastlamak mümkündür ancak bu ookistleri morfolojik olarak Hammondia heydorni ookistlerinden ayırmak oldukça zordur.[36]

TEDAVİ VE KONTROL

Günümüzde neosporosise karşı etkin bir tedavi ve korunma yöntemi yoktur.[8] Köpeklerde tedavi amacıyla klindamisin, sülfadiazin, primetamin tek başına veya diğer ilaçlarla kombine olarak kullanılmaktadır. Mevcut ilaçlar genellikle takizoitlere karşı etkilidir ancak kistler içerisindeki bradzoitlere etkili ilaç bulunmamaktadır. Yetişkin ve 16 haftalıktan büyük köpeklerin tedaviye yanıtı yavrulardan daha iyidir. Miyositisli paralitik yavrularda prognoz genellikle kötüdür. Aynı batında doğan yavrulardan birinde dahi hastalık teşhis edilmesi durumunda tüm yavrular en kısa sürede içerisinde tedaviye alınmalıdır. Dermatit ve miyositisli vakalar klindamisin'e iyi cevap verirken, sinirsel semptomların görüldüğü vakalarda merkezi sinir sistemi geçişi daha yüksek olan sülfonamid-trimetoprim ve sülfonamid-primetamin gibi ilaçlar tercih edilmelidir.[6]

Sığırlarda horizontal bulaşmayı, kongenital enfeksiyonu ve abortları engelleyecek etkin bir kemoterapotik bulunmamaktadır. Kemoteropotiklerle yapılan deneysel çalışmalarda toltrazuril'in fare ve buzağılarda takizoitlerin yayılmasını geciktirebildiği ancak T-hücre aracılı bağışıklığın bu kontrol için gerekli olduğu belirtilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda toltrazuril'in parasitostatik etkiye sahip olduğu, parazitosidal ve bradzoitlere etkisinin bulunmadığı ortaya konmuştur.[8]

Hastalıktaki temel kontrol yaklaşımları, aşılama, test edip yetiştirme dışı bırakma, selektif yetiştirme, embriyo nakli ile bakım ve besleme koşullarının düzeltilmesidir.[7,18,37]

Hastalığın kontrolünde aşılar için çok geniş bir uluslararası market bulunmaktadır. Günümüzde etkene karşı istenilen etkiye sahip ticari bir aşı bulunmamaktadır. Daha önce piyasaya sürülen aşılardan ise istenilen sonuçlar alınamamış ve bu aşılar geri çekilmiştir. Yeni aşıların üretimi için çalışmalar devam etmektedir. Kabul görecek bir aşının hem enfeksiyonu hem de klinik hastalığı engellemesi ayrıca fötopatik etkilerinin bulunmaması gerekmektedir. Doğal enfekte sığırlardan elde edilen avirulent suşlarla yapılacak canlı aşılar umut vermektedir. Bu tip aşıların en büyük sıkıntıları sığırlarda uzun süre kalarak virulent hale gelme ihtimalleri ve soğuk zinciri koruyarak dağıtımlarının zor olmasıdır.[8]

N.caninum sığırlarda birçok nesil boyunca vertikal yolla etkin bir şekilde bulaşmaktadır. Günümüzde hastalığın sürü içerisinde yayılmasını engellemek için enfekte ve enfekte olması muhtemel hayvanların yetiştirmeden çıkarılması önerilmektedir.[7,18,37] Bu amaçla test et-uzaklaştır ve selektif yetiştirme yöntemleri kullanılmaktadır. Önce sürüde serolojik taramalar yapılarak seropozitif hayvanlar tespit edilmeli sonra seropozitif hayvanlar ile seropozitif hayvanlardan doğan yavrular sürüden çıkarılmalıdır. Ancak her iki yaklaşım da prevalansın yüksek olduğu sürülerde pratik ve ekonomik olmayabilir. Bu nedenle test edip yetiştirme dışı bırakma ve selektif yetiştirme tekniklerinin ancak seroprevalansın %10 ve altında olduğu sürülerde uygulanması gerektiği, prevalansın %30 ve üzerinde olduğu sürülerde ise aşılama (şayet ticari aşı üretilirse) yapılması gerektiği ifade edilmiştir.[37] Neosporosisin kontrolünde önerilen bir diğer yöntem ise embriyo naklidir. Bağışıklık durumları normal, embriyolojik gelişime herhangi bir etkisi olmayan seropozitif ve seronegatif sığırlar donör olarak kullanılabilir ancak alıcı annelerin seronegatif olması gerekmektedir.[7,18,37]

