

REVIEW ARTICLE

Bovine Neosporosis: Why does Abortion Occur?

Jitbanjong Wiengcharoen¹

Abstract

Currently, neosporosis caused by *Neospora caninum* has been reported in dairy cattle and beef cattle worldwide including in Thailand. The disease can cause abortion or transplacental transmission in the infected cows; thus, it is considered to have a significant impact on cattle production. This review article provides concept knowledge of the disease, biology, transmission, pathogenesis, hypothesis concerning the abortion, diagnosis and control.

KKU Vet J. 2010;20(2):218-225<http://vet.kku.ac.th/journal/>**Keywords:** Neosporosis; Cattle; Abortion; *Neospora caninum*

¹Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology. 140 Cherm-Sampan Road. Nongchok. Bangkok. 10530
(E-mail: jitbanjo@yahoo.com)

โรคนีโอสปอโรซิสในโคทำให้เกิดการแท้งได้อย่างไร

จิตรบรรจง เวียงเจริญ¹

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีรายงานการเกิดโรคนีโอสปอโรซิส (Neosporosis) ซึ่งเกิดจากการติดเชื้อ *Neospora caninum* ในโคนมและโคเนื้อทั่วโลกรวมทั้งในประเทศไทย แม่โคที่ติดเชื้ออาจจะแท้งลูกหรืออาจจะถ่ายทอดเชื้อไปยังลูกระหว่างที่ตั้งท้องทำให้ลูกโคที่คลอดออกมามีการติดเชื้อตั้งแต่แรกคลอด จึงจัดว่าโรคนี้มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงโคนมไม่น้อย บทความปริทัศน์นี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ความรู้เกี่ยวกับโรคนีโอสปอโรซิสว่าชีวิตวิทยา การติดต่อ การก่อโรคอย่างไร สมมติฐานเกี่ยวกับกลไกของโรคที่ทำให้โคเกิดการแท้ง ตลอดจนการวินิจฉัยโรค และการควบคุมป้องกันโรค

วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มช. 2553;20(2):218-225

<http://vet.kku.ac.th/journal/>

คำสำคัญ: โรคนีโอสปอโรซิส โค การแท้ง *Neospora caninum*

¹คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร 140 ถ.เชื่อมสัมพันธ์ แขวงกระทุ่มราย เขตหนองจอก กทม. 10530 (E-mail: jitbanjo@yahoo.com)

บทนำ

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าโรคนีโอสปอโรซิส (Neosporosis) ซึ่งเกิดจากเชื้อโปรโตซัวนีโอสปอราแคนินูม (*Neospora caninum*) นั้นเป็นสาเหตุหลักอย่างหนึ่งของการแท้ง (abortion) ในโคเนื้อและโคนมทั่วโลกจึงจัดว่ามีบทบาทสำคัญอย่างมากในอุตสาหกรรมการเลี้ยงโคนม การแท้งเนื่องจากโรคนีโอสปอโรซิสนั้นจะเกิดขึ้นได้ทั้งในกรณีที่แม่โคติดเชื้อระหว่างตั้งท้องและติดเชื้อตั้งแต่ก่อนตั้งท้องนอกจากเชื้อนีโอสปอราจะสามารถทำให้เกิดการแท้งในโคได้แล้ว มันยังอาจทำให้เกิดการตายแรกคลอดของลูกโคเกิดใหม่ (stillbirth) การติดเชื้อตั้งแต่แรกเกิดในลูกโค (congenital neosporosis) และการผลิตน้ำนมของแม่โคลดลง (reduce milk production) [1-4]

ชีวิตวิทยาและการติดต่อ

วงชีวิตของ *N.caninum* ประกอบด้วย 3 ระยะได้แก่ ระยะ tachyzoite, ระยะ bradyzoites ซึ่งบรรจุอยู่ใน tissue cyst และระยะ oocyst ซึ่งทั้ง 3 ระยะดังกล่าวต้องการโฮสต์ 2 ชนิดคือโฮสต์กึ่งกลาง (intermediate host) ได้แก่ โค สุกร แพะ แกะ กวาง และโฮสต์สุดท้าย (final host) ได้แก่ สัตว์ในตระกูลสุนัข เช่นสุนัขบ้าน, coyotes, dingo [2,5] การติดต่อของโรคอาจเกิดขึ้นได้จากการที่

