

NEOSPORA CANINUM ANTIVIĒLU NOTEIKŠANA KOPPIENA PARAUGOS INVĀZIJAS IZPLATĪBAS NOSKAIDROŠANAI LATVIJĀ CLARIFICATION OF PREVALENCE OF INFECTION IN LATVIA WITH DETERMINATION OF ANTIBODIES TO *NEOSPORA CANINUM* IN BULK MILK SAMPLES

Eihvalde Evija, Keidāns Pēteris, Antāne Vita

LLU Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvija

Faculty of Veterinary Medicine, LUA, Latvia

eveihvalde@inbox.lv

ABSTRACT

The cyst-forming coccidian parasite *Neospora caninum* is associated with bovine congenital infection and abortion in many parts of world. Presence of antibodies to *N.caninum* in serum is indicative of infection. Linked immunosorbent assays (ELISA), indirect fluorescent antibody assays and agglutination tests have been used to demonstrate presence of *N.caninum* antibodies. ELISA can also be used to detect antibodies in fetal fluids, individual milk and bulk tank milk. Bulk milk samples from 136 herds collected from all districts of Latvia were analyzed for presence of *N.caninum* antibodies using an iscom ELISA. In the 10 herds the bulk milk absorbances were above 20, it confirmed that these herds were seropositive. 70 % from seropositive herds were small (number of cows' ≤ 20). Extensity of infection of neosporosis in Latvia is 7, 4 %.

KEY WORDS: *Neospora caninum*, antibodies, bulk milk, dairy herd.

IEVADS

Neospora caninum ir cistas veidojošs, kokcīdiju klasei piederošs, viensūnas parazīts, kurš pirmo reizi atklāts 1984. gadā kā neiroloģiskas dabas traucējumu cēlonis suņiem. Tomēr no 20 gs. 90 gadiem daudzu zinātnieku atklājumi rāda, ka *N.caninum* ir nozīmīgs govju aborta un jaundzimušo nāves cēlonis daudzās pasaules valstīs (Björkman, 2003; Gottstein, 2005; Stenlund, 2000). J.P. Dubey (2003) uzskata, ka dažās valstīs seroloģiski pozitīvu dzīvnieku daudzums ganāmpulkos var būt līdz 90 %. Invāzijas iegūšana caur placentu ir galvenais veids, kā parazīts saglabājas ganāmpulkā un tiek pārnesti uz nākošo paaudzi bez defīnītvā saimnieka klātbūtnes. Invadēšanās grūsnības laikā var izraisīt abortu, dzīvot nespējīgu augļu dzimšanu vai klīniski veselu, bet invadētu teļu dzimšanu. Teļiem var būt arī neiroloģiskas problēmas, ieskaitot progresējošu paralīzi, bet vairākums jaundzīvnieki ir klīniski veseli. Nav zināms, kādā veidā notiek augļa invadēšanās, kā arī faktori, kuri nosaka invadēšanās iznākumu. Šādi govys var invadēt augļus arī nākošajās grūsnībās un teles, kas ir ieguvušas invāziju grūsnības laikā, vēlāk var invadēt savus pēcnācējus. Govys var invadēties arī horizontāli, apēdot defīnītvā saimnieka suņa ar fekālijām izdalītas oocistas. Iespējams, ka liellopi var invadēties apēdot audus (placentu), kas satur parazitus. Slimība ir hroniska un viensūņi dzīvnieka organismā paliek visu tā dzīves laiku (Björkman, 2003; Frössling, 2004). Nav ziņu un pierādījumu par drošas vakcīnas pielietošanu vai invāzijas ārstēšanas iespējām. Galvenais invāzijas ierobežošanā ir noskaidrot un izslēgt no ganāmpulka invadētos dzīvniekus un pārtraukt parazīta dzīves ciklu (Frössling, 2004).

Neosporozes diagnostiku var veikt tiešā un netiešā veidā. Tiešā diagnostika pamatojas uz parazīta klātbūtnes konstatēšanu histoloģiski vai imunohistoķīmiski abortēta augļa audos vai pierādot ar bioraudzi. Netiešai diagnostikai pamatā lieto dažādus seroloģiskos testus: netiešās fluorescences antivielu testu, aglutinācijas testu un imūnfermentācijas analīzi (IFA jeb ELISA). Ar ELISA testiem antivielas var noteikt asinīs, augļu šķidrums, individuālā piena vai koppiena paraugos. Koppiena paraugā antivielas var noteikt, ja 10 -15 % no slaucamām govīm ganāmpulkā ir seroloģiski pozitīvas (Björkman, 2003). A. Chanlun (2002) norāda, ka nav tiešas saistības starp seroloģiski pozitīvu dzīvnieku daudzumu un pozitīviem koppiena paraugiem. Koppiena parauga pozitīvu rezultātu ietekmē ne tikai invadēto dzīvnieku

