

Konya yöresindeki sığırlarda *Neospora caninum*'un yaygınlığının serolojik olarak araştırılması*

Hasan AYTEKİN, Kadir KAMBURGİL, Erol HANDEMİR, Funda ALTINÖZ

Konya Veteriner Kontrol Enstitüsü

Geliş Tarihi / Received: 08.04.2010, Kabul Tarihi / Accepted: 16.06.2010

Özet: Bu çalışmada; Konya yöresindeki dişi sığırlarda *Neospora caninum*'un yaygınlığının serolojik olarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Kan serum örnekleri, Ocak 2010 - Aralık 2010 tarihleri arasında farklı yaş gruplarındaki atık yapan ve yapmayan, toplam 385 inekten toplanmıştır. Kan serumlarında İndirekt Fluoresan Antikor (IFA) testi kullanılarak *N.caninum*'a karşı oluşan IgG antikorları aranmıştır. Yapılan muayenede; toplam 385 kan serumunun 34'ünde (%8.83) seropozitiflik saptanmış, bunlardan atık hikayeli 76 kan serumunun 9'u (%11.84) ve atık yapmamış 309 kan serumunun ise 25'i (%8.09) seropozitif bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: İnek, Konya, *Neospora caninum*, Seroprevalans.

Seroprevalance of *Neospora caninum* in cattle investigation in Konya

Abstract: In this study aimed to determine Konya region was detected in cows with the prevalence of *Neospora caninum*. Blood sera samples, January 2010 - December 2010 between the different age groups considered in aborted or not the total of 385 animals were collected. Blood sera Indirect Fluorescent Antibody (IFA) test using the *N.caninum* IgG antibodies were searched: 34 (8.83%) of 385 blood sera were seropositive. In the evaluation, 9 (11.84%) of aborted the 76 cows blood sera seropositive and 25 (8.09%) of 309 not aborted group blood sera were seropositive.

Key words: Cow, Konya, *Neospora caninum*, Seroprevalance.

Giriş

Neosporosis, parazit protozoon *Neospora caninum*'un neden olduğu bir hastalıktır. Sığırlarda meydana gelen atıkların önemli sebeplerinden biridir. Son konakçısı köpekler, arakonakçısı ise sığır, koyun, keçi, geyik, manda ve atlardır. Sığırlarda hastalığın tek belirtisi gebeliğin genellikle 5-7 ayları arasında görülen yavru atmadır. Ayrıca ölü ve canlı doğumlar olabilir. Canlı doğan buzağular inkoordinasyon bozukluğu, patellar refleksde azalma, ön ve arka bacaklarda gerilme, bilinç kaybı gibi belirtiler gösterebildiği gibi, klinik belirtiler göstermeksizin kronik olarak enfeksiyonu taşıyabilirler [6, 13-16, 18,40].

Sığırlara *Neospora caninum*'un bulaşması, köpekler tarafından dışkıyla çevreye saçılan ookistlerin sporlandıktan sonra oral yolla alınması ya da gebe ineklerde plasenta yoluyla yavruya geçerek olmaktadır. Köpeklere bulaşma ise kistik formları içeren enfekte dokuların alınmasıyla olur. Ayrıca

etken içeren fötüs, plasenta ve uterus atıkları da enfeksiyon kaynağıdır [13,15,16,18].

N.caninum, ilk defa 1984'de Bjerkas ve ark. [8] tarafından Norveç'te myositis ve ensefalomyelitisi köpeklerde tanımlanmış ve 1988 yılında Dubey ve ark. [12] tarafından isimlendirilmiştir. ABD'nin New Mexico eyaletinde 1987 Eylül ayında başlayan ve 5 aydan fazla süren sığır atık vakalarının incelenmesi sonucu 3 fötusta etkenin tespit edilmesi ile sığır atık fötüslerinde de ortaya konmuştur [41]. Ayrıca, sığırlarda serolojik olarak parazite spesifik antikorlar da saptanmıştır [3,10,11,19,22,24,25].