สุนัขกินรกโค หรือเนื้อเยื่อของลูกโคที่แทงเข้าไป หรืออาจเกิดจากการที่โคกินอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อนของอุจจาระของสุนัขเข้าไป หรือลูกโคอาจได้รับเชื้อผ่านทางรกแม่ตั้งแต่มังอยู่ในท้อง (transplacental transmission หรือ vertical transmission) ซึ่งแม้ว่าจากการศึกษาของ Schares et al., 1998 [6] พบว่า transplacental transmission เป็นวิธีการถ่ายทอดเชื้อที่สำคัญที่สุดของโรคนี้ โอสปอโรซิส แต่ McAllister et al., 1998 [7] ก็แสดงให้เห็นว่าการเลี้ยงสุนัขอยู่ในฟาร์มที่เลี้ยงโคก็เพิ่มความเสี่ยงที่โคจะติดโรคนี้ โอสปอโรซิสได้เช่นกัน

การก่อโรค

ตามที่ได้กล่าวไว้ตั้งแต่แรกว่าผลที่ตามมาหลังจากที่แม่โคตั้งท้องติดเชื้อ *N.caninum* นั้นเป็นไปได้หลายอย่างเช่น การแท้ง (abortion) การตายแรกคลอดของลูกโคเกิดใหม่ (stillbirth) การติดเชื้อตั้งแต่แรกเกิดในลูกโค (congenital neosporosis) ซึ่งผลดังกล่าวขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยด้วยกัน เช่น อายุครรภ์ขณะที่แม่โคติดเชื้อ สภาวะภูมิคุ้มกันของแม่โคขณะที่ติดเชื้อ สภาวะภูมิคุ้มกันของลูกโคที่อยู่ในครรภ์ขณะที่แม่ติดเชื้อ เป็นต้น ยกตัวอย่างเช่น ความเสี่ยงในการที่จะถ่ายทอดเชื้อ *N.caninum* จากแม่โคที่ติดเชื้อขณะตั้งท้องไปสู่ลูกนั้น (risk of transmission) จะเพิ่มขึ้นตามอายุครรภ์ ในขณะที่ความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นกับลูกโคในครรภ์นั้นจะตรงกันข้ามคือยิ่งลูกโคที่อยู่ในครรภ์มีอายุน้อยเท่าไร ผลที่เกิดขึ้นตามมาหลังจากการติดเชื้อก็จะยิ่งรุนแรงมากขึ้นเท่านั้นดังที่ Williams et al., 2000 [8] ได้ทำการทดลองฉีดเชื้อ *N.caninum* เข้าเส้นเลือดของโคทดลองที่อายุครรภ์ 10 สัปดาห์ และ 30 สัปดาห์และพบว่าโคที่ตั้งท้อง 10 สัปดาห์จำนวน 83% จะมีการถ่ายทอดเชื้อจากแม่ไปสู่ลูก ส่วนโคที่ตั้งท้อง 30 สัปดาห์จำนวน 100% มีการถ่ายทอดเชื้อจากแม่ไปสู่ลูก และการทดลองของ Macadowie et al., 2004 [9] ซึ่งทำการทดลองฉีดเชื้อ *N.caninum* ให้กับโคทดลองที่ตั้งท้องระยะแรก (first trimester) พบว่าจะทำให้ลูกในท้อง (fetus) ตาย หรือการทดลองของ Innes et al., 2001 [10], Maley et al., 2003 [11] และ Collantes-Fernandez E et al., 2006 [12] ซึ่งทำการทดลองฉีดเชื้อให้กับโคตั้งท้องในระยะกลาง (second trimester หรือ mid-gestation) และระยะท้าย (last trimester) แล้วพบว่าลูกในท้องมักจะไม่ตายและจะมีความรุนแรงของวิการหรือรอยโรคน้อยกว่าตัวอ่อนของแม่โคที่ถูกฉีดเชื้อให้ในช่วงการตั้งท้องระยะแรก