Horizontal bulaşmayı önlemek için köpeklerin ya da yabani canidae'lerin yemlik, suluk, ahır ve meraya dışkılaması, atık fötüslerin ve plasental membranların evcil ve yabani canidae'ler tarafından yenmesinin engellenmesi gerekmektedir. Bu nedenle doğum sonrası atık materyaller mutlaka usulüne uygun olarak imha edilmelidir.[7] Veteri-

ner Hekimler, hayvan sağlığı ile ilgili alanlarda çalışan yardımcı personel, hayvan yetiştiricileri ve halk neosporosis konusunda bilinçlendirilmelidir.

SONUÇ

Seksenli yıllarda sığırlarda tanımlanmış bir protozoon olan N.caninum, 90'lı yıllarda atık ve ölü doğan keçilerde de tespit edilerek daha büyük ilgi odağı haline gelmiştir. Geçen 36 yıl içerisinde ise sığır neosporosisi konusunda çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen, diğer çiftlik hayvanları ve yabani hayvanlarda yeterli sayıda çalışma yapılamamış, etkenin neden olduğu ekonomik kayıplar ve epidemiyolojik özellikleri ise hala tam olarak anlaşılamamıştır.[12]

Hastalığa karşı etkin bir tedavi yöntemi ve korunmak için aşı bulunmamakta, kontrol noktasındaki bazı önlemler ise varsayımlara dayanmaktadır.[8] Ülkemizde yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu sığırlarda hastalığın yaygınlığına yönelik olup, diğer çiftlik hayvanlarındaki çalışmalar oldukça sınırlıdır, ayrıca ülkemizde hastalığın tanısına yönelik kit, tedavisine yönelik molekül ve korunmaya yönelik aşı geliştirme konusunda somut bir çalışma yoktur.[12]

Yaygınlığı konusunda yapılan çalışmaların sonuçlarında ise farklı serolojik testlerin ve cutt-off değerlerinin kullanımı, kullanılan testlerin sensitivite ve spesifite farklılıkları, hatalı örnekleme yapılması gibi sebeplere bağlı olarak ciddi farklılıklar ortaya çıkmaktadır.[5,38]

Dünya genelinde kaynakların tükenmekte olduğu günümüzde hâlen birçok yönüyle anlaşılamamış bir hastalık olan neosporosisin gelecekte daha büyük problemlere neden olacağı aşikârdır. Sonuç olarak ülkesel ya da bölgesel bazlı büyük ölçekli çalışmalarda metot birliği oluşturarak laboratuvarlar arasında uyumun sağlanması, çalışmalarda konak ve çevreye ait hastalık determinantlarının kayıtlarının iyi tutulması, keçi ve koyun abortlarının ayırıcı tanısında neosporosisin mutlaka göz önünde bulundurulması, yaban hayvanlarında hastalığın durumu ve etkenin rezervuarlarını belirlemeye yönelik çalışmalar yapılarak hastalığın epidemiyolojisinin daha iyi anlaşılması gerekmektedir. Ancak en önemli nokta ise kit, ilaç ve aşı üretmeye yönelik Ar-Ge çalışmalarına ağırlık verilmesinin gerekliliğidir.