Hastalığın tanısında immunohistokimyasal teknikler, moleküler teknikler, doku kültürleri ve serolojik testler kullanılabilir. En uygun ve yaygın olarak kullanılan serolojik testler ELISA ve IFA testleridir [9,10,14,17,21,31,33,34,40].

N.caninum enfeksiyonlarına yaygın olarak rastlanıldığı; ABD'de %26.90 [19], Kanada'da %5.60 [42], Arjantin'de %39.86-43.10 [29,30],

Yazışma adresi / Correspondence: Funda Altınöz, Veteriner Kontrol Enstitüsü, Parazitoloji Laboratuvarı, Konya, Türkiye
E-posta: fundaaltoz@myynet.com

*TAGEM-HS-10-10-01-02-162 nolu Gıda Tarım ve Hayvancılık projesinden özetlenmiştir.

Brezilya'da %14.09-%34.80 [22,27], Hindistan'da %8.20 [28], Meksika'da %11.60-26.00 [20,37], Japonya'da %5.70 [25], İran'da %15.18 [38], Kosta Rika'da %43.30 [36], Senegal'de %17.90 [24] ve Yeni Zelanda'da %6.75 [35] seroprevalans oranları tespit edildiği bildirilmiştir.

Türkiye'de *N.caninum*'un varlığı ilk kez, nörolojik klinik belirtiler gösteren, 20 günlük Simental buzağının dokularından immunohistokimyasal yöntemle tespit edildiği 2009 yılında Kul ve ark. [26] tarafından bildirilmiştir. Serolojik çalışmalarda ise [1-3, 5,7,23,32,39,43], sığır neosporosisinin seroprevalansı Türkiye'de %2.00-32.72 aralığında belirtilmiştir. Buna göre neosporosis, Doğu Anadolu Bölgesinde Bingöl'de %4.69, Elazığ'da %15.00, Malatya'da %4.00 ve Muş'ta %4.86 [3], Erzurum'da %10.65 [5], İç Anadolu Bölgesinde Ankara'da %10.15, Çankırı'da %6.93, Nevşehir'de %5.10, Kırşehir'de %19.55, Kırıkkale'de %32.72, Eskişehir'de %5.43, Yozgat'ta %20.32 [43] ve Kayseri'de %7.00-%10.82 [23,43] olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, Şanlıurfa yöresinde %7.50 [39], Sakarya yöresinde %9.20 [32], Trakya'da %8.02 [7] ve Kars yöresinde %2.00 [1] oranlarında neosporosis yaygınlığı saptanmıştır.

Bu çalışma ile Konya yöresindeki dişi sığırlarda *N.caninum*'un yaygınlığı serolojik olarak IFA testi kullanılarak belirlenmiştir.

Materyal ve Metot

Bu araştırma; Ocak 2010-Aralık 2010 tarihleri arasında Konya merkez ilçeler ile Akşehir, Altınekin, Çumra, Seydişehir, Ilgın, Kadınhanı, Sarayönü, Bozkır, Karapınar ve Ereğli İlçelerinde tesadüfen belirlenen ineklerden alınan toplam 385 kan örneği üzerinde yapıldı. İneklere ilişkin ırk, yaş ve atık bilgileri kaydedildi. İneklerden alınan kan örnekleri 2500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumlar ayrıldı ve endorf tüplerine konularak test edilinceye kadar -20°C'de muhafaza edildi. Daha sonra IFA testi ile test edildi.

Örnek büyüklüğü, %95 güven aralığında tahmini prevalansın %10 ve azami kesinliğin %3 olduğu düşünülerek hesaplandı. Bu çalışmada, atık yapan ve yapmayan inekler ile yaşlı ve genç olanlar değerlendirmede dikkate alındı.

Antijen: Antijen kaplı lamalar VMRD Inc, Pulman, USA (No: 210-88-12-NC)'dan temin edildi.