การแท้งที่เกิดขึ้นเนื่องจากการติดเชื้อ *N.caninum* นั้นส่วนมากมักเกิดขึ้นในช่วงเดือนที่ 4-6 ของการตั้งท้อง (mid-gestation) ส่วนลูกในท้องที่ตายภายในมดลูกระหว่างอายุครรภ์ 3-8 เดือนมักจะถูกขับออกมาโดยไม่มีวิการภายนอกที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าหรืออาจจะกลายเป็น mummified และคงอยู่ในมดลูกได้อีกนานหลายเดือน ส่วนตัวอ่อนที่ตายตั้งแต่อายุครรภ์น้อยกว่านั้นอาจจะถูกดูดซึมกลับ (reabsorption) และกลับสัดหลังจากนั้น นอกจากนั้นหากลูกโคไม่ตายหรือแท้งออกมาก็อาจจะคลอดออกมาโดยแสดงอาการผิดปกติหรือมีอาการป่วยโดยมีความผิดปกติของอวัยวะ เช่น mild proprioceptive defect, decrease patellar reflexes หรือ complete paralysis เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามพบว่าลูกโคที่ติดเชื้อตั้งแต่มังอยู่ในท้องแม่ส่วนมาก (95%) มักจะคลอดออกมาโดยไม่แสดงอาการ

ป่วยใดๆ เลย (born clinically normal but congenitally infected) แต่จะมี specific antibody ที่ตอบสนองต่อ *N.caninum* ในระดับสูง (high titer) ตั้งแต่ก่อนได้กินนม น้ำเหลืองจากแม่ ลูกโคที่เป็น seropositive ตั้งแต่แรกเกิดเหล่านี้จะมีบทบาทสำคัญในการเก็บกักโรคนี้โอสปอโรซิสไว้ภายในฝูง

การแท้งเกิดขึ้นได้อย่างไร

กลไกที่ *N.caninum* ทำให้เกิดการแท้งในโคนั้นยังไม่ทราบแน่ชัดแต่มีสมมติฐานที่กล่าวว่าการแท้งของแม่โคอาจเกิดจาก

1) การที่ตัวลูกในท้อง (fetus) หรือ รก (placenta) ถูกทำลายหรือเกิดความเสียหายจนทำให้ตัวอ่อนไม่สามารถมีชีวิตอยู่ต่อไปได้ และ/หรือ

2) อาจเกิดจากระบบภูมิคุ้มกันของแม่โค (pro-inflammatory cytokines) ที่พยายามกำจัดโรคออกไป

ซึ่งสมมติฐานทั้ง 2 ข้อดังกล่าวข้างต้นอาจขยายความได้ดังนี้

ข้อที่ 1) การที่เชื้อ *N.caninum* บุกรุกเข้าไปในเนื้อเยื่อของรกจะทำให้เกิดรอยโรคและความเสียหายขึ้นภายในรกหรือภายในอวัยวะของลูกในท้อง

การที่รกรกเกิดพิการและความเสียหายจะทำให้เกิดผลตามมาคือ

1. ลูกในท้องตายหรือ

2. ทำให้แม่โคมีการหลั่งของ prostaglandin ออกมามากจึงทำให้เกิด luteolysis และ abortion สาเหตุของการที่ลูกในท้องถูกทำลายน่าจะเกิดจาก

1. การแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเชื้อ *N.caninum* ภายในตัวลูกในท้อง

2. การนำออกซิเจนหรือสารอาหารจากแม่มายังตัวอ่อนไม่เพียงพอเนื่องจากรกเกิดความเสียหาย

[2,11]