skaits ganāmpulkā, bet arī antivielu līmenis dzīvnieku organismā, laktāciju skaits un piena izslaukums. Lai noteiktu vai ganāmpulkā ir izplatīta neosporoze, koppiena paraugu izmeklēšana vairāk noderīga tieši mazos ganāmpulkos. Antivielu noteikšana koppiena paraugā ir noderīga un ekonomiski izdevīga, diagnosticējot ganāmpulkā infekcijas slimības. Tā nav sāpīga un nerada dzīvniekam stresa izjūtas. Ar to var vieglāk pētīt epidemioloģisko situāciju ganāmpulkā, reģionā vai valstī, jo vienkāršāk savākt arī atkārtotus paraugus (Chanlun et al., 2002). Skandināvijas zemēs koppiena paraugu izmeklēšana ir rutīnas darbs ganāmpulkos, lai noteiktu govju leikozes, govju virusālās diarejas un infekciozāgovju rinotraheīta diagnozi un izvērtētu kontroles pasākumus (Chanlun et al., 2002; Frössling, 2004). Dānijā seroloģiski pozitīvi dzīvnieki konstatēti ganāmpulkos ar reprodukcijas problēmām un bez tām, un šādu dzīvnieku daudzums ir no 1 līdz 59% ganāmpulkā (Björkman, 2003.). Pētījumi liecina, ka ar neosporozi invadētām slaucamām govīm samazinās arī piena produktivitāte un pasliktinās reprodukcijas rādītāji. Šveicē novērota lielāka mastītu sastopamība fermās, kur ir neosporozes invāzija (Gottstein, 2005). Latvijā, izmeklējot govju asins seruma paraugus ganāmpulkos ar reprodukcijas traucējumiem, pozitīva reakcija uz neosporozi atrasta 28% dzīvnieku (Eihvalde u.c., 2004).

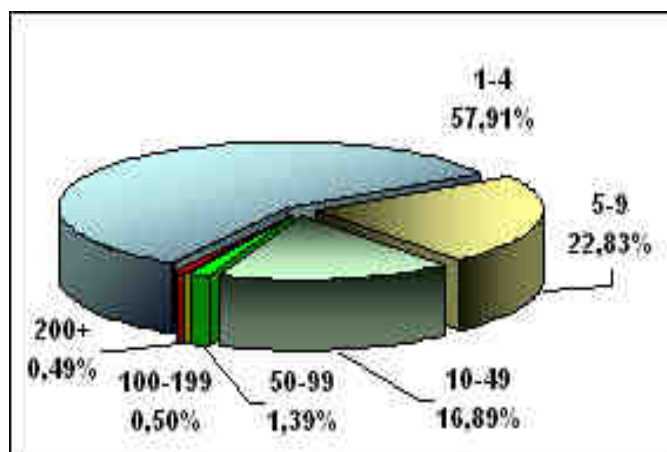
Darba mērķis bija noskaidrot govju ganāmpulku struktūru un neosporozes invāzijas izplatību Latvijā, izmantojot koppiena paraugus no nejauši izvēlētiem ganāmpulkiem.

MATERIĀLS UN METODIKA

Piena paraugi iegūti 2005.gada maijā līdz augustam. Koppiena seroloģiskai izmeklēšanai uz neosporozi no katra Latvijas rajona nejaušas atlasēs bez atkārtojuma veidā izvēlējamies 4 – 6 govju ganāmpulkus, pie nosacījuma, ka ganāmpulkā ir līdz 50 dzīvniekiem. No Balvu, Daugavpils, Gulbenes, Krāslavas, Ludzas, Ogres, Preiļu un Talsu rajoniem izmeklēti 32 koppiena paraugi (no katra rajona 4); no Alūksnes, Bauskas, Cēsu, Kuldīgas rajoniem – 20 paraugi (no katra – 5); no Aizkraukles, Dobeles, Jēkabpils, Jelgavas, Liepājas, Limbažu, Madonas, Rēzeknes, Rīgas, Saldus, Tukuma, Valkas, Valmieras un Ventpils rajoniem kopā izmeklēti 84 paraugi (no katra – 6). Kopā iegūti piena paraugi no 2394 govīm. Mazākais govju skaits ganāmpulkos bija 7, lielākais - 50 slaucamās govīs. Piena paraugus (10 ml) ņēmām plastmasas konteineros. Lai piena paraugu varētu izmeklēt, tam jābūt attaukotam. To panāk, paraugu centrifugējot 10 minūtes pie 3000 apgriezieniem. No katra parauga analizēšanai paņemām 0,5 ml vājpiena. Piena paraugus izmeklējam svaigus vai sasaldējām un izmeklējam vēlāk. Izmeklējumus veicām ar „*Neospora caninum* iscom ELISA” testu (ražots SVANOVA Biotech AB) Valsts Veterinārmedicīnas Diagnostikas centra Dzīvnieku slimību diagnostikas laboratorijā (kopš 2006.gada 1.janvāra Nacionālā Diagnostikas centrs). Testa būtība ir sekojoša: ja paraugs satur neosporu antivielas, tās saistās ar parazīta antigēniem uz mikroplates un par pozitīvu rezultātu liecina krāsu maiņa paraugā testa izpildes laikā. Rezultātu var novērtēt vizuāli vai nolasīt ar mikroplašu fotometru, kur tiek mērīts optiskais blīvums pie 450 nm viļņu garuma. Paraugi ar optiskā blīvuma rādītājiem virs 20, uzskatāmi par pozitīviem.

REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Dzīvnieku reģistrā uz 2005.gada 1.janvāri Latvijā bija reģistrēti 376547 liellopi, t.sk. 204982 slaucamās govīs. Analizējot govju skaita sadalījumu pēc ganāmpulku lieluma, lielākais ganāmpulku skaits republikā ir ar govju skaitu no 1 -5 dzīvniekiem (61%). 2004.gadā tādi ganāmpulki bija 57,91%. Salīdzinot ar 2001.gadu, ir pieaudzis to ganāmpulku skaits, kuros govju skaits ir no 11 -15 un no 21 – 50 dzīvniekiem (Lauksaimniecības datu centrs 2004). Pavisam kopā izmeklēti 136 ganāmpulku koppiena paraugi, no kuriem 10 (ekstensitāte 7,4%) bija ar pozitīvu reakciju uz neosporu antivielām (sk.tabulu). Koppiena paraugu izmeklējumi 70% veikti ganāmpulkos ar dzīvnieku skaitu no 1 -20.



1.attēls. Pārraudzībā esošo ganāmpulku sadalījums pēc govju skaita 2004.gadā Latvijā (Lauksaimniecības datu centrs (2004)

Figure 1. Distribution of herds depending on number of cows in 2004.

Tabula / Table

Rajoni, kuros bija uz neosporozi seroloģiski pozitīvi ganāmpulki
Districts were are seropositive to neosporosis herds

Rajons District	Govju skaits ganāmpulkā Number of cows in herd	Kopējā piena paraugs (no ... govīm) Bulk milk sample from.....cows	Optiskā blīvuma rādītāji paraugā Value of optical density in sample
Bauskas	8	8	31,00
Gulbenes	50	25	45,18
Jelgavas	25	20	87,04
Liepājas	12	12	48,67
Limbažu	16	8	40,30
Rīgas	22	17	70,85
Talsu (1)	13	9	37,09
Talsu (2)	19	11	51,50
Valkas (1)	16	16	48,95
Valkas (2)	9	9	33,47

No 10 seroloģiski pozitīviem koppiena paraugiem 7 (70 %) bija savākti ganāmpulkos ar govju skaitu līdz 20. Seroloģiski pozitīvie koppiena paraugi iegūti no Bauskas, Gulbenes, Jelgavas, Liepājas, Limbažu, Rīgas, Talsu un Valkas rajoniem, t.i. 8 no 26 rajoniem (31 %). Augstākie optiskā blīvuma rādītāji konstatēti koppiena paraugos no ganāmpulkiem Jelgavas (87,04) un Rīgas (70,85) rajonos.

Secinājām, ka mikroorganismu skaitu uz pupu ādas virsmas ziemošanas periodā pētījumā iekļautajām govīm iespaido turēšanas apstākļi, sevišķi stāvvieta tīrība, mēslu izvākšanas kārtība, kā arī slaukšanas stobriņu tīrīšana un dezinfekcija pēc katras govīs izslaukšanas. Arī mikroorganismu skaits pienā bija ļoti dažāds. Izmēģinājuma grupā vidēji 244 tūkst., tai skaitā *Staphylococcus* spp. 15,6 un *Staphylococcus aureus* 7,4 tūkst KKV/ml. Kontroles grupā attiecīgi 15,0 un 3,5 tūkst. SŠS skaits pa grupām attiecīgi 329 un 86 tūkst/ml. Tādi bija laboratorisko analīžu rezultātu fona dati par pētījumā iekļauto dzīvnieku tesmeņa veselības stāvokli. Arī klīniski izmeklējot, dzīvnieku veselības traucējumi un tesmeņa parenhīmas iekaisumus nekonstatējām. Abās grupās bija 50% govīs, kurām konstatēti pupu ādas epidermas erozijas, palielināts sausums, nelieli plaisājumi, paaugstināts jūtīgums un pat sāpīgums.