Konjugat: Konjugat olarak FITC Conjugated anti-bovine IgG (Sigma No: F-7887) kullanıldı. Konjugat 1/10'dan başlayarak 1/640'a kadar PBS ile sulandırıldı. Pozitif ve Negatif kontrol serumları ile yapılan işlemlerde, negatif kontrol serumlarının tamamı fluoresan vermediği halde pozitif kontrol serumlarının hepsinin fluoresan verdiği gözlemlendi. En iyi fluoresan 1/40 konjugat dilasyonunda görüldü.

Pozitif Kontrol Serum: Pozitif kontrol serum VMRD Inc, Pulman, USA (No: 211-P-NC-BOV)'dan temin edildi.

Negatif Kontrol Serum: Negatif kontrol serum VMRD Inc, Pulman, USA (No: 211-N-NC-BOV)'dan temin edildi.

PBS: Sigma, P-4417, pH 7.4

Testin uygulanması: Bu çalışmada serum sulandırma için eşik değer 1/200 kabul edilerek serum muayeneleri yapıldı. Serumlar 1 gün önceden derin dondurucudan buzdolabı (4°C)'na konuldu. Antijen kaplı lamaların birer gözlerine pozitif kontrol serum ve negatif kontrol serum, diğer gözlerine ise şüpheli serumların 1/200 dilüsyonlarından 10'ar µl damlatıldı. Bu lamalar, nemli bir küvetin içine konulduktan sonra 37°C'lik etüvde 30 dakika inkübe edildi, sonra PBS ile 5'er dakika süreyle üç kez yıkandı ve oda sıcaklığında havada kurutuldu. Kuruyan lamaların üzerine 1/40 oranında PBS ile sulandırılan konjugattan 10'ar µl ilave edildi ve aynı şekilde nemli bir küvet içinde 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Etüvden çıkarılan preparatlar PBS ile 5'er dakika süreyle üç kez yıkandı. Kurumadan, üzeri 1 kısım PBS ile 9 kısım gliserin karışımından oluşan kaplama solüsyonu ile kaplandı ve lamel kapatılarak fluoresan mikroskopun X40 (Olympus B H) objektifinde incelendi. Pozitif ve negatif kontrol serumlar dikkate alınarak, muayenesi yapılan serumlardan karanlık sahada fluoresan verenler pozitif olarak değerlendirildi [10,29].

Sonuçlara ilişkin istatistiksel hesaplamalar khi kare (χ^2) testi ile yapıldı.

Bulgular

Bu çalışmada, Konya yöresinde toplam 385 ineğin 34'ünde *N.caninum*'a spesifik IgG antikorları saptanmış olup, seroprevalans %8.83 olarak bulunmuştur. Seroprevalansın ilçelere göre durumu Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Sığırlarda *N.caninum* Seroprevalansının İlçelere Göre Dağılımı

İlçeler	Sığır Adedi	Seropozitivite	
		Adet	(%)
Akşehir	30	0	0.00
Altınekin	35	3	8.57
Bozkır	29	2	6.89
Çumra	30	2	6.66
Ereğli	30	4	13.33
Ilgın	30	0	0.00
Kadınhanı	30	7	23.33
Karapınar	30	2	6.66
Karatay	29	6	20.68
Meram	30	4	13.33
Sarayönü	30	2	6.66
Selçuklu	22	0	0.00
Seydişehir	30	2	6.66
Toplam	385	34	8.83

Tablo 1'e göre, *N.caninum*'un seroprevalansı Altınekin'de %8.57, Bozkır'da %6.89, Çumra'da %6.66, Ereğli'de %13.33, Kadınhanı'nda % 23.33, Karapınar'da %6.66, Karatay'da %20.68, Meram'da %13.33, Sarayönü'nde %6.66 ve Seydişehir'de %6.66 düzeyinde bulunmuştur. Akşehir, Ilgın ve Selçuklu'dan alınan örneklerin hiçbirinde antikor tespit edilememiştir.