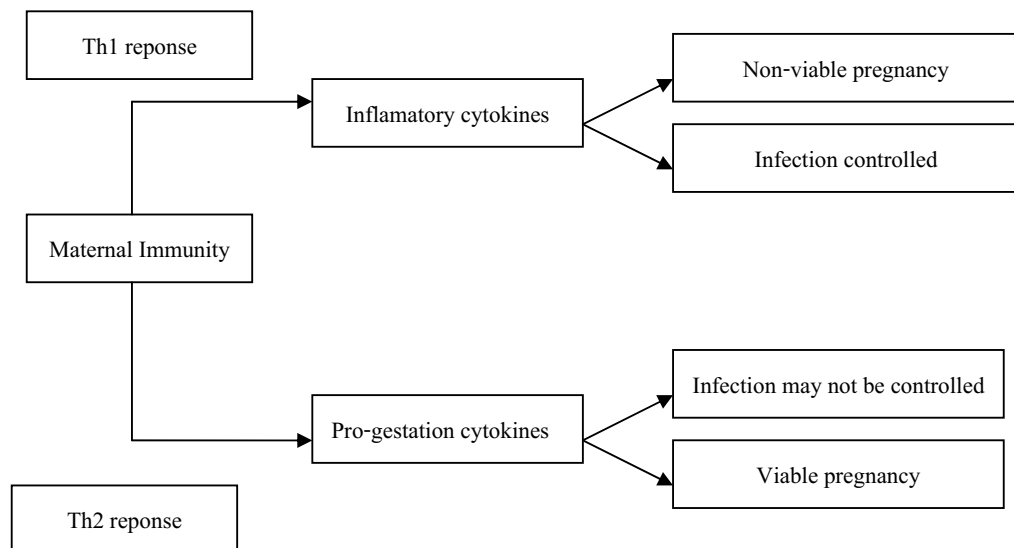
ดังเช่นการทดลองของ Gibney et al., 2008 ซึ่งได้ทำการทดลองฉีดเชื้อ *N.caninum* เข้าไปในแม่โค 2 กลุ่ม กลุ่มหนึ่งแม่โคกำลังตั้งท้องได้ 70 วันและอีกกลุ่มหนึ่งแม่โคกำลังตั้งท้องได้ 210 วัน พบว่า ลูกในท้องของแม่โคกลุ่มแรกนั้นตายทั้งหมด โดยพบลักษณะรอยโรคเนื้อตายกระจายอย่างกว้างขวางทั่วทั้งรก และอวัยวะของลูกในท้อง โดยเฉพาะจะพบพิการเนื้อตายอย่างรุนแรงที่สมอง ไชสันหลัง และตับ ร่วมกับการตรวจพบ DNA ของเชื้อ *N.caninum* กระจายอยู่ทั่วทั้งรกและอวัยวะของลูกในท้องซึ่งยืนยันว่า *N.caninum* เป็นสาเหตุของการเกิดความเสียหายของรกและเนื้อเยื่อของลูกในท้อง จนทำให้ลูกในท้องตายในที่สุด [13]

ข้อที่ 2) เนื่องจาก *N.caninum* เป็น obligate intracellular parasite ดังนั้นภูมิคุ้มกันของโฮสต์ชนิดพึ่งเซลล์ (cell-mediated immune; CMI) จึงมีบทบาทสำคัญในการป้องกันโรค มีหลักฐานแสดงให้เห็นว่าภูมิคุ้มกันชนิด pro-inflammatory cytokines Th1-type มีบทบาทและหน้าที่ดังกล่าว ดังเช่น Yamane et al., 2000 [14] แสดงให้เห็นว่า interferon gamma (IFN γ) และ tumour necrosis factor alpha (TNF α) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของ *N.caninum* ระยะ tachyzoite ภายในเซลล์เพาะเลี้ยงได้ Baszler et al., 1999 [15] ก็แสดงให้เห็นว่า IFN γ และ interleukin-12 (IL-12)