KAYNAKLAR

1. Alpan O. Sığır yetiştiriciliği ve Besiciliği. 4. Baskı. Ankara: 1994.
2. Juyal PD, Bal MS, Singla LD. Economic impact, diagnostic investigations and management of protozoal abortions in farm animals. All India SMVS' Dairy Business Directory. 2011;11:39-46.
3. Mobini S, Heath AM, Pugh DG. Theriogenology of sheep and goats. In: Pugh DG, ed. Sheep and Goat Medicine. 1st ed. Philadelphia: Saunders; 2002. p.175.
4. Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW. Infertility in the ewe and doe (female goat). Art hur's Veterinary Reproduction and Obstetrics. 8th ed. London: Bailliere Tindall; 2001. p.570-5.
5. Ütük AE, Eşki F. Detection of anti-Neospora caninum antibodies in a goat flock in Kilis province of Turkey. IJVS. 2017;6:114-7.
6. Dubey JP, Hemphill A, Calero-Bernal R, Schares G. Neosporosis in animals. 1st ed. London: Boca Raton (FL): CRC Press, Taylor & Francis Group; 2017. p.1-529.
7. Lindsay DS, Dubey JP. Neosporosis, toxoplasmosis, and sarcocystosis in ruminants: an update. Vet Clin Food Anim. 2020;36:205-22.
8. Goodswen SJ, Kennedy PJ, Ellis JT. A review of the infection, genetics, and evolution of Neospora caninum: From the past to the present. Infect Genet Evol. 2013;13:133-50.
9. Dubey JP, Sreekumar C, Knickman E, Miska KB, Vianna MCB, Kwok OCH, et al. Biologic, morphologic, and molecular characterisation of Neospora caninum isolates from littermate dogs. Int J Parasitol. 2004;34:1157-67.
10. Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM. Epidemiology and control of Neosporosis and Neospora caninum. Clin Microbiol Rev. 2007;20:323-67.
11. Eşki F, Ütük AE. Detection of anti-Neospora caninum antibodies in cattle in adana province of Turkey. Van Vet J. 2018;29(2):93-9.
12. Ütük AE, Eşki F. Investigation of anti-Neospora caninum antibodies and disease-related risk fac tors in goats. Med Weter. 2019;75(11):678-83.
13. Eşki F, Demir P, Babür C, Ütük AE. Türkiye'nin Adana yöresindeki koyunlarda Toxoplasma gondii ve Neospora caninum seroprevalansının araştırılması. Etlik Vet Mikrobiyol Derg. 2018;29(1):19-23.
14. Anvari D, Saberi R, Sharif M, Sarvi S, Hosseini SA, Moosazadeh M, et al. Seroprevalence of Neospora caninum infection in dog population worldwide: a systematic review and meta-analysis. Acta Parasitol. 2020. doi.org/10.2478/s11686-019-00163-4.
15. De Marez T, Liddell S, Dubey JP, Jenkins MC, Gasbarre L. Oral infection of calves with Neospora caninum oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. Int J Parasitol. 1999;29:1647-57.
16. Trees AJ, McAllister MM, Guy CS, McGarry JW, Smith RF, Williams DJL. Neospora caninum: oocyst challenge of pregnant cows. Vet Parasitol. 2002;109:147-54.
17. McCann CM, McAllister MM, Gondim LFP, Smith RF, Cripps PJ, Kipar A, et al. Neospora caninum in cattle: Experimental infection with oocysts can result in exogenous transplacental infection, but not endogenous transplacental infection in the subsequent pregnancy. Int J Parasitol. 2007;37:1631-9.
18. Kierbić A, Wieczorkiewicz M, Żbikowska E, Jaśkowski JM. Neospora caninum infection in cattle: Not only an economic problem. Med Weter. 2019;75(7):410-5.
19. Williams DJL, Hartley CS, Bjorkman C, Trees AJ. Endogenous and exogenous transplacental transmission of Neospora caninum-how the route of transmission impacts on epidemiology and control of disease. Parasitol. 2009; 136:1895-900.
20. Guy CS, Williams DJL, Kelly DF, McGarry JW, Guy F, Bjorkman C, et al. Neospora caninum in persistently infected, pregnant cows: spontaneous transplacental infection is associated with an acute increase in maternal antibody. Veterinary Record. 200;149:443-9.