Konya yöresinde atık yapan ve yapmayan sığırlarda *N.caninum*'un seroprevalansı Tablo 2'de verilmiştir. Buna göre, *N.caninum*'un seroprevalansı atık yapan sığırlarda %11.84 ve atık yapmayan sığırlarda %8.09 olarak saptanmıştır. İki grup arasındaki fark istatistiksel bakımdan önemsizdir ($p>0.05$).

Tablo 2. Atık yapan ve yapmayan sığırlarda *N.caninum* seroprevalansı

Grup	Sığır Adedi	Seropozitivite	
		Adet	(%)
Atık Yapan	76	9	11.84
Atık Yapmayan	309	25	8.09
Toplam	385	34	8.83

Konya yöresinde sığırlarda *N.caninum*'un yaş gruplarına göre seroprevalansı Tablo 3'de verilmiştir. Tablo 3'de belirtildiği gibi seroprevalans < 3 yaş grubunda %10.00, 4-5 yaş grubunda %9.83 ve > 6 yaş grubunda %6.19 olarak tespit edilmiştir. Yaş grupları arasındaki fark istatistiksel bakımdan önemsizdir ($p>0.05$).

Tablo 3. Sığırlarda *N.caninum* seroprevalansının yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş	Sığır Adedi	Seropozitivite	
		Adet	(%)
<3	150	15	10.00
3-6	122	12	9.83
>6	113	7	6.19
Toplam	385	34	8.83

Konya yöresinde sığırların ırklarına göre *N.caninum*'un seroprevalansı Tablo 4'de verilmiştir. Buna göre; Holstein sığırlarda %8.45, Montofon sığırlarda %10.20 ve Simental sığırlarda %6.66 seroprevalans belirlenmiştir. Sığır ırkları arasındaki fark istatistiksel bakımdan önemsizdir ($p>0.05$).

Tablo 4. Sığırlarda *N.caninum* seroprevalansının ırklara göre dağılımı

İrk	Sığır Adedi	Seropozitivite	
		Adet	(%)
Holstein	272	23	8.45
Montofon	98	10	10.20
Simental	15	1	6.66
Toplam	385	34	8.83

Tartışma ve Sonuç

Dünya üzerinde geniş bir coğrafyada varlığı bilinen *N.caninum*'un değişik ülkelerdeki sığırlarda seroprevalans değerleri %5.60-43.30 [19,22,24,25, 27-30, 35-38] arasında olup, Türkiye'de ise %2.00-32.72 [1-3, 5,7,23,32,39,43] arasında değişmektedir. Neosporosis seroprevalansı; Bingöl'de %4.69, Elazığ'da %15.00, Malatya'da %4.00, Muş'ta %4.86 [3], Erzurum'da %10.65 [5], Ankara'da %10.15, Çankırı'da %6.93, Nevşehir'de %5.10, Kırşehir'de %19.55, Kırıkkale'de %32.72, Eskişehir'de %5.43, Yozgat'ta %20.32 [43], Kayseri'de %7.00-10.82 [23,43], Şanlıurfa %7.50 [39], Sakarya %9.20 [32],

Trakya'da %8.02 [7] ve Kars'ta %2.00 [1] oranlarında bildirilmiştir. Bu çalışmada, Konya yöresindeki sığırlarda *N.caninum* seroprevalansı %8.83 olarak bulunmuştur. Bu sonuç, dünyanın değişik ülkelerinde ve Türkiye'de saptanan seroprevalans değerleri içerisinde olup özellikle Ankara, Şanlıurfa, Kayseri, Sakarya, Erzurum ve Trakya'da saptanan seroprevalans değerleri ile uygunluk göstermektedir.