มีบทบาทสำคัญในการควบคุมโรคดังกล่าวในหนูทดลอง Khan et al., 1997 [16] ได้ทำการทดลองโดยการลดการทำงานของ IFN γ และ IL-12 ในหนูทดลองแล้วพบว่าหนูจะเพิ่มความไวต่อการโรคที่เกิดจาก *N.caninum* แต่เนื่องจากในขณะที่ตั้งท้องนั้นระบบภูมิคุ้มกันของแม่จะมีการเปลี่ยนแปลงไป โดยจะมีการสร้าง cytokine Th2-type ขึ้นมามากบริเวณรก (placenta) ซึ่งจะทำหน้าที่ต่อต้านการทำงานของ Th1-type ที่บริเวณรกนี้จึงเป็นบริเวณที่ภูมิคุ้มกันของร่างกายโดยเฉพาะ Th1-type มีประสิทธิภาพการทำงานลดลง เมื่อ *N.caninum* เข้ามาในบริเวณรก สิ่งที่จะเกิดขึ้นตามมาได้คือ (Figure 1)

1. Th1-type เข้าไปทำหน้าที่กำจัดทำลายสิ่งแปลกปลอมได้สำเร็จ ซึ่งอาจมีผลทำให้ลูกในท้องและรกได้รับความอันตรายหรือเกิดความเสียหายไปด้วยแล้วทำให้เกิดการแท้งตามมา
2. Th1-type ทำหน้าที่กำจัดสิ่งแปลกปลอมไม่สำเร็จเนื่องจากถูกต่อต้านโดย Th2-type มีผลให้ *N.caninum* ไม่ถูกกำจัดออกไปและสามารถบุกรุกเข้าไปเจริญและแบ่งตัวในเนื้อเยื่อของลูกในท้องได้ แต่ลูกในท้องจะไม่ตายและคลอดออกมาได้ตามปกติ [17-19]

Figure 1. Maternal Immune System [17]



Abbreviation: Th1, T helper cell 1 response; Th2, T helper cell 2 response

ดังเช่นการทดลองของ Maley et al., 2006 [20] ซึ่งได้ทำการทดลองฉีดเชื้อ *N.caninum* เข้าไปในแม่โคที่กำลังตั้งท้องได้ 10 สัปดาห์ ผลปรากฏว่า ในแม่โคที่เกิดการแท้งนั้นพบว่ามีวิธีการอักเสบที่บริเวณรกและพบว่ามีเซลล์ CD4+, CD8+ NK cell จำนวนมากเข้าไปในบริเวณวิธีการดังกล่าวและปริมาณของ IFN γ ก็สูงขึ้น ในขณะที่แม่โคที่ไม่แท้งนั้นจะไม่พบวิธีการอักเสบเกิดขึ้นที่รกเลย [21]

การแพร่กระจายของโรค

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า seroprevalence ของโรค neosporosis ในโคทั่วโลกในขณะนี้ค่อนข้างสูงแต่ก็แปรผันไปตามพื้นที่ต่างๆ เช่น จากการสำรวจโคเนื้อในแคนาดาพบว่า seroprevalence สูงถึง 30% ส่วนโคนมของสหรัฐอเมริกาพบว่า seroprevalence ที่แตกต่างกันไปตั้งแต่ 2-98% [1] และในบางพื้นที่พบมีรายงาน seroprevalence ในโคนมสูงถึง 87% [5] สำหรับในประเทศไทยมีรายงานจำนวนน้อยมากที่ทำการสำรวจการติดเชื้อนีโอสปอราในโค Kyaw et al., 2004 [22] รายงาน seroprevalence ของโรคนีโอสปอโรซิสในโคนม 5.5% จากแถบจังหวัดนครปฐม และ Suteeraparp et al., 1999 [23] รายงานว่าพบมี seroprevalence ของโรค 6% ในโคจาก 11 จังหวัดในแถบภาคกลาง Chanlun et al., 2002 [24] พบว่า seroprevalence ของโรคนีโอสปอโรซิสตั้งแต่ 0-46% ในจังหวัด เชียงใหม่ อุตรธานี ขอนแก่นและสกลนคร และยังมีอีกรายงานหนึ่งเป็นรายงานการแยกเชื้อ *N.caninum* ได้จากรกของแม่โคที่แท้งในจังหวัดชลบุรีและสระบุรี [25]