Latvijā pirmie govju seroloģiskie izmeklējumi uz neosporozi sākti 2001. gadā (Eihvalde u.c., 2004). Izmeklējot abortējušu govju asins seruma paraugus, laikā no 2001. līdz 2005. gadam, 16 % no tiem bija seroloģiski pozitīvi uz neosporozi. Salīdzinot ar citām valstīm, Zviedrijā atrastas antivielas pret *N.caninum* 2% no slaucamām govīm. Ganāmpulkos, kuros novēroti aborti, 7% no abortējušām govīm bija seroloģiski pozitīvas uz neosporozi (Björkman, 2003). Japānā starp abortējušām govīm seroloģiski pozitīvas bija ievērojami vairāk slaucamo govju (20%) nekā gaļas šķirņu (1,5%) ganāmpulkos (Koiwai et al., 2005). Šveicē 33 % fermās neosporoze tiek minēta kā abortu cēlonis (Gottstein, 2005). Dānijā, ganāmpulkos ar neosporozes izraisītiem abortiem, izmeklējot govju asins seruma paraugus, seroloģiski pozitīvi dzīvnieki vidēji bija 22 % gadījumos (Jensen et al., 1999). Kostarikā no izmeklētajām 2743 govīm 1185 (43,3 %) bija seroloģiski pozitīvas (Romero et al., 2005). Savukārt Itālijā seroloģiski pozitīvas govīs bija 11 % gadījumos (Otranto et al., 2003). Invāzijas izplatība Itālijas dienvidos bija mazāka (8,7 %) nekā Itālijas ziemeļdaļā (16%).

SECINĀJUMI

Neospora caninum invāzija ir plaši izplatīta Latvijā. To antivielu optiskais blīvums virs 20, ko uzskata par pozitīvu rādītāju koppiena paraugos, atrasts 10 Latvijas govju ganāmpulkos no 136 izmeklētajiem – invāzijas ekstensitāte 7,4 %. Neosporoze konstatēta 8 rajonos no 26 (31%), galvenokārt mazajos ar govju skaitu līdz 20, ganāmpulkos.

LITERATŪRA

1. Björkman C.(2003) *Neospora caninum* infection in cattle. Farm animal reproduction: reducing infectious diseases. Proceedings of a symposium. Jelgava, pp. 8 -13.
2. Chanlun A., Näslund K., Aiumlamai S., Björkman C. (2002) Use of bulk milk for detection of *Neospora caninum* infection in dairy herds in Thailand. *Veterinary Parasitology*, 110. – 35 - 44.
3. Dubey J.P. (2003) Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *The Korean Journal of Parasitology*, 41-1, pp.1-16.
4. Eihvalde E., Keidāns P., Antāne V. (2004) Neosporozes diagnostika govju ganāmpulkos ar reprodukcijas problēmām Latvijā. Starptautiskās zinātniskās konferences raksti, Jelgava, 60 -65.
5. Frössling J. (2004) Epidemiology of *Neospora caninum* infection in cattle. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala. – 9-41.

6. Gottstein B. (2005) Neospora and neosporosis: An update on epidemiology and diagnosis. Proceedings of the 1st. Symposium of the Scandinavian- Baltic society for Parasitology, Vilnius, Lithuania, 26-29 May, Vol.14, pp.10-15.
 7. Jensen A. M., Björkman C., Kjeldsen A. M., Wedderkopp A., Willadsen C., Uggla A. and Lind P.(1999) Associations of *Neospora caninum* seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 40. 3-4, pp. 151-163.
 8. Koiwai M., Hamaoka T., Haritani M., Shimizu S., Tsutsui T., Eto M., and Yamane I.(2005) Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle with reproductive disorders in Japan. *Veterinary Parasitology*, 130. 1-2, pp. 15-18.
 8. Otranto D., Llazari A.i, Testini G., Traversa D., Frangipane di Regalbono A., Badan M. and Capelli G.(2003) Seroprevalence and associated risk factors of neosporosis in beef and dairy cattle in Italy. *Veterinary Parasitology*, 118. 1-2, pp. 7-18.
 9. Romero J.J., Van Breda S., Vargas B., Dolz G. and. Frankena K. (2005) Effect of neosporosis on productive and reproductive performance of dairy cattle in Costa Rica. *Theriogenology*, 64-9, pp. 1928-1939.
 10. 11.Stenlund S. *Neospora caninum* in cattle in Sweden. 2000. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala. –9-39.
 11. „Lauksaimniecības datu centrs” (2004) Pārraudzības gada rezultāti 2004. www ldc.gov.lv/?u=lv/ciltsdarbs/parraudziba/piena/iepriekšējie_gadi/2004.
-