Campero ve ark. [8] atık fütüslerin %7.30'ünde, Anderson ve ark. [4] ise %45.50'sinde etkenin saptandığını, *N.caninum*'un sığırlarda önemli atık sebebi olduğunu bildirmişlerdir. Davison ve ark. [11] ise, seropozitif sığırların seronegatif sığırlara göre yavru atma riskinin, 3.5 kat daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Atık yapan ve yapmayan gruplar arasındaki seroprevalans farkın, önemli olduğu bildirimlerinin [5,23,28,37,43] aksine, Sadrebazzaz ve ark. [38] ile Aktaş ve ark. [3] her iki grup arasındaki farkın önemli olmadığını ifade etmektedirler. Bu çalışmada; *N.caninum* seroprevalansı atık yapan grupta %11.84, atık yapmayan grupta ise %8.09 oranlarında saptanmış, ancak iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). Bu sonuç, Sadrebazzaz ve ark. [38] ile Aktaş ve ark. [3]'ün görüşlerini desteklemektedir.

Sığır yaşlarının *N.caninum* seroprevalansı üzerine etkileri konusunda değişik görüşler vardır. Bazı araştırmacılar [5,24,28,29,37] seroprevalans olgularının yaş grupları arasında önemli olduğunu, bazıları [23,25,38,43] ise önemli olmadığını ifade etmektedirler. Bu çalışmada yaş grupları ile seroprevalans değerlerinin arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

Yapılan bazı çalışmalarda [3,38,39], sığır ırkları ile seroprevalans sonuçları arasındaki farkın önemli olmadığı belirtilmiştir. Bu çalışmada da, sığır ırkları ile seroprevalans değerleri arasında önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Sonuç olarak, Konya yöresinde atık yapan ve yapmayan sığırlarda *N.caninum* varlığı, serolojik olarak tespit edilmiştir. *N.caninum* yaygınlığının koruyucu hekimlik açısından da önemi dikkate alındığında, sonraki araştırmacılar için bu durumun etken izolasyonu yapılarak desteklenmesi önerilebilir. Ayrıca, sığırcılık işletmelerinde ve özellikle damızlık sığır işletmelerinde anne ve yavru sağlığı açısından *N.caninum*'un da etkili bir hastalık ajanı olduğu dikkate alınmalı ve yetiştiriciler bu konuda eğitilmelidir.

Kaynaklar

1. Akça A, Gökçe H, (2003). Kars yöresi yerli ve kültür ırkı ithal sığırlarında *Neospora caninum*'un seroprevalansı. XIII. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 8-12 Eylül, Konya-Türkiye.
2. Akça A, Gokce, HI, Guy CS, McGarry JW, Williams DJ, (2005). Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in local and imported cattle breeds in the Kars province of Turkey. Res Vet Sci. 78, 123-126.
3. Aktaş M, Şaki CE, Altay SŞ, Ütük AE, Köroğlu E, Dumanlı N, (2005). Doğu Anadolu Bölgesinin bazı illerinde bulunan sığırlarda *Neospora caninum*'un araştırılması. T Parazitol Derg. 29, 22-25.
4. Anderson ML, Palmer CW, Thurmond MC, Picanso JP, Blanchard PC, Breitmeyer RE, Layton AW, McAllister M, Daft B, Kinde H, Read DH, Dubey JP, Conrad PA, Barr BC, (1995). Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. J Am Vet Med Assoc. 207, 1206-1210.
5. Balkaya I, Bastem Z, Avcioglu H, Onalan SK, (2012). Seroprevalance of *Neospora caninum* antibodies in cattle in Eastern Turkey. Isr J Vet Med. 67, 109-112.
6. Barr BC, Conrad PA, Dubey JP, Anderson ML, (1991). *Neospora*-like encephalomyelitis in a calf: pathology, ultrastructure, immunoreactivity. J Vet Diagn Invest. 3, 39-46.
7. Bıykoğlu G, Öncel T, Bağcı Ö, (2003). Trakya sığırlarında *Neospora caninum* seroprevalansı. XIII. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 8-12 Eylül, Konya-Türkiye.
8. Bjerkas I, Mohn SF, Presthus J, (1984). Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. Z Parasitenkd. 70, 271-274.
9. Campero CM, Moore DP, Odeón AC, Cipolla AL, Odriozola E, (2003). Aetiology of bovine abortion in Argentina. Vet Res Commun. 27, 359-369.
10. Conrad PA, Sverlow K, Anderson M, Rowe J, BonDurant R, Tuter G, Breitmeyer R, Palmer C, Thurmond M, Ardans A, Dubey JP, Duhamel G, Barr B, (1993). Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental *Neospora* infections. J Vet Diagn Investig. 5, 572-578.
11. Davison HC, Otter A, Trees AJ, (1999). Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborting cattle. Int J Parasitol. 29, 1189-94.
12. Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Topper MJ, Uggla A, (1988). Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. J Am Vet Med Assoc. 192, 1269-1285.
13. Dubey JP, Lindsay DS, (1996). A review of *Neospora caninum* and neosporosis. Vet Parasitol. 67, 1-59.
14. Dubey JP, Lindsay DS, Adams DS, Gay JM, Baszler TV, Blagburn BL, Thulliez P, (1996). Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. Am J Vet Res. 57, 329-336.
15. Dubey JP, (1999). Recent advances in *Neospora* and neosporosis. Vet Parasitol. 84, 49-367.