การวินิจฉัยโรค

การยืนยันว่าโคติดเชื้อ *N.caninum* หรือไม่นั้นจะต้องใช้การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการช่วย ในกรณีที่แม่โคมีอาการแท้งควรถวายตัวอย่างเนื้อเยื่อของลูกที่แท้งพร้อมรกและซีรัมของแม่โคเพื่อตรวจหาตัวเชื้อหรือหา DNA ของเชื้อและตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อในซีรัมของแม่ตามลำดับการตรวจหาวิธีการหรือตัวเชื้อในเนื้อเยื่อของลูกโคโดยใช้วิธีการทางจุลพยาธิวิทยาและย้อมสี H&E ธรรมดา มักไม่ค่อยประสบความสำเร็จเนื่องจากขนาดของเชื้อที่เล็กและการกระจายตัวของเชื้อภายในเนื้อเยื่อที่มักไม่ค่อยสม่ำเสมอทำให้มีโอกาสที่จะผิดพลาดได้มาก การใช้เทคนิค immunohistochemistry หรือการตรวจจับแอนติเจนของเชื้อในเนื้อเยื่อลูกโคที่แท้งโดยใช้แอนติบอดีที่จำเพาะจัดว่าเป็นวิธีที่ดีวิธีหนึ่ง หรือการตรวจหา DNA ของเชื้อจากเนื้อเยื่อลูกโคที่แท้งโดยใช้วิธี PCR ก็จัดว่ามีความจำเพาะสูงและมีความไวสูงเช่นกัน

การวินิจฉัยโดยใช้ serology test ที่นิยมใช้สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ *N.caninum* ในซีรัมของโคนั้นได้แก่ indirect immunofluorescent antibody test (IFAT) และ ELISA แต่อย่างไรก็ตาม seropositive นั้นบ่งชี้ว่าแม่โคตัวดังกล่าวมีภาวะการติดเชื้อ *N.caninum* (infection) แต่ไม่สามารถที่จะใช้ชี้ชัดลงไปได้ว่าการแท้งมีสาเหตุมาจากโรค neosporosis หรือไม่

การควบคุมและป้องกันโรค

เนื่องจากวิธีการติดต่อของโรคทางหลักก็คือ การถ่ายทอดเชื้อขณะตั้งท้องผ่านทางรกจากแม่ไปสู่ลูกและในปัจจุบันยังไม่มียาตัวใดที่สามารถกำจัดเชื้อที่อยู่ในโคที่ติดเชื้อแล้วให้หมดไปได้ ดังนั้นการควบคุมการติดเชื้อควรมุ่งเน้นที่การลดจำนวนโคที่ติดเชื้อภายในฝูงโดยอาจตัดทิ้งโคที่เคยมีประวัติการแท้งเนื่องจาก *N.caninum* และไม่นำโคที่ติดเชื้อเข้ามาเลี้ยงรวมในฝูง

เนื่องจากรายละเอียดเกี่ยวกับวงจรชีวิตของเชื้อยังไม่ทราบครบถ้วน ดังนั้นการป้องกันการติดโรคใหม่เท่าที่พอจะทำได้คือ ลดความเสี่ยงในการสัมผัสกับเชื้อ เช่น กำจัดเนื้อเยื่อโคที่แท้งออกม เนื่องจากอาจจะมีเชื้อ *N.caninum* ปนเปื้อนอยู่และกำจัดอุจจาระของสุนัขและป้องกันไม่ให้อุจจาระของสุนัขเข้าไปสัมผัสปนเปื้อนอาหารและน้ำของโค เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