21. Dubey JP, Buxton D, Wouda W. Pathogenensis of bovine neosporosis. J Comp Pathol. 2006;134:267-89.
22. Williams DJL, Guy CS, McGarry JW, Guy F, Taske L, Smith RF, et al. Neospora caninum-associated abortion in cattle: the time of experimentally-induced parasitaemia during gestation determines foetal survival. Parasitol. 2000;121:347-58.
23. Innes EA, Andrianarivo AG, Bjorkman C, Williams DJL, Conrad PA. Immune responses to Neospora caninum and prospects for vaccination. Trends Parasitol. 2002;18:497-504.
24. Long MT, Baszler TV. Fetal loss in BALB/c mice infected with Neospora caninum. J Parasitol. 1996;82:608-11.
25. Quinn HE, Ellis JT, Smith NC. Neospora caninum: a cause of immunemediated failure of pregnancy? Trends Parasitol. 2002;18:391-4.
26. Alekish MO, Talafha AQ, Alshehabat MA, Ismail ZAB. Relationships between certain metabolic diseases and selected serum biochemical parameters in seropositive dairy cows against Neospora caninum infection in different stages of lactation. Ann Parasitol. 2017;63:99-103.
27. Reichel MP, Alejandra Ayanegui-Alcérreca M, Gondim LF, Ellis JT. What is the global economic impact of Neospora caninum in cattle-the billion-dollar question. Int J Parasitol. 2013;43:133-42.
28. Auriemma C, Lucibelli MG, Borriello G, De Carlo E, Martucciello A, Schiavo L, et al. PCR Detection of Neospora caninum in Water Buffalo Foetal Tissues. Acta Parasitol. 2014;59:1-4.
29. Nasir A, Ashraf M, Khan MS, Yaqub T, Javeed A, Avais M, et al. Seroprevalence of Neospora caninum in dairy buffaloes in lahore district, Pakistan. J Parasitol. 2011;97:541-3.
30. Reichel MP, McAllistera MM, Nasir M, Moored DP. A review of Neospora caninum in water buffalo (bubalus bubalis). Vet Parasitol. 2015;212:75-9.
31. Chryssafidis AL, Soares RM, Rodrigues AA, Carvalho NA, Gennari SM. Evidence of congenital transmission of Neospora caninum in naturally infected water buffalo (Bubalus bubalis) fetus from Brazil. Parasitol Res. 2011;108:741-3.
32. Ribeiro CM, Soares IR, Mendes RG, Bastos AS, Katagiri S, Zavilenski RB, et al. Meta-analysis of the prevalence and risk factors associated with bovine neosporosis. Trop Anim Health Prod. 2019;51:1783-800.
33. Björkman C, McAllister MM, Frössling J, Näslund K, Leung F, Uggla A. Application of the Neospora caninum IgG avidity ELISA in assessment of chronic reproductive losses after an outbreak of neosporosis in a herd of beef cattle. J Vet Diagn Invest. 2003;15(1):3-7.
34. Baszler TV, Adams S, Vander-Schalie J, Mathison BA, Kostovic M. Validation of a commercially available monoclonal antibody-based competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibodies to Neospora caninum in cattle. J Clin Microbiol. 2001;39(11):3851-7.
35. Söndgen P, Peters M, Bärwald A, Wurm R, Holling F, Conraths FJ, et al. Bovine neosporosis: immunoblot improves foetal serology. Vet Parasitol. 2001;102(4):279-90.
36. Dumanlı N, Aktaş M. Toxoplasmatidae (Toxoplasma, Neospora). Dumanlı N, Karaer Z, editörler. Veteriner Protozooloji. 2. Baskı. Ankara: Medisan Yayınevi; 2015.
37. Liu Y, Reichel MP, Lo WC. Combined control evaluation for Neospora caninum infection in dairy: Economic point of view coupled with population Dynamics. Vet Parasitol. 2020;277: 108967.
38. Utuk AE, Simsek S, Piskin FC, Balkaya I. Detection of Neospora caninum IgG antibodies in goats in Elazığ, Erzurum and Kırşehir Provinces of Turkey. Isr J Vet Med. 2011; 66:157-9.