16. Dubey JP, (2003). *Review of Neospora caninum and neosporosis in animals*. The Korean J Parasitol. 41, 1-16.
17. Dubey JP, Schares G, (2006). *Diagnosis of bovine neosporosis*. Vet Parasitol. 140, 1-34.
18. Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM, (2007). *Epidemiology and Control of Neosporosis and Neospora caninum*. Clin Microbiol Rev. 20, 323-367.
19. Dyer RM, Jenkins MC, Kwok OC, Douglas LW, Dubey JP, (2000). *Serologic survey of Neospora caninum infection in a closed dairy cattle herd in Maryland: risk of serologic reactivity by production groups*. Vet Parasitol. 90, 171-181.
20. Garcia-Vazquez Z, Rosario-Cruz R, Mejia-Estrada F, Rodriguez-Vivas I, Romero-Salas D, Fernandez-Ruvalcaba M, Cruz-Vazquez C, (2009). *Seroprevalence of Neospora caninum antibodies in beef cattle in three southern states of Mexico*. Trop Anim Health Prod. 41, 749-53.
21. Ghalmi F, China B, Losson B, (2007). *Diagnostic et surveillance epidemiologique de Neospora caninum*. Ann Med Vet. 151, 123-149.
22. Gondim LFPI, Sartor F, Hasegawa M, Yamane I, (1999). *Seroprevalence of Neospora caninum in dairy cattle in Bahia, Brazil*. Vet Parasitol. 86, 71-75.
23. İca A, Yıldırım A, Düzlü Ö, İnci A, (2006). *Kayseri yöresinde sığırlarda Neospora caninum'un seroprevalansı*. T Parazitoloj Derg. 30, 92-94.
24. Kamga-Waladjo AR, Gbati OB, Kone P, Lapo RA, Chatagnon G, Bakou SN, Pangui LJ, Diop Pel H, Akakpo JA, Tainturier D, (2010). *Seroprevalence of Neospora caninum antibodies and its consequences for reproductive parameters in dairy cows from Dakar-Senegal, West Africa*. Trop Anim Health Prod. 42, 953-959.
25. Koiwai M, Hamaoka T, Haritani M, Shimizu S, Zeniya Y, Eto M, Yokoyama R, Tsutsui T, Kimura K, Yamane I, (2006). *Nationwide seroprevalence of Neospora caninum among dairy cattle in Japan*. Vet Parasitol. 135, 175-179.
26. Kul O, Kabakci N, Yildiz K, Ocal N, Kalender H, İlkme NA, (2009). *Neospora caninum associated with epidemic abortions in dairy cattle: The first clinical neosporosis report in Turkey*. Vet Parasitol. 159, 69-72.
27. Locatelli-Dittrich R, Soccol VT, Richartz RR, Gasino-Joineau ME, Vinne R, Pinckney RD, (2001). *Serological diagnosis of neosporosis in a herd of dairy cattle in southern Brazil*. J Parasitol. 87, 1493-1494.
28. Meenakshi, KS, Sandhu MS, Ball H Kumar, S Sharma, PK Sidhu, C Sreekumar, Dubey JP, (2007). *Seroprevalence of Neospora caninum antibodies in cattle and water buffaloes in India*. J Parasitol. 93, 1374-1377.
29. Moore DP, Campero CM, Odeon AC, Posso MA, Cano D, Leunda MR, Basso W, Venturini MC, Spath E, (2002). *Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of Neospora caninum in Argentina*. Vet Parasitol. 2002, 303-316.