1. Anderson ML, Andrianarivo AG, Conrad PA. Neosporosis in cattle. *Anim Reprod Sci.* 2000;60-61: 417-431.
2. Dubey J.P., Buxton D., Wouda W. Pathogenesis of bovine neosporosis. *J Comp Path.* 2006;134: 267-289.
3. Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20:323-367.
4. Hemphill A, Gottstein B. A European perspective on *Neospora caninum*. *Int J Parasitol.* 2000; 30:877-924.
5. Dubey JP. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol.* 2003;1:1-16.
6. Schares G, Peters M, Wurm R, Barwald A, Conraths FJ. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. *Vet Parasitol.* 1998;80:87-98.
7. McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire AM. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol.* 1998;28:1473-1478.
8. Williams DJL, Guy CS, McGarry JW, Guy F, Tasker L, Smith R, et al. *Neospora caninum* associated abortion in cattle: the time of experimentally-induced parasitaemia during gestation determines foetal survival. *Parasitol.* 2000;121:347-358.
9. Macalodow C, Maley SW, Wright S, Bartley P, Esteban-Redondo I, Buxton D, et al. Placental pathology associated with fetal death in cattle inoculated with *Neospora caninum* by two different routes in early pregnancy. *J Comp Pathol.* 2004;131:142-156.
10. Innes EA, Wright SE, Maley S, Rae A, Schock A, Kirvar E, et al. Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *Int J Parasitol.* 2001;31:1523-1534.
11. Maley SW, Buxton D, Rae AG, Wright SE, Schock A, Bartley PM, et al. The pathogenesis of neosporosis in pregnant cattle: inoculation at mid-gestation. *J Comp Pathol.* 2003;129:186-195.
12. Collantes-Fernandez E, Rodriguez-Bertos A, Arnaiz-Seco I, Moreno B, Aduriz G, Ortega-Mora LM. Influence of the stage of pregnancy on *Neospora caninum* distribution, parasite loads and lesions in aborted bovine fetuses. *Theriogenology.* 2006;65:629-641.
13. Gibney EH, Kipar A, Rosbottom A, Guy CS, Smith RF, Hetzel U, Tree AJ, Williams DJL. The extent of parasite-associated necrosis in the placenta and foetal tissues of cattle following *Neospora caninum* infection in early and late gestation correlates with foetal death. *Int J Parasitol.* 2008;38:579-588.
14. Yamane I, Kitani H, Kokuho T, Shibahara T, Haritani M, Hamaoka T, et al. The inhibitory effect of interferon gamma and tumour necrosis factor alpha on intracellular multiplication of *Neospora caninum* in primary bovine brain cells. *J Vet Med Sci.* 2000;62:347-351.
15. Baszler TV, Long MT, McElwain TF, Mathison BA. Interferon- γ and interleukin-12 mediate protection to acute *Neospora caninum* infection in BALB/c mice. *Int J Parasitol.* 1999;29:1635-1646.
16. Khan I, Schwartzman J, Fonseka S, Kasper L. *Neospora caninum*: role for immune cytokines in host immunity. *Exp Immunol.* 1997;85:24-34.

17. 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.
18. Quinn HE, Ellis JT, Smith NC. *Neospora caninum* : a cause of immune-mediated failure of pregnancy? *Trends Parasitol.* 2002;18:391-394.
19. Williams DJL, Trees AJ. Protecting babies: vaccine strategies to prevent foetopathy in *Neospora caninum*-infected cattle. *Parasite Immunol.* 2006;28:61-68.
20. Maley S, Buxton D, Macaldowie C, Anderson I, Wright S, Bartley P, et al. Characterization of the immune response generated in the placenta of cattle experimentally infected with *Neospora caninum* in early gestation. *J Comp Pathol.* 2006;135:130-141.
21. Innes EA. The host-parasite relationship in pregnant cattle infected with *Neospora caninum*. *Parasitology.* 2007;134:1903-1910.
22. Kyaw T, Virakul P, Muangyai M and Suwimonteerabutr J. *Neospora caninum* seroprevalence in dairy cattle in central Thailand. *Vet Parasitol.* 2004;26:255-63.
23. Suteeraparp P, Pholpark S, Pholpark M, Charoenchai A, Yamane I, Kashiwazaki Y. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* and associated abortion in dairy cattle from central Thailand. *Vet Parasitol.* 1999;15:49-57.
24. Chanlun A, Naslund K, Aiumlamai S, Bjorkman C. Use of bulk milk for detection of *Neospora caninum* infection in dairy herds in Thailand. *Vet Parasitol.* 2002;110:35-44.
25. Kyaw T, Virakul P, Muangyai M and Banlunara W. First identification of *Neospora caninum* in Thailand. *Thai J Vet Med.* 2003;33:97-102.