30. Moore DP, Pérez A, Agliano S, Brace M, Cantón G, Cano D, Leunda MR, Odeón AC, Odriozola E, Campero CM, (2009). *Risk factors associated with Neospora caninum infections in cattle in Argentina*. Vet Parasitol. 161, 121-125.
31. Ortega-Mora LM, Fernández-García A, Gómez-Bautista M, (2006). *Diagnosis of bovine neosporosis: recent advances and perspectives*. Acta Parasitol. 51, 1-14.
32. Öncel T, Bıyıkoğlu G, (2003). *Sakarya yöresi süt sığırlarında Neosporosis caninum*. Uludağ Univ J Fac Vet Med. 22, 87-89.
33. Packham AE, Sverlow KW, Conrad PA, Loomis EF, Rowe JD, Anderson ML, Marsh AE, Cray C, Barr BC, (1998). *A Modified Agglutination Test for Neospora caninum: Development, Optimization, and Comparison to the Indirect Fluorescent-Antibody Test and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*. Clin Diagn Lab Immunol. 5, 467-473.
34. Razmi GR, Maleki M, Farzaneh N, Talebkhan Garoussi M, Fallah AH, (2007). *First report of Neospora caninum-associated bovine abortion in Mashhad area, Iran*. Parasitol Res. 100, 755-757.
35. Reichel MP, (1998). *Prevalence of Neospora antibodies in New Zealand dairy cattle and dogs*. New Zealand Vet J. 46, 38.
36. Romero JJ, Breda SV, Vargas B, Dolz G, Frankena K, (2005). *Effect of neosporosis on productive and reproductive performance of dairy cattle in Costa Rica*. Theriogenology. 64, 1928-1939.
37. Romero-Salas D, Garcia-Vazquez, Z, Montiel-Palacios F, Montiel-Pena T, Aguilar-Dominguez M, Medina-Esparza L, Cruz-Vazquez C, (2010). *Seroprevalence of Neospora caninum Antibodies in Cattle in Veracruz, Mexico*. J Anim Vet Adv. 9, 1445-1451.
38. Sadrebazzaz A, Haddadzadeh H, Esmailnia K, Habib IG, Vojgani M, Hashemifesharaki R, (2004). *Serological prevalence of Neospora caninum in healthy and aborted dairy cattle in Mashhad, Iran*. Vet Parasitol. 124, 201-204.
39. Sevgili M, Altaş MG, (2006). *Seroprevalence of Neospora caninum in cattle in the province of Şanlıurfa*. Turk J Vet Anim Sci. 29, 127-130.
40. Sevgili M, Altaş MG, (2006). *Sığırlarda neosporosis*. F Ü Sağ Bil Derg. 20, 79-83.
41. Thilsted JP, Dubey JP, (1989). *Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle*. J Vet Diagn Invest. 1, 205-209.
42. Van Leeuwen JA, Forsythe L, Tiwari A, Chartier R, (2005). *Seroprevalence of antibodies against bovine leukemia virus, bovine viral diarrhoea virus, Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, and Neospora caninum in dairy cattle in Saskatchewan*. Can Vet J. 46, 56-58.
43. Vural G, Aksoy E, Bozkir M, Kuçukayan U, Ertürk A, (2003). *Seroprevalence of Neospora caninum in dairy cattle herds in Central Anatolia, Turkey*. Vet Arhiv. 76, 343-